

Diplomarbeit

Neue Ansätze in der Schilddrüsendiagnostik

**Referenzwerte für Serumcalcitonin und Evaluierung neuer
Schilddrüsenautoantikörper für die Endokrinologie-
Laborplattform am Universitätsklinikum Graz**

eingereicht von

Isabel Hodl

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr.ⁱⁿ med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie,
Universitätsklinik für Innere Medizin**

unter der Anleitung von

Univ.-Prof.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Barbara Obermayer-Pietsch

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 15.06.2018

Isabel Hodl eh

Danksagungen

Einen ganz herzlichen Dank möchte ich an Frau Professorin Obermayer-Pietsch aussprechen, die mir über die letzten drei Jahre jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand und mich nicht nur immer wieder fachlich und mit ihrer Leistungsstärke beeindruckt, sondern auch menschlich ein großes Vorbild für mich ist.

Auch danke ich ihrem Team der Endokrinologie für seine Laborarbeit und die Datensammlung.

Ein großer Dank gilt ebenso Frau Mag.^a Dr.ⁱⁿ Andrea Groselj-Strele, die mir geduldig bei jeglichen statistischen Fragen eine Hilfe war.

Schließlich danke ich meinen Eltern und Großeltern für die Ermöglichung des Studiums in Deutschland und Österreich. Ganz besonders dankbar bin ich dabei meiner Mutter, Frau Dr. Harriet Hodl, für ihren bedingungslosen Beistand in jeder Lebenslage, beruflich wie privat. Ohne Dich wäre ich nicht zu dem Menschen geworden, der ich heute bin!

Zusammenfassung

Hintergrund:

Die Messung von Laborparametern ist für die Endokrinologie ein fundamentaler Bestandteil in Diagnostik und Verlaufskontrolle von Schilddrüsenerkrankungen. Dabei ist es nach wie vor eine Herausforderung, optimale Analysemethoden zu etablieren und deren Ergebnisse korrekt zu interpretieren, um diagnostisch verlässliche Marker für den klinischen Alltag zu erhalten.

Calcitonin hat sich als Tumormarker für das medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC) bewährt. Allerdings treten relativ oft moderate Erhöhungen der Calcitonin-Konzentration auf, was zu mehrfachen, teils überflüssigen Nachkontrollen führt. Deswegen war es Ziel dieser Arbeit, die bestehenden Grenzwerte zu evaluieren und für Männer und Frauen separat zu definieren.

Das Thyreoidea-stimulierende Immunglobulin (TSI) ist in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Forschung gerückt, da es als Teilmenge der TSH-Rezeptor-Antikörper (TRAK) verspricht, spezifischer als TRAK in der Diagnostik der Immunhyperthyreose und endokrinen Orbitopathie zu sein. 2015 kam der erste automatisierte TSI-Immunoassay auf den Markt, dessen Wertigkeit wir hinsichtlich des bestehenden TRAK-Assays testeten.

Material und Methoden:

Für die Calcitonin-Evaluierung wurden in einer retrospektiven Studie mit 2143 Patient/innen – bei einem derzeitigen Grenzwert von 12 pg/ml – jene 87 Patient/innen eingeschlossen, die Calcitonin-Konzentrationen von ≥ 10 pg/ml aufwiesen. Die Berechnung der neuen Cut-off-Werte erfolgte anhand der Klassifizierung in MTC- und Nicht-MTC-Patient/innen.

Im zweiten Teil wurden mit dem Immulite[®] 2000 TSI-Assay bei 115 Patient/innen mit Verdacht auf oder bestätigter Hyperthyreose TSI- und gleichzeitig TRAK-Werte (IASONTRAb[®]e.-Immunoassay) gemessen. Bezüglich Immunhyperthyreose wurden für TSI und TRAK Grenzwerte berechnet sowie die Ergebnisqualität der Assays verglichen.

Ergebnisse:

Die durch ROC-Analyse (Receiver Operating Characteristic) erhaltenen Calcitonin-Grenzwerte betragen für das Gesamtkollektiv 24,5 pg/ml (Sensitivität 92,9 %, Spezifität

77,5 %, $p < 0,0001$), für Männer 23,5 pg/ml (Sensitivität 90,9 %, Spezifität 82,4 %, $p < 0,0001$) und für Frauen 73,0 pg/ml (Sensitivität 100 %, Spezifität 80,0 %, $p = 0,028$). Der Zusammenhang zwischen MTC-Diagnose und erhöhten geschlechtsspezifischen Calcitonin-Werten lag bei $\Phi = 0,600$ ($p < 0,0001$).

Die ROC-Analyse des TSI-Kollektivs erbrachte zwei mögliche TSI-Grenzwerte mit 0,593 IU/l und 1,77 IU/l, mit Sensitivitäten und Spezifitäten von 90,9 % und 55,1 % bzw. 83,3 % und 71,4 %. Im Vergleich mit der TRAK-Analyse konnte keine diagnostische Überlegenheit von TSI bestätigt werden ($X^2 = 3,34$, $p = 0,0676$).

Conclusio:

Calcitonin stellt einen verlässlichen Tumormarker in der Diagnostik des MTC dar, solange die gemessenen Werte im Kontext von Anamnese und Klinik gesehen und verifiziert werden. Eine Änderung des allgemeinen Cut-off-Werts von Calcitonin für das Universitätsklinikum Graz von 12 auf 24,5 pg/ml wäre gut möglich.

TRAK bzw. TSI sind sensitive Laborwerte in der Diagnostik der Immunhyperthyreose. Aktuell kann anhand der Ergebnisse in Graz keine Umstellung auf den TSI-Immunoassay empfohlen werden, allerdings gibt es neuere, vielversprechende Publikationen zu unterschiedlichen TSI-Assays, sodass mit einer größeren, prospektiven Studie dieser Einsatz reevaluiert werden könnte.

Schlagworte:

Calcitonin, medulläres Schilddrüsenkarzinom, Immunoassay, Thyreoidea-stimulierendes Immunglobulin, Morbus Basedow

Abstract – New aspects in thyroid biomarkers

Background:

In endocrinology, the measurement of laboratory values represents a fundamental part in diagnostics and follow-up of thyroid diseases. It is still a challenge to establish optimal analytic methods and to interpret their results correctly in order to gain reliable diagnostic markers for clinical practice.

Calcitonin has proven itself as a tumor marker for medullary thyroid cancer (MTC). However, moderate elevations of calcitonin levels occur quite often and lead to multiple, sometimes unnecessary follow-up measurements. Therefore, the aim of this work was to evaluate the current local cut-offs and to separately define them in men and women.

Thyroid-stimulating immunoglobulin (TSI), as a subset of TSH receptor autoantibodies (TRAb), has drawn increasing attention in the past few years, because it promises to be more specific in the diagnosis of Graves' disease and Graves' orbitopathy than TRAb. In 2015, the first automated TSI immunoassay entered the market and in this study, we tested its value in comparison to the prevailing TRAb assays.

Material and methods:

For the evaluation of calcitonin and its current cut-off 12 pg/ml in a retrospective study, we included 87 out of 2143 patients who showed calcitonin concentrations of ≥ 10 pg/ml. The calculation of the new cut-offs was carried out by a classification in MTC and non-MTC patients.

In the second part of the study, TSI and TRAb were measured in 115 patients with suspected or confirmed hyperthyroidism using the Immulite[®] 2000 TSI assay and IASONTRAb[®]e. immunoassay, respectively. Depending on the diagnosis of Graves' disease, cut-offs were calculated for TSI and TRAb and the assays were compared.

Results:

The calcitonin cut-offs gained by ROC analysis (receiver operating characteristic) were 24.5 pg/ml in the entire population (sensitivity 92.9 %, specificity 77.5 %, $p < 0.0001$), 23.5 pg/ml in men (sensitivity 90.9 %, specificity 82.4 %, $p < 0.0001$) and 73.0 pg/ml in women (sensitivity 100 %, specificity 80.0 %, $p = 0.028$). The correlation of diagnosis (MTC) and elevated gender-specific calcitonin values was $\phi = 0.600$ ($p < 0.0001$).

The ROC analysis of the TSI population led to two possible TSI cut-offs: 0.593 IU/l

and 1.77 IU/l with a sensitivity/specificity of 90.9%/55.1% and 83.3%/71.4%, respectively. Comparing the results with the TRAb analysis, an advantage of TSI could not be proven ($X^2 = 3.34$, $p = 0.0676$).

Conclusions:

Calcitonin is a reliable tumor marker in the diagnosis of MTCs, as long as the measured values are interpreted in context of medical history and clinical presentation. An alteration of the general calcitonin cut-off from 12 to 24.5 pg/ml for the University Hospital Graz would be suitable.

TRAb and TSI are sensitive laboratory markers in the diagnostic process of Graves' disease. Based on results in Graz, a switch to the TSI immunoassay cannot be recommended at the moment. Nevertheless, there are some new and promising publications about different TSI assays so that their use could be reevaluated by a larger prospective study.

Keywords:

Calcitonin, medullary carcinoma, immunoassay, thyroid-stimulating immunoglobulins, Graves' disease

INHALTSVERZEICHNIS

Danksagungen	III
Zusammenfassung	IV
Abstract.....	VI
INHALTSVERZEICHNIS	VIII
Abkürzungsverzeichnis	X
Abbildungsverzeichnis	XII
Tabellenverzeichnis	XIII
1. EINLEITUNG	1
1.1. Calcitonin.....	1
1.1.1. Fallbeschreibung Schilddrüsenknoten in Abklärung.....	1
1.1.2. Das Hormon Calcitonin	3
1.1.3. Labormessung und potentielle Grenzen	4
1.1.4. Anwendungen der Calcitonin-Messung	8
1.2. TSI.....	13
1.2.1. Fallbeschreibung Morbus Basedow.....	13
1.2.2. Was ist TSI?.....	16
1.2.3. Labormessung und potentielle Grenzen	18
1.2.4. Anwendung der TSI-Messung.....	21
1.3. Fragestellungen und Zielsetzung dieser Arbeit.....	26
2. MATERIAL UND METHODEN	27
2.1. Calcitonin.....	27
2.1.1. Studienprotokoll und Patient/innenkollektiv	27
2.1.2. Analyseverfahren im Labor	28
2.1.3. Statistische Auswertung der Daten.....	29
2.1.4. Literaturrecherche.....	31
2.2. TSI.....	32
2.2.1. Studienprotokoll und Patient/innenkollektiv	32
2.2.2. Analyseverfahren im Labor	32
2.2.3. Statistische Auswertung der Daten.....	34
2.2.4. Literaturrecherche.....	37
3. ERGEBNISSE	38
3.1. Calcitonin.....	38
3.1.1. Deskriptive Statistik / allgemeine Patient/innen-Charakteristika	38

3.1.2.	Cut-off-Analysen und Sensitivität/Spezifität.....	40
3.1.2.1.	Analyse des Gesamtkollektivs	40
3.1.2.2.	Geschlechtergetrennte Analyse	42
3.1.2.3.	Analyse nach Altersgruppen	45
3.1.2.4.	Zusammenfassung der ermittelten Calcitonin-Cut-offs	49
3.1.3.	Korrelation von Diagnose und Calcitonin-Werten.....	49
3.2.	TSI.....	50
3.2.1.	Deskriptive Statistik / allgemeine Patient/innen-Charakteristika	50
3.2.2.	Cut-off-Analysen und Sensitivität/Spezifität.....	51
3.2.2.1.	TRAK-Analysen.....	51
3.2.2.2.	TSI-Analysen	54
3.2.2.3.	Zusammenfassung der ermittelten TRAK- und TSI-Cut-offs.....	59
3.2.3.	Korrelation von Diagnose und TRAK- bzw. TSI-Werten sowie Vergleich..	60
4.	DISKUSSION	63
4.1.	Calcitonin.....	63
4.1.1.	Einordnung der ermittelten Parameter des Patient/innen-Kollektivs	63
4.1.2.	Einordnung der neu bestimmten Grenzwerte	64
4.1.3.	Herausforderungen eines Laborwerts	67
4.1.4.	Stärken und Limitationen der Studie	70
4.2.	TSI.....	71
4.2.1.	Einordnung der ermittelten Parameter des Patient/innen-Kollektivs	71
4.2.2.	Vergleich der diagnostischen Wertigkeit von TRAK und TSI.....	72
4.2.2.1.	Betrachtung der TRAK-Ergebnisse	72
4.2.2.2.	Betrachtung der TSI-Ergebnisse	72
4.2.2.3.	Gegenüberstellung von TRAK und TSI.....	74
4.2.3.	Exkurs zum Fallbericht.....	76
4.2.4.	Stärken und Limitationen der Studie	77
4.3.	Conclusio	79
5.	LITERATURVERZEICHNIS	81
	Anhang.....	85

Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
ATA	American Thyroid Association
AUC	Fläche unter der Kurve („area under the curve“)
bez.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CA-125	Cancer-Antigen 125
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CD40	„Cluster of differentiation 40“
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CGRP	Calcitonin-Gen-Related-Peptide
CHO	chinesische Hamster-Ovar-Zellen
CT	Computertomographie
CTLA-4	„cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4“
d. h.	das heißt
DMSA	Dimercaptobernsteinsäure
ELISA	„Enzyme-linked Immunosorbent Assay“
EO	Endokrine Orbitopathie
ESE	European Society of Endocrinology
etc.	et cetera
EUGOGO	„European Group on Graves‘ Orbitopathy“
evtl.	eventuell
FDG	Fluordesoxyglucose
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
fT ₃	freies Trijodthyronin
fT ₄	freies Thyroxin
ggf.	gegebenenfalls
HBT	„heterophilic blocking tube“
hCG	humanes Choriongonadotropin
HLA	humanes Leukozyten-Antigen
i.v.	intravenös

LH	Luteinisierendes Hormon
LH/CHR	Luteinisierendes-Hormon-/Choriogonadotropin-Rezeptor
LIA	Lumineszenzimmunoassay
Mb.	Morbus
MEN	Multiple endokrine Neoplasie
MHC	„Major Histocompatibility Complex“
MIBG	Metaiodobenzylguanidin
MRA	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MTC	Medulläres Schilddrüsenkarzinom
NPV	negativer Vorhersagewert („negative predictive value“)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PPV	positiver Vorhersagewert („positive predictive value“)
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PTH	Parathormon
PTPN22	„Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22“
RET	Rezeptor-Tyrosinkinase Ret („rearranged during transfection“)
RIA	Radioimmunoassay
ROC	„Receiver Operating Characteristic“
RRA	Radioligandenrezeptorassay
SD	Schilddrüse
SLE	systemischer Lupus erythematoses
SPECT	Single-Photon-Emissions-Computertomographie
SSW	Schwangerschaftswoche
TBI	Thyreoida-blockierendes Immunglobulin
Tg-AK	Thyreoglobulin-Antikörper
TPO-AK	Thyreoperoxidase-Antikörper
TRAb	„TSH receptor autoantibodies“
TRAK	TSH-Rezeptor-Antikörper
TSH	Thyreoida-stimulierendes Hormon
TSI	Thyreoida-stimulierendes Immunglobulin
V. a.	Verdacht auf
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – aus „LaborMedizin“ von Bruhn et al. (8), Darstellung eines kompetitiven Radioimmunoassays	5
Abbildung 2 – Darstellung von d’Herbomez et al. (15).....	7
Abbildung 3 – Entwicklung der TRAK-Werte von Patientin A. F. zwischen Oktober 2017 und April 2018.....	15
Abbildung 4 – Darstellung zur Schilddrüsenhormonsynthese aus „Biochemie und Pathobiochemie“ von Löffler et al. (3).....	16
Abbildung 5 – Histogramm zur Darstellung der Altersverteilung des Calcitonin-Patient/innen-Kollektivs	40
Abbildung 6 – ROC-Kurve des gesamten Calcitonin-Patient/innen-Kollektivs.....	41
Abbildung 7 – ROC-Kurve der untersuchten Frauen.....	42
Abbildung 8 – ROC-Kurve der untersuchten Männer.....	43
Abbildung 9 – ROC-Kurve der Altersgruppe bis 40 Jahre	45
Abbildung 10 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 41 bis 56 Jahren	46
Abbildung 11 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 57 bis 73 Jahren	47
Abbildung 12 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 74 bis 87 Jahren	48
Abbildung 13 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach Calcitonin-Konzentration ober- oder unterhalb des neuen Cut-off-Werts	49
Abbildung 14 – ROC-Kurve zur Bestimmung des TRAK-Cut-offs	51
Abbildung 15 – ROC-Kurve zur Bestimmung des TSI-Cut-offs	54
Abbildung 16 – Gegenüberstellung der ROC-Kurven von TRAK und TSI	59
Abbildung 17 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TRAK-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 15 IU/l	60
Abbildung 18 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TSI-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 0,593 IU/l	61
Abbildung 19 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TSI-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 1,77 IU/l	62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – Kollektiv der 87 Patient/innen mit Calcitonin-Werten ≥ 10 pg/ml	38
Tabelle 2 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve des Gesamtkollektivs	41
Tabelle 3 – Auswahl an Koordinaten der beiden geschlechtergetrennten ROC-Kurven	43
Tabelle 4 – Kreuztabelle aus MTC-Diagnose und Calcitonin-Konzentration bez. neuen geschlechtergetrennten Cut-offs	44
Tabelle 5 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 0- bis 40-Jährigen.....	45
Tabelle 6 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 41- bis 56-Jährigen.....	46
Tabelle 7 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 57- bis 73-Jährigen.....	47
Tabelle 8 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 74- bis 87-Jährigen.....	48
Tabelle 9 – Kollektiv der 115 TSI-Patient/innen.....	50
Tabelle 10 – Lagemaße des TSI-Patient/innen-Kollektivs.....	50
Tabelle 11 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve für TRAK	52
Tabelle 12 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Gesamtkollektiv)	52
Tabelle 13 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Frauen)	53
Tabelle 14 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Männer)	53
Tabelle 15 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve für TSI.....	55
Tabelle 16 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Gesamtkollektiv)	56
Tabelle 17 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Frauen)	56
Tabelle 18 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Männer)	57
Tabelle 19 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Gesamtkollektiv)	57
Tabelle 20 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Frauen)	58
Tabelle 21 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Männer)	58

1. EINLEITUNG

1.1. Calcitonin

1.1.1. Fallbeschreibung Schilddrüsenknoten in Abklärung

Im Juli 2015 stellte sich die damals 36-jährige Patientin M. P. mit dringendem Verdacht auf ein Schilddrüsenkarzinom in der Ambulanz der Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie an der Universitätsklinik für Innere Medizin des Universitätsklinikums Graz vor. Sie war zu diesem Zeitpunkt auch bereits an der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe in Graz wegen ihrer bestehenden dritten Schwangerschaft, damals 25. Schwangerschaftswoche, in Beobachtung gewesen, nachdem zufällig ein Schilddrüsenknoten und nachfolgend auswärts ein hoher Calcitonin-Wert aufgefallen waren.

Während dieser ersten Konsultation war sie beschwerdefrei. In der Familie seien keinerlei Tumorerkrankungen bekannt gewesen. Bezüglich der Schilddrüse habe sich die Großmutter einer Strumaresektion unterzogen und die Mutter habe eine Hypothyreose aufgewiesen. In der Schilddrüsenultraschalluntersuchung an diesem Tag zeigte sich ein orthotopes Organ mit den Dimensionen 1,6 cm x 2 cm x 5,5 cm rechts und 1,6 cm x 2,2 cm x 5,6 cm links. Auffällig war lediglich ein im linken Schilddrüsenlappen befindlicher, etwas echoärmerer, scharf begrenzter Knoten mit deutlicher Vaskularisation und den Maßen 1,1 cm x 0,7 cm x 0,5 cm. Es wurde ein umfangreiches endokrinologisches Labor abgenommen, wobei sich Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH), freies Thyroxin (fT₄), freies Trijodthyronin (fT₃), Thyreoperoxidase-Antikörper (TPO-AK), TSH-Rezeptor-AK (TRAK), Thyreoglobulin-AK (Tg-AK), Thyreoglobulin (Tg), Parathormon intakt (PTH), Vitamin D₃, 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃ und Gastrin im Normbereich befanden. Nur Calcitonin war mit 1398 pg/ml massiv erhöht (Referenzbereich 0-12 pg/ml). Dieses war bereits auswärts in den beiden Wochen zuvor zweimalig bestimmt worden und war dabei mit 1257 pg/ml bzw. 1207 pg/ml ähnlich hoch gewesen.

Die Kombination aus sonographischem Schilddrüsenknoten und erhöhtem Calcitonin im Blut ergab den dringenden Verdacht auf ein medulläres Schilddrüsenkarzinom. Nach interdisziplinären Gesprächen kam man zu dem Schluss, eine operative Therapie möglichst früh nach der (vorverlegten) Entbindung des Kindes anzustreben. Es sollte eine Strumaresektion mit Schnellschnitt und möglicher Neck Dissection am AKH in Wien durchgeführt werden. Eine vorherige Feinnadelpunktion war auf Wunsch der Patientin

während der bestehenden Schwangerschaft nicht vorgenommen worden, da die mehrfach erhöhten Calcitonin-Werte eindeutig erschienen.

Bei der endokrinologischen Kontrolle einen Monat später, während der 30. SSW, war der Knoten größenident und das Calcitonin lag mit 1199 pg/ml ähnlich hoch wie zuvor. Eine MEN-Genetik-Untersuchung wurde eingeleitet, die allerdings keinen Anhalt auf eine RET-assoziierte genetische Prädisposition erbrachte. Mit der Patientin wurde eine Entbindung per sectionem ab der 32. SSW besprochen.

Nach der Geburt der Tochter Ende Oktober 2015 (38. SSW) wurde fünf Wochen später die geplante Strumaresektion mittels Hemithyreoidektomie inklusive Lymphknoten-Probeexzisionen präalaryngeal und prätracheal durchgeführt. Die Histologie ergab eine Struma diffusa et nodosa mit einer chronisch lymphozytären Thyreoiditis, Entzündungsgrad 1 nach Williams und Doniach, jedoch entgegen dem Verdacht kein medulläres Karzinom und keine C-Zellhyperplasie.

Bei einer Kontrolle im Januar 2016 lag das Calcitonin nur noch bei 4 pg/ml. Unter Suppressionstherapie mit Euthyrox[®] 50 (Levothyroxin 50 µg) war Frau P. bei subjektivem Wohlbefinden und gut belastbar, sie klagte postoperativ nur über eine vorübergehende Einschränkung ihrer Singstimme.

Nun stellte sich aber die Frage, wie es hatte sein können, dass am Universitätsklinikum Graz permanent derart hohe Calcitonin-Werte offenbar ohne pathophysiologisches Korrelat hatten gemessen werden können. Die Labormessmethode mittels Immulite[®] 2000, einem immunometrischen Chemilumineszenz-Assay, wurde überarbeitet und bei der Patientin das Calcitonin stattdessen mittels Radioimmunoassay (RIA) bestimmt, woraufhin nun Normalwerte gemessen wurden.

Als Ursache für diese inakzeptable Abweichung im Sinne eines falsch-positiven Wertes wurden heterophile Antikörper im Serum der Patientin diskutiert, die möglicherweise durch die Schwangerschaft entstanden oder verändert worden waren und mit Immunglobulinen des Calcitonin-Assays interagiert haben könnten (1).

Aus diesem Anlass werden zum einen nunmehr alle erhöhten Calcitonin-Werte in der Endokrinologie-Laborplattform mittels RIA verifiziert und erst danach für die Zuweisenden freigegeben und zum anderen wurde die vorliegende Diplomarbeit begonnen, um eine retrospektive Übersicht über alle bisher verfügbaren Calcitonin-Werte und deren klinische Relevanz zu bekommen.

1.1.2. Das Hormon Calcitonin

Calcitonin ist ein Polypeptidhormon aus 32 Aminosäuren, das in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet wird. Diese werden auch parafollikuläre Zellen genannt (2). Sie liegen vereinzelt zwischen den Thyreozyten und sind im Gegensatz zu diesen neuroektodermalen Ursprungs (3). Gemeinsam mit dem verwandten Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) wird es durch ein Gen auf dem kurzen Arm von Chromosom 11 kodiert (2). Diese zwei verschiedenen Hormone entstehen dabei durch eine unterschiedliche posttranskriptionelle Weiterverarbeitung (4), nämlich alternatives Spleißen (3), wobei CGRP in den neuroendokrinen Zellen des ZNS gebildet wird und einen potenten Vasodilatator darstellt (4).

Physiologische Funktionen und Wirkmechanismus:

Hauptwirkung des Calcitonin ist die Senkung des Serum-Calciumspiegels, folglich wird die Sekretion durch eine kurzfristige Hypercalcämie ausgelöst, die den Calcium-Sensing-Rezeptor aktiviert (2). Bei persistierenden hohen Calciumwerten, beispielsweise bei einem primären Hyperparathyreoidismus, nimmt die Empfindlichkeit der Zielzellen jedoch ab und es wird weniger Calcitonin sezerniert (4). Auch nach Nahrungsaufnahme kommt es zur Calcitonin-Ausschüttung, ausgelöst durch Gastrin, Cholecystokinin und Glucagon, ferner auch durch Östrogene in der Schwangerschaft und bei der Laktation (4).

Calcitonin entfaltet anschließend seine Wirkung über Bindung an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die je nach Subtyp das Adenylatzyklasesystem oder die Phospholipase C β aktivieren, wodurch es zum intrazellulären Konzentrationsanstieg von cAMP und Calcium kommt (3).

Erstens bewirkt dieser Mechanismus in den Knochen eine Hemmung der Osteoklasten, wodurch weniger Calcium und Phosphat aus den Knochen freigesetzt wird. Dies ist besonders während Schwangerschaft und Stillzeit relevant, wenn der hohe Calciumbedarf des Kindes für dessen Skelettmineralisierung gedeckt werden muss, ohne die mütterlichen Knochen übermäßig zu entmineralisieren. Deswegen finden sich in dieser Zeit erhöhte Spiegel von Calcitonin und 1,25-(OH) $_2$ -Vitamin D bei der Mutter (4).

Zweitens bewirkt Calcitonin über eine Verminderung der tubulären Calciumrückresorption in der Niere eine vermehrte renale Calciumausscheidung. Gleichzeitig sorgt es hier für eine verstärkte 1,25-(OH) $_2$ -Vitamin-D-Produktion. Die Nieren sind zudem der Hauptort für Calcitonin-Metabolisierung und -Abbau (2).

Als Drittes ist zu erwähnen, dass Calcitonin auch die Magensaft- und Pankreassekretion

sowie die Darmmotilität hemmt, was über eine verlangsamte Verdauung zu einer langsameren Calciumresorption führt und damit einer temporären Hypercalcämie vorbeugt (3).

Die pathophysiologische Bedeutung?

Interessanterweise sind keine schwerwiegenden Folgen bei Fehlen oder Übermaß von Calcitonin bekannt; so ist weder bei einem Calcitonin-Mangel, z. B. nach Thyreoidektomie, noch bei einem -Exzess, meist durch ein medulläres Schilddrüsenkarzinom (MTC), mit auffälligen klinischen Erscheinungen zu rechnen. Das heißt, selbst bei letzterem kommt es weder zu Hypocalcämien noch zu einer Osteopetrose entsprechend einer vermehrten Knochenmineralisierung (4). Lediglich Diarrhoen wurden beim MTC mit sehr hohen Calcitonin-Spiegeln in einigen Fällen beschrieben (5). Deswegen wirft die (patho)physiologische Bedeutung des Calcitonin weiterhin Fragen auf, es darf aber wohl als einer der physiologischen Regulatoren im Calcium- und Knochenstoffwechsel betrachtet werden (2).

1.1.3. Labormessung und potentielle Grenzen

Messverfahren:

Calcitonin wird aus dem Serum mittels immunometrischer Methoden bestimmt. Wegen der sehr kurzen Halbwertszeit von circa 10 Minuten muss es für eine Lagerung sofort auf -20 °C eingefroren werden, bei einer Lagerung für mehr als zwei Wochen auf -70 °C (6).

Für die quantitative Messung kommen in der Regel entweder ein Lumineszenzimmunoassay (LIA) oder ein Radioimmunoassay (RIA) zum Einsatz (7). Abbildung 1 visualisiert die im Folgenden beschriebene Methodik anhand eines RIA.

Beiden Verfahren ist bei der kompetitiven (klassischen) Methode gemeinsam, dass das zu bestimmende Antigen (hier: Calcitonin) mit einer konstanten Menge eines markierten Antigens versetzt und mit spezifischen Antikörpern im Unterschuss zur Reaktion gebracht wird.

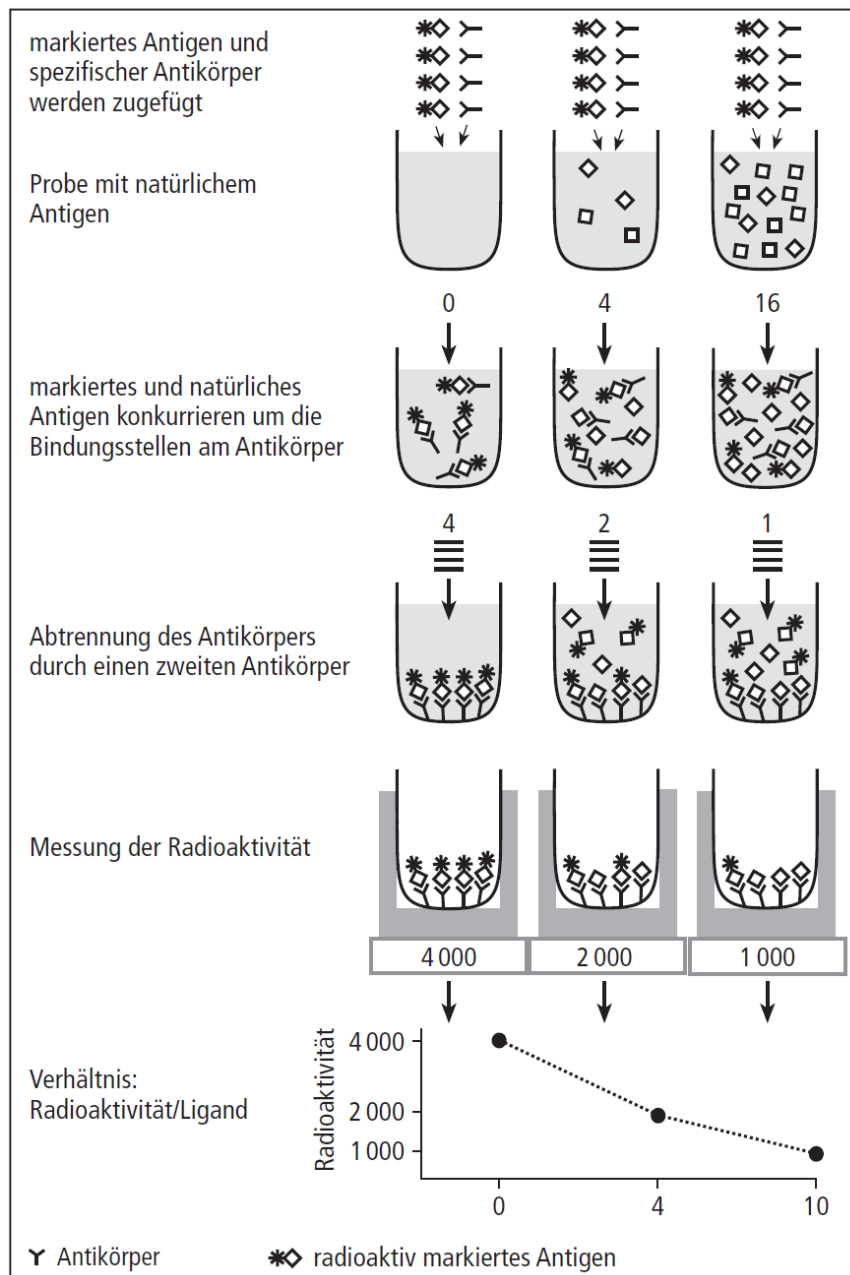


Abbildung 1 – aus „LaborMedizin“ von Bruhn et al. (8), Darstellung eines kompetitiven Radioimmunoassays; Calcitonin entspricht dem natürlichen Antigen und konkurriert mit dem markierten Antigen um die AK-Bindungsstellen.

Im Falle eines LIA wird mit einem Luminogen markiert, beim RIA mit einem radioaktiven Isotop (meist ^{125}Jod), auch Tracer genannt (8). Das in der Probe enthaltene Calcitonin konkurriert dann mit diesen markierten Antigenen um die Antikörperbindungsstellen. Bei einem hohen Calcitonin-Gehalt wird deshalb viel Calcitonin und nur wenig von den markierten Antigenen an die Antikörper gebunden, bei niedriger Calcitonin-Konzentration entsprechend umgekehrt. Der Messansatz wird anschließend gewaschen und von allen ungebundenen Antigenen befreit, sodass nur noch Antigen-Antikörper-Komplexe vorliegen.

Dabei entspricht gemäß dem Massenwirkungsgesetz das Verhältnis von Calcitonin zu den markierten Antigenen demjenigen von allen Antigen-Antikörper-Komplexen zu den markierten Komplexen (8). Die markierten im Komplex gebundenen Antigene senden im LIA angeregtes Licht und im RIA radioaktive Signale aus, die dann detektiert werden. Die Stärke dieses Signals ist folglich umgekehrt proportional zur Calcitonin-Konzentration in der Probe, das heißt, dass bei einem starken gemessenen Signal nur wenig und bei einem schwachen Signal dagegen viel Calcitonin in der Probe vorhanden ist. Das Ergebnis wird in einer Standardkurve aufgetragen und kann so ausgewertet werden (8).

Calcitonin-Referenzwerte:

Die für Calcitonin üblichen Referenzwerte unterscheiden sich je nach Studie, Klinik und Messmethode. Teils werden sie für Frauen und Männer getrennt angegeben, teils für beide Geschlechter einheitlich. Denn in einigen Studien wurde gezeigt, dass Frauen niedrigere Basalwerte haben als Männer; ferner auch, dass diese im Alter noch abnehmen (5).

In der deutschsprachigen Literatur für Labormedizin werden die Cut-off-Werte z. B. mit

- < 18,2 pg/ml (Männer) bzw. < 11,5 pg/ml (Frauen) (8)
- < 11,5 pg/ml (Männer) bzw. < 4,6 pg/ml (Frauen) (9)
- 0-10 pg/ml für beide Geschlechter angegeben (7).

Im Universitätsklinikum Graz lag der Normbereich nach der ursprünglichen Testeinführung und Evaluierung bis dato bei 0-12 pg/ml.

Beeinflussung des Messwerts:

Es gibt einige Faktoren, die den Messwert des Calcitonins beeinflussen können. Da Calcitonin vordergründig als Tumormarker in der MTC-Diagnostik dient, sollte diesen Faktoren Beachtung geschenkt werden, um nicht falsch positive oder falsch negative Analysen zu produzieren. So können – selbst über den Referenzbereich hinaus – erhöhte Werte auch benigne Ursachen haben, unter anderem (9,10):

- Niereninsuffizienz – wegen verringerter Calcitonin-Abbauleistung der Nieren
- Immunthyreopathie Hashimoto – Calcitonin-Erhöhung eventuell durch die Schilddrüse infiltrierende Entzündungsmediatoren und Zytokine (11)
- Hypergastrinämie – Gastrin als Trigger für die Calcitonin-Ausschüttung, bereits durch moderat erhöhte Gastrin-Spiegel bei Einnahme von Protonenpumpenhemmern, bei perniziöser Anämie und anderen Ursachen für eine Achlorhydrie (12)

- Schwangerschaft – physiologisch, spielt vermutlich eine wichtige Rolle bei der Implantation des Embryos, jedoch stellten Vannucchi et al. nur Calcitonin-Werte von im Mittel 2,1 pg/ml ohne Einzelwerte oberhalb des Referenzbereichs fest (13)
- männliches Geschlecht – denn laut einer Autopsiestudie von Guyétant et al. (14) haben Männer doppelt so viele C-Zellen wie Frauen und können folglich mehr Calcitonin produzieren, siehe auch Abbildung 2
- Rauchen – gilt vor allem für männliche (aktive) Raucher, wobei d’Herbomez et al. Werte von bis zu 21,4 pg/ml gemessen hatten; möglicherweise durch Proliferation Calcitonin-produzierender neuroendokriner Zellen in der Lunge (15), siehe auch Abbildung 2
- bestimmte Medikamente, z. B. Glucocorticoide, Protonenpumpenhemmer, Betablocker, Glucagon, humanes oder Lachscaltonin.

Dabei ist allerdings anzumerken, dass diese Faktoren nur in seltensten Fällen mehr als eine zweifache Erhöhung des Calcitonins im Stimulationstest bezogen auf die basale Konzentration bewirken (16) bzw. auch die basalen Werte kaum über 10-20 pg/ml hinausgehen.

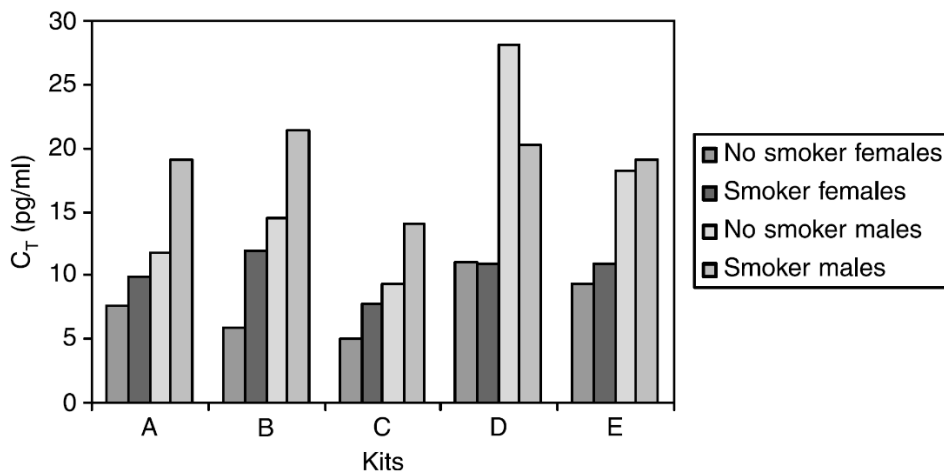


Abbildung 2 – Darstellung von d’Herbomez et al. (15). Calcitonin (C_T) wurde bei euthyreoten Personen mittels fünf verschiedener Assays (A-E) gemessen und, dargestellt von links nach rechts, für weibliche Nichtraucher, weibliche Raucher, männliche Nichtraucher und männliche Raucher getrennt aufgetragen. Die Konzentrationen waren erstens bei Männern stets höher als bei den Frauen der Vergleichsgruppe, zweitens lagen sie in vier der fünf Assays bei den Rauchern bzw. Raucherinnen höher als bei den nichtrauchenden Vergleichspersonen.

Erhöhte Calcitonin-Werte können allerdings auch durch andere Malignome als durch ein MTC bedingt sein, nämlich durch neuroendokrine Tumoren wie das Kleinzellige

Bronchialkarzinom, Phäochromozytom, Karzinoid oder Pankreaskarzinom, da bei diesen vermehrt Calcitonin-Vorstufen produziert werden, die teils zu Calcitonin weiterprozessiert werden (10).

Neben diesen physiologischen und pathologischen Ursachen, die im Patienten/in der Patientin begründet liegen, kann aber auch die Labormessung selbst zu falschen Werten führen. Diese können falsch niedrig sein, z. B. wenn die Probe vor der Messung zu lang ungekühlt gelagert wurde; sie können aber auch falsch hoch sein, was zum Teil auf komplexe Ursachen zurückzuführen ist, wie im vorliegenden Fallbericht (Punkt 1.1.1) bereits angedeutet wurde. Dieses Phänomen wurde unter anderem auch von Censi et al. in einem Fallbericht und Review 2016 (10) rezent beschrieben, bei denen heterophile Antikörper als Auslöser für die falschen Werte ausfindig gemacht wurden.

1.1.4. Anwendungen der Calcitonin-Messung

Das medulläre Schilddrüsenkarzinom:

Im klinischen Alltag dient die Calcitonin-Messung der Abklärung einer Struma nodosa in Abgrenzung zu den Differentialdiagnosen medulläres C-Zell-Karzinom (= medulläres Schilddrüsenkarzinom, MTC) und C-Zell-Hyperplasie (17). Außerdem wird es als Familienscreening bei Patient/innen mit MTC und/oder multipler endokriner Neoplasie 2 oder 3 (MEN 2/3) analysiert, ferner auch bei Patient/innen mit Phäochromozytom, das eventuell in Verbindung mit einer MEN 2 oder 3 steht (9).

Da das MTC von den Calcitonin-produzierenden C-Zellen ausgeht, stellt Calcitonin einen geeigneten Tumormarker sowohl für die Primärdiagnostik als auch für die Tumornachsorge, also Tumorrest-, Rezidivkontrolle und Metastasendetektion, dar. Wenn auch der Calcitonin-Cut-off zum Normbereich deutlich niedriger liegt, bestehen bei Stellung der Diagnose eines MTC meist Werte von über 200 pg/ml (9). Die C-Zell-Hyperplasie wird dabei als Karzinomvorstufe gesehen und ist in Thyreoidektomie-Präparaten mit MTC häufig gleichzeitig zu finden (18).

Bei Patient/innen mit Schilddrüsenknoten handelt es sich nur in 0,3 bis 1,4 % um ein MTC (18). Das Karzinom macht circa 5 % aller Schilddrüsenmalignome aus, demnach liegen bei malignomverdächtigen Knoten in Sono- oder Szintigraphie überwiegend papilläre (ca. 60 %) oder follikuläre Karzinome (ca. 30 %) vor. Zu 75 % tritt es sporadisch mit einem Altersgipfel vom 50. bis zum 60. Lebensjahr auf und zu 25 % handelt es sich um ein

familiäres MTC mit deutlich früheren Altersgipfeln (19).

Diagnostik des MTC:

Der diagnostische Pfad gestaltet sich ähnlich wie bei den anderen Schilddrüsenkarzinomen: Palpatorisch fallen oft erst Karzinome im fortgeschrittenen Stadium als derbe, schmerzlose Knoten auf (20), deswegen wird standardmäßig eine Sonographie bei z. B. vergrößerter Schilddrüse durchgeführt. Zu den Kriterien, die für ein MTC sprechen, zählen unter anderem Knoten mit Echoarmut, unscharfer Begrenzung, grobscholligen Verkalkungen, zentraler Hypervaskularisierung und fehlendem Halo-Zeichen (21). Da diese aber noch keine sichere Zuordnung der Dignität zulassen, wird in der Regel eine Schilddrüsenszintigraphie mit ^{99m}Tc Technetium oder ^{123}I od angeschlossen, bei der nicht-speichernde Areale, also „kalte Knoten“, für Malignität sprechen. Eine größere diagnostische Sicherheit gewährt jedoch erst eine ultraschallgezielte Feinnadelpunktion, bei der neben diversen zytomorphologischen Aspekten der Nachweis von Amyloideinlagerungen und die immunzytometrische Anfärbung gegen Calcitonin beweisend für ein MTC sind (21).

Für eine frühzeitige Diagnose des MTC spielt die Bestimmung von Tumormarkern eine herausragende Rolle – nicht nur von Calcitonin, sondern (ergänzend) auch vom carcinoembryonalen Antigen (CEA). In vielen Fällen korreliert die Höhe des präoperativ gemessenen Calcitonin mit der Größe des Primärtumors, dem Tumorstadium und der voraussichtlichen postoperativen Remission (21). Postoperativ lassen sich aus der Dynamik mehrerer konsekutiver Calcitonin-Messungen prognostische Abschätzungen ableiten. So scheint die Calcitonin-Verdopplungszeit ein essentieller und unabhängiger Prädiktor für die Überlebensrate zu sein, der sogar dem klinischen Staging überlegen ist (22). Barbet et al. (22) ermittelten für eine Verdopplungszeit von unter sechs Monaten eine 5-Jahres-Überlebensrate von 25 % und eine 10-Jahres-Überlebensrate von nur 8 %, bei einer Verdopplungszeit zwischen sechs Monaten und zwei Jahren stiegen die Überlebensraten auf 92 % bzw. 37 % und bei noch längeren Verdopplungszeiten überlebten alle Patient/innen während des Beobachtungszeitraums der Studie.

CEA ist zwar weniger spezifisch für die Detektion eines MTC, jedoch wird es in der Tumornachsorge wegen seiner Assoziation mit einer Tumorprogression routinemäßig gemessen (21). Außerdem spricht eine disproportional starke CEA-Erhöhung (in Relation zur Calcitonin-Konzentration) genauso wie niedrige Werte von sowohl CEA als auch Calcitonin für ein niedrig differenziertes MTC (18).

Neben diesen Tumormarkern sind nuklearmedizinische Verfahren im Primärstaging und in

der Rezidivdiagnostik in Verwendung, mit denen durch kombinierte SPECT-CT- oder PET-CT-Geräte bereits früh kleine Primärtumoren und Metastasen präzise dargestellt werden können (21). Zu nennen ist in diesem Zusammenhang vor allem die ^{18}F -FDG-PET, die umso sensitiver ist, je höher die Proliferationsrate und je biologisch aggressiver der Tumor ist. Ferner können auch die ^{18}F -DOPA-PET, PET und Szintigraphie mit Somatostatin-Rezeptoranaloga und Szintigraphie mit ^{123}I -MIBG oder $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA zum Einsatz kommen (21).

Merkmale der familiären MTCs:

Was die speziellen Fälle der familiären Formen des MTC angeht, können diese im Rahmen eines MEN-2- oder MEN-3-Syndroms oder singulär (= Non-MEN) auftreten (19). Allen drei familiären Formen sind die autosomal-dominante Vererbung sowie die Mutation von RET-Protoonkogenen auf Chromosom 10 gemeinsam. Deren Genprodukt, ein Tyrosinkinase-Rezeptor, wird in neuroendokrinen Zellen exprimiert und bewirkt bei solch einer Mutation ein permanentes Proliferationssignal (23). Daraus lassen sich die auftretenden Erkrankungen ableiten: Neben der Leitererkrankung MTC treten beim MEN 2 (Sipple-Syndrom, ehemals MEN 2a) häufig zusätzlich ein Phäochromozytom und teils ein primärer Hyperparathyreoidismus auf, beim MEN 3 (Gorlin-Syndrom, ehemals MEN 2b) neben dem MTC noch Phäochromozytome, zentrofazial betonte Schleimhautneurinome, eine intestinale Ganglioneuromatose und ein marfanoider Habitus (19,23).

Da die klinische Penetranz eines MTC bei nachgewiesenen Genmutationsträgern sehr hoch sein kann, sollten alle Patient/innen mit MTC molekulargenetisch untersucht werden, um bei einem positiven Ergebnis auch die Familienangehörigen nach entsprechender Aufklärung testen zu können. Fällt das bei den Familienmitgliedern durchgeführte genetische Screening positiv aus, sollte unter anderem eine frühzeitige prophylaktische Thyreoidektomie angestrebt werden, wobei das empfohlene Alter von der konkreten Mutation abhängt, häufig aber schon ein Termin kurz vor der Einschulung angepeilt wird (21).

Therapie und Prognose:

Charakteristisch für das MTC ist zudem, dass es nicht am Jodstoffwechsel der Schilddrüse teilnimmt. Deshalb ist hier im Gegensatz zu den differenzierten papillären und follikulären Karzinomen eine Radiojodtherapie nicht wirkungsvoll. Darüber hinaus ist es strahlenresistent, sodass auch eine externe Strahlentherapie nicht in Frage kommt (19). Aufgrund dieser mangelnden therapeutischen Alternativen hat die rechtzeitige radikale

Thyreoidektomie den höchsten Stellenwert in der Therapie, wobei die 10-Jahresüberlebensrate bei einem auf die Schilddrüse begrenzten Karzinom bei circa 95 % liegt. Metastasen verschlechtern die Prognose indes deutlich: lokoregionäre Lymphknotenmetastasen auf circa 75 %, Fernmetastasen gar auf 25-50 % (20).

Gegebenenfalls besteht bei inoperablen und metastasierten MTCs noch die Möglichkeit einer systemischen Radionuklidtherapie mittels an Betastrahler gekoppelter Somatostatin-Analoga. Dies ist jedoch nur bei einer entsprechend hohen Dichte von Somatostatin-Rezeptoren des Tumors eine Option (21). Andernfalls stehen hierbei die palliative Linderung von Symptomen durch den Hormonexzess oder die Metastasen selbst (Schmerzen, Frakturen, Bronchialobstruktion etc.) im Vordergrund (18).

Nachsorge und Stimulationstests:

Bei der Tumornachsorge sind regelmäßige Calcitonin-Kontrollen essentiell. Dabei muss für Rezidivfreiheit Calcitonin postoperativ im Referenzbereich liegen und darf auch nicht mehr per Test stimulierbar sein (19). Die American Thyroid Association (ATA) empfiehlt eine Kontrolle drei Monate postoperativ und im Falle von Normalwerten Kontrollen alle sechs Monate für ein Jahr und anschließend jährlich (18).

Was die Sekretionsstimulation angeht, gibt es zum Beispiel, je nach Verfügbarkeit, den Pentagastrin- und den Calciumstimulationstest. Diese werden nicht nur zur postoperativen Kontrolle, sondern auch bei entsprechendem Verdacht primärdiagnostisch, besonders für eine frühe Diagnose im Rahmen des Familienscreenings, eingesetzt, da auch bei normalen basalen Calcitonin-Werten ein MTC nicht sicher auszuschließen ist (9). Beim Pentagastrintest werden nach Messung der basalen Calcitonin-Konzentration $0,5 \mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht Pentagastrin i.v. injiziert. Dieses stimuliert die Calcitonin-Sekretion – bei Personen mit MTC oder C-Zell-Hyperplasie stärker als bei Gesunden. Daraufhin werden im Abstand weniger Minuten mehrmals Blutproben für Calcitonin abgenommen (7). Pathologisch ist ein überschießender Anstieg auf ein Mehrfaches des Basalwertes, wobei als sicher pathologisch in Hinblick auf ein MTC bei Männern ein Anstieg auf mehr als das Zehnfache und bei Frauen auf mehr als das Fünffache gilt, bezogen auf basale Konzentrationen innerhalb des Normbereichs (9). Differentialdiagnostisch ist bedeutsam, dass bei Calcitonin-produzierenden Malignomen außerhalb der Schilddrüse kein solch hoher Anstieg zu verzeichnen ist (18).

Calcitonin als Medikament:

Neben der Rolle als Tumormarker kann Calcitonin auch therapeutisch verwendet werden. Da Lachscalcatonin die höchste calciumsenkende Potenz besitzt, wurde es als Antiresorptivum nasal bei postmenopausaler Osteoporose eingesetzt (2). Jedoch wurde bei Langzeitanwendung ein erhöhtes Tumorrisiko festgestellt, während die Wirksamkeit nur limitiert gegeben war und zahlreiche vor allem gastrointestinale Nebenwirkungen auftraten, sodass die Europäische Arzneimittelagentur (EMA) 2012 (24) empfahl, Calcitonin bei dieser Indikation nicht mehr zu verabreichen. Es sollte somit nur noch parenteral zur Vorsorge akuten Knochenmasseverlusts bei Immobilisation, bei Morbus Paget als Second-Line-Therapie oder bei tumorbedingter Hypercalcämie zum Einsatz kommen, aber jeweils nur für möglichst kurze Zeit und mit der minimal nötigen Dosis (24).

1.2. TSI

1.2.1. Fallbeschreibung Morbus Basedow

Die junge Patientin A. F. wurde im Oktober 2017 an die Ambulanz der Universitätsklinik für Endokrinologie und Diabetologie überwiesen, nachdem sie tags zuvor notfallmäßig bereits am LKH Weststeiermark in Voitsberg und an der Notaufnahme der Universitätsklinik für Neurologie in Graz behandelt worden war.

Die damals 20-Jährige war von ihrem Hausarzt an die Notfallambulanz in Voitsberg geschickt worden, da sie seit wenigen Tagen über retroorbitale Schmerzen mit bifrontalen Kopfschmerzen geklagt hatte, die sich beim Blick nach oben verstärkten. Im linken Auge war zudem eine Einblutung sichtbar. Hinzu kamen Übelkeit und Erbrechen circa einmal pro Tag, meist nach dem Essen, mit Schmerzen im Epigastrium und subfebrilen Körpertemperaturen bis 38 °C. Klinisch fielen darüber hinaus ein Exophthalmus, der sich plötzlich innerhalb von Tagen entwickelt habe, und eine Tachykardie auf.

Nachdem die Patientin berichtete, 2012 wegen einer Hyperthyreose in Behandlung gewesen zu sein, wurde sie wegen der Augensymptomatik in Verbindung mit den Kopfschmerzen an das Universitätsklinikum Graz transferiert.

2012 hatte sie sich initial wegen eines Wachstumsschubs von 15 cm innerhalb eines Jahres, begleitet von immer wiederkehrendem Herzrasen und extremer Erschöpfung beim Sport, in ärztliche Behandlung begeben, wo die Hyperthyreose diagnostiziert und mit Thiamazol 20 mg (Thyreostatikum) und Propranolol 40 mg (Betablocker) in absteigender Dosis sowie unter Einhaltung körperlicher Schonung erfolgreich therapiert worden war. Daraufhin hatte die Medikation nach circa ein bis eineinhalb Jahren bei vorliegender Beschwerdefreiheit abgesetzt werden können.

An der neurologischen Notaufnahme und an der Augenklinik des Universitätsklinikums Graz wurden dann wegen der akuten neuen Krankheitsepisode ein ausführlicher neurologischer Status erhoben, der unauffällig war, und eine detaillierte ophthalmologische Untersuchung durchgeführt. Neben der vorbekannten beidseitigen Myopie mit Astigmatismus wurden eine Chemosis conjunctivae und ein leicht eingeschränktes Abduktionsvermögen beider Augen sowie ein Hyposphagma des linken Auges beschrieben. Ein MRT des Neurocraniums inklusive MRA-Venographie war unauffällig.

Nach einer Flüssigkeitstherapie per infusionem sowie einer Schmerztherapie mit Metamizol und Paracetamol wurde die Patientin für eine Nacht stationär an der Universitätsklinik für

Innere Medizin aufgenommen und erhielt dort wegen Verdachts auf eine Rezidivhyperthyreose bei Immunthyreopathie Typ Basedow zweimal 20 mg Thiamazol und dreimal 40 mg Propranolol täglich. Sonst gab sie bis auf eine Kontrazeptiva-Einnahme keinerlei Dauermedikation und auch keine Nebendiagnosen oder schweren Vorerkrankungen an. Die gastrointestinalen Beschwerden wurden am ehesten einer Gastroenteritis als Nebenbefund zugeordnet.

Die am Morgen durchgeführte Blutabnahme ergab ein TSH basal von 0,00 μ U/ml (Referenzbereich 0,10-4,00 μ U/ml), fT₄ von 60,1 pmol/l (Referenzbereich 9,5-24 pmol/l), fT₃ von 21,6 pmol/l (Referenzbereich 3,0-6,3 pmol/l), Tg-AK von 197 U/ml (Referenzbereich 0-60 U/ml) und TRAK von > 600 U/l (Referenzbereich 0,0-15,0 U/l) – also eine manifeste Hyperthyreose. In der Schilddrüsenultraschalluntersuchung an der klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie zeigte sich ein orthotopes, großes Organ mit den Dimensionen 2,0 cm x 1,8 cm x 5,8 cm rechts und 2,2 cm x 1,8 cm x 5,5 cm links. Das Parenchym war sehr echoinhomogen und gut durchblutet ohne Hinweise auf Knoten oder Zysten, jedoch mit zahlreichen Schilddrüsensepten im echoarmen Grundmuster.

Der Patientin wurden körperliche Schonung, eine Jodkarenz (bezüglich Nahrungs- und Kontrastmitteln), die Fortführung der obigen Therapie mit Thiamazol und Propranolol sowie zusätzlich zweimal täglich 200 mg Selen für einen Monat empfohlen.

Bei der geplanten Kontrolle zwei Wochen später fühlte sich Frau F. damit zwar subjektiv besser, fT₃ und fT₄ waren jedoch nur geringfügig niedriger als zuvor und TSH weiterhin bei 0,00 μ mol/ml.

In der Folgezeit nahm sie regelmäßige Kontrollen wahr, sodass bei rückläufigen Werten von fT₃ und fT₄ sowie subjektiv deutlich besserer Belastbarkeit Thiamazol im Dezember bereits auf ½ Tablette täglich reduziert und Propranolol ausschleichend abgesetzt werden konnte.

In dieser Zeit zwang sich Frau F. entsprechend der Anweisung zu viel Ruhe und Schlaf, verließ das Haus selten und machte keinen Sport, was sie zwar als unangenehm, aber trotzdem als psychisch tolerierbar empfand.

Dennoch fiel in den ophthalmologischen Kontrollen (inklusive Orbita-MRT) im Dezember 2017 und Januar 2018 auf, dass die endokrine Orbitopathie weiterhin aktiv und mäßig bis schwergradig stark ausgeprägt war, denn mehrere der Augenmuskeln waren beidseits verdickt und die Oberlider geschwollen und gerötet. Im MRT zeigten sich hingegen die Nervi optici normal kalibriert und damit nicht betroffen. Gemäß der Guidelines der European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) (25) sollte daraufhin eine intravenöse Glucocorticoidtherapie eingeleitet werden.

Bei weiterhin permanent bestehendem retrobulbären Druckgefühl sowie nahezu täglichen Kopfschmerzen willigte Frau F. ab Februar 2018 in diese Therapie ein, die einmal wöchentlich über einen Zeitraum von zehn Wochen eine intravenöse Infusion mit Methylprednisolon, anfangs jeweils 500 mg und im Verlauf dann 250 mg, beinhaltete. Parallel dazu konnte bei einer idealen Euthyreose unter der thyreostatischen Therapie Thiamazol sukzessive weiter reduziert werden, sodass die Dosis ab März 2018 nur noch dreimal wöchentlich ½ Tablette betrug.

Ab der dritten Infusion bemerkte die Patientin ein Nachlassen der Lidschwellungen und auch die nachfolgende ophthalmologische Kontrolle bestätigte einen Rückgang des Exophthalmus, was sich in den Folgewochen in dieser günstigen Weise fortsetzte. Außerdem gab sie ab diesem Zeitpunkt weniger Kopfschmerzen, Herzrasen und Erschöpfung und damit eine deutlich gebesserte Belastbarkeit an.

Interessant in Hinblick auf das Therapieansprechen war die Entwicklung der Antikörperkonzentrationen in den Labormessungen, siehe Abbildung 3. Betrug die Konzentration der TRAK im Oktober 2017 noch > 600 U/l und im Dezember 544,4 U/l, so lagen diese nach Cortison-Therapiebeginn nur noch bei 15,2 U/l Ende Februar 2018 und mit 10,5 und 7,2 U/l im März bereits unter dem Cut-off-Wert von 15,0 U/l.

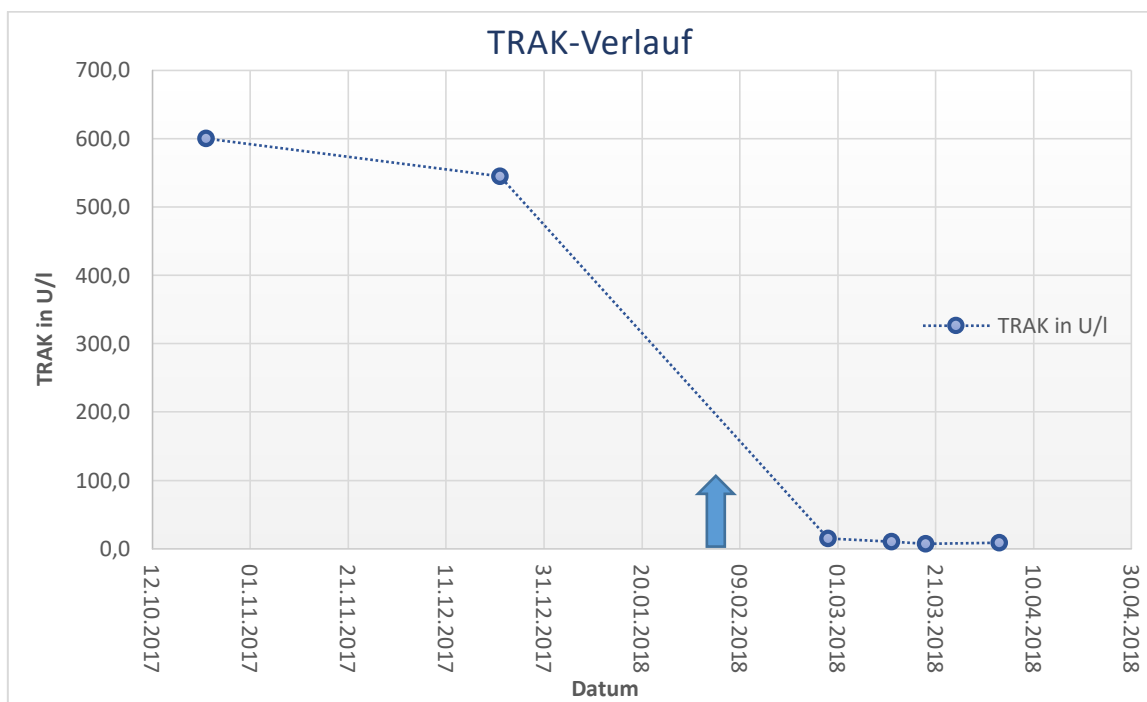


Abbildung 3 – Entwicklung der TRAK-Werte von Patientin A. F. zwischen Oktober 2017 und April 2018. Der blaue Pfeil markiert den Beginn der intravenösen Glucocorticoid-Therapie.

1.2.2. Was ist TSI?

Das Akronym TSI steht für „Thyreoida-stimulierendes Immunglobulin“ und beschreibt damit aktivierende Schilddrüsenantikörper, die an den TSH-Rezeptor auf Thyreozyten binden und so zu einer unkontrollierten Produktion von Schilddrüsenhormonen führen (26). Eine Illustration der Hormonproduktion bietet Abbildung 4.

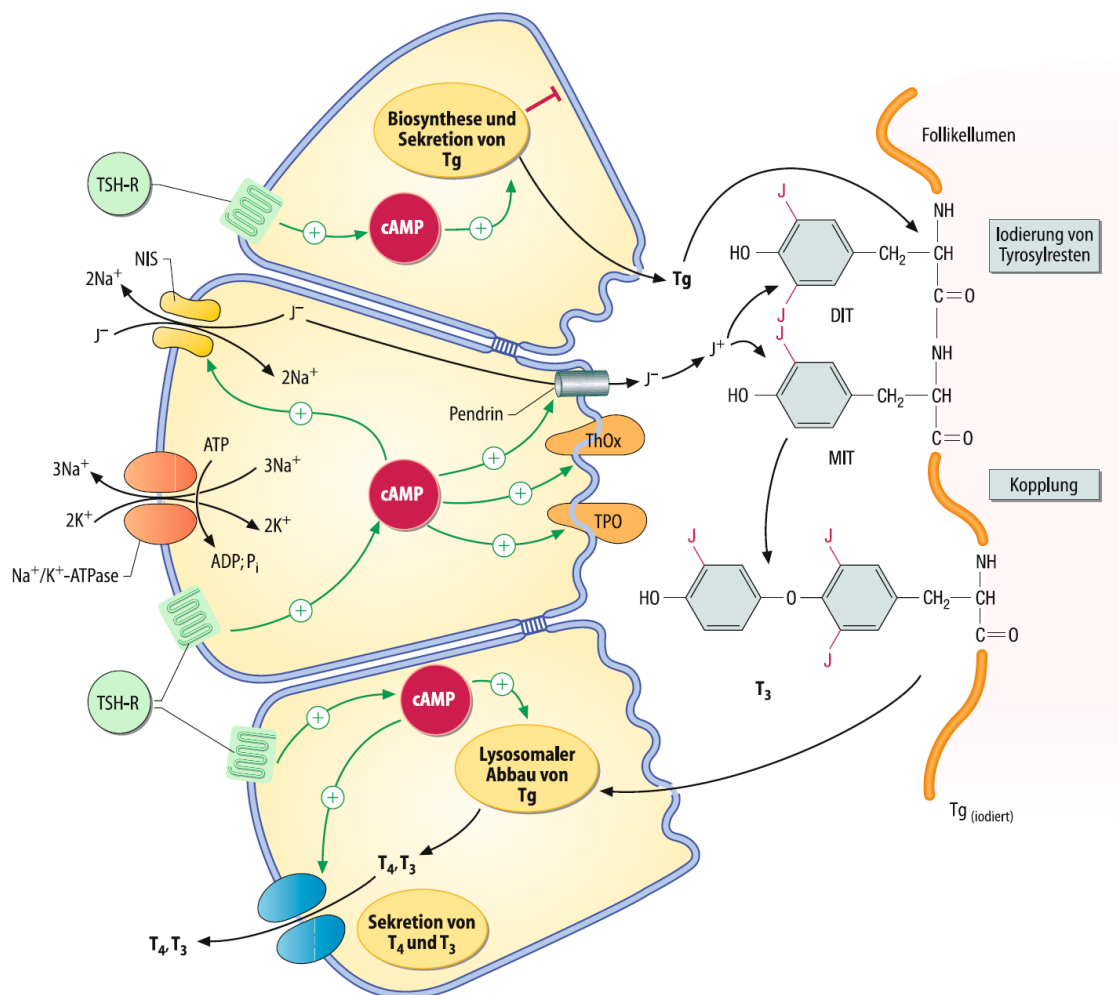


Abbildung 4 – Darstellung zur Schilddrüsenhormonsynthese aus „Biochemie und Pathobiochemie“ von Löffler et al. (3). TSH bindet an den TSH-Rezeptor (TSH-R, grün) und setzt über cAMP eine Signalkaskade in Gang. Dadurch wird unter anderem Thyroglobulin (Tg) in das Follikellumen freigesetzt, wo dessen Tyrosinreste durch die Thyreoperoxidase (TPO) jodiert und anschließend gekoppelt werden. Schließlich erfolgen die Aufnahme des modifizierten Tg in die Thyreozyten, der lysosomale Abbau zu Thyroxin (T₄) und Trijodthyronin (T₃) und ihre Sekretion ins Blut.

Die TSI imitieren dabei TSH, den natürlichen Liganden des G_{sα}-Protein-gekoppelten TSH-Rezeptors, wodurch intrazellulär die Adenylatzyklase aktiviert und dadurch der Second Messenger cAMP produziert wird. Letzterer fördert sowohl die Biosynthese und Sekretion

von Thyreoglobulin als auch dessen Jodierung und lysosomalen Abbau zu den Hormonen Tetrajodthyronin (T_4 , auch Thyroxin genannt) und Trijodthyronin (T_3) (3). Werden diese durch übermäßige Stimulation des Pfades vermehrt ins Blut ausgeschüttet, führt dies zur Hyperthyreose.

Der TSH-Rezeptor hat jedoch auch ohne Ligandenbindung eine geringe Grundaktivität, sodass eine gewisse Schilddrüsenhormonproduktion und -sekretion auch ohne Aktivierung durch TSH oder TSI stattfindet (3).

Autoantikörper gegen den TSH-Rezeptor werden allgemein als „TRAK“ bezeichnet und beinhalten nicht nur die stimulierende obige Form, TSI, sondern auch neutrale und inhibierende Autoantikörper (TBI) (27). Sie sind damit sowohl heterogen in ihrer Molekülstruktur als auch in ihrer biologischen Wirksamkeit, das heißt, sie können sich im Verlauf der Zeit verändern. Das klinische Erscheinungsbild resultiert dabei aus der Lage des Gleichgewichts dieser gegensätzlich wirkenden Antikörper (28).

Ätiologisch liegt, wie bei den meisten Autoimmungeschehen, eine Kombination aus genetischen und Umweltfaktoren zu Grunde, deren genaues Zusammenspiel erst noch erforscht werden muss. Es wird aber angenommen, dass die Ursachen zu circa 80 % den Genen und nur zu circa 20 % der Umwelt zuzuschreiben sind (29). Zu den begünstigenden Genen werden aktuell jene für den Major Histocompatibility Complex (MHC) – im Speziellen HLA-DR3 –, für PTPN22, CTLA-4, CD40, Thyreoglobulin und für den TSH-Rezeptor gezählt; als Triggerfaktoren aus der Umwelt gelten Rauchen, Medikamente, Jod und Ernährungsfaktoren, Stress und Infektionen. Bei letzteren wurden bisher besonders pathogenetische Assoziationen mit dem Hepatitis-C-Virus, aber auch mit *Yersinia enterocolica*, Coxsackie-B-Virus, Retroviren und *Helicobacter pylori* gefunden (29).

Der TSH-Rezeptor besteht zum einen aus einer transmembranen und zytosolischen β -Untereinheit und zum anderen aus einer extrazellulären α -Untereinheit, welche als primäres Autoantigen für die TRAK-Bildung angesehen wird. Einige dieser α -Untereinheiten werden von der Zelloberfläche abgestoßen und scheinen bei genetisch prädisponierten Personen so die Bildung der stimulierenden Antikörper in Gang setzen zu können (30).

1.2.3. Labormessung und potentielle Grenzen

Allgemeines zur TRAK-Messung:

Bei den in den letzten 50 Jahren zur Messung von TRAK verwendeten Verfahren unterscheidet man prinzipiell Bioassays, welche die funktionelle Aktivität der Antikörper bestimmen (also blockierende oder stimulierende TRAK), von Immunoassays, mit denen lediglich die Bindung der Antikörper an den Rezeptor, ohne funktionelle Unterscheidung, detektiert wird (31).

Heutzutage werden üblicherweise Radioligandenrezeptorassays (RRA) oder Enzymimmunoassays bzw. Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) genutzt, wobei als Proben Serum oder Plasma verwendet werden können (8,17).

Beim RRA werden der Patientenprobe gereinigter TSH-Rezeptor sowie radioaktiv markiertes TSH als Ligand zugesetzt. Je mehr TRAK in der Probe vorliegen, desto weniger radioaktiv markiertes TSH kann an den Rezeptor gebunden werden. Nach Entfernung des Überstands erlaubt die Messung der Radioaktivität den Rückschluss auf die TRAK-Konzentration (8).

Enzymimmunoassays gibt es in kompetitiver und nichtkompetitiver Form:

Das Prinzip hinter der kompetitiven Form entspricht dem des RIA, allerdings wird statt der radioaktiven Markierung eine Enzymmarkierung der Antigen-AK-Komplexe verwendet, was nach Zugabe eines spezifischen Substrats die Messung der Enzymaktivität erlaubt.

Die nichtkompetitive Form wird per Sandwichtechnik (die auch beim RIA genutzt werden kann) durchgeführt. Hierbei bindet das Antigen der Probe (TRAK) zuerst an im Überschuss vorhandene Antikörper (hier TSH-Rezeptoren). In einem zweiten Schritt binden mit einem Enzym markierte zweite Antikörper (hier ebenfalls TSH-Rezeptoren) an das komplexierte Antigen (TRAK). Das Messsignal ist dann die Enzymaktivität gegenüber einem zugesetzten Substrat und proportional der TRAK-Konzentration (8).

TSI-Messung per Bioassay:

Da sich die TSI in zahlreichen Studien als vielversprechende Prädiktoren der Krankheitsaktivität des Morbus Basedow (siehe Punkt 1.2.4) herausgestellt haben, wurde in den letzten Jahren an der Entwicklung neuer Assays gearbeitet, die gesondert TSI und nicht nur die Gesamtkonzentration von TRAK messen können (32). So wurden mehrere Bioassays im Rahmen von Studien erprobt, die aber erst noch weiter optimiert und standardisiert werden müssen, bevor sie in den klinischen Alltag Einzug halten können. Die größten Durchbrüche lassen sich wohl von den folgenden drei Ansätzen erwarten (31):

- Die gentechnologische Modifikation von chinesischen Hamster-Ovar-Zellen (CHO), die einen chimären TSH-Rezeptor sowie ein Luciferase-Reportergen exprimieren, welches unter Kontrolle eines cAMP-abhängigen Promoters steht. Steigt TSI-bedingt der cAMP-Spiegel, wird die Luciferase transkribiert und es kommt zur Biolumineszenz, die rückschließend die TSI-Quantifizierung erlaubt (33).
- Die Nutzung eines TSH-Rezeptor-Luteinisierendes-Hormon-/Choriogonadotropin-Rezeptor-Chimärs (TSHR-LH/CGR-Chimär), das das TSI-sensible Epitop der extrazellulären Domäne des humanen TSH-Rezeptors enthält, in dem jedoch das TBI-sensible Epitop durch eine LH/CGR-Rezeptorsequenz der Ratte ersetzt wurde, sodass am Rezeptor nur noch TSI binden können (34).
- Gentechnisch veränderte CHO-Zellen, die den TSH-Rezeptor, cAMP-gesteuerte Calciumkanäle und Aequorin (ein Photoprotein) exprimieren. Bei Bindung von TSI an den G-Protein-gekoppelten Rezeptor wird intrazelluläres cAMP freigesetzt, das den Calciumkanal öffnet, woraufhin Calcium einströmt. Dadurch emittiert das auf Calcium reagierende Aequorin blaues Licht, das per Photometer quantifiziert werden kann. Dieser Assay kommt zudem ohne sterilisierte Zellkultur-Bedingungen aus, was ihn für die klinische Verwendung tauglicher macht (35).

TSI-Messung per Immunoassay:

Um die selektive TSI-Messung auch der Routinediagnostik zugänglich zu machen, wurde im Jahr 2015 der erste Immunoassay, der spezifisch TSI messen kann und gleichzeitig automatisch funktioniert, auf den Markt gebracht: der Immulite® 2000 TSI Assay der Siemens Healthcare Diagnostics (31,36).

Es handelt sich um einen automatischen, Zwei-Schritt-Chemilumineszenz-Immunoassay, der ein Paar rekombinanter, humaner TSH-Rezeptoren enthält. Der Bindungsrezeptor ist auf einer festen Phase immobilisiert. An diesen bindet im ersten Schritt TSI während einer 30-minütigen Inkubationszeit. Nach Zentrifugalreinigung des Überstands werden im zweiten Schritt die Signalrezeptoren für 30 Minuten hinzugefügt, die an den zweiten Arm der komplexierten TSI binden. Diese Rezeptoren sind mit alkalischer Phosphatase markiert, wodurch im letzten Schritt ein zugesetztes Chemilumineszenz-Substrat umgesetzt wird. Das dabei erzeugte Lichtsignal wird detektiert und ist der TSI-Konzentration proportional (36).

Referenzwerte:

Gerade in Anbetracht der zahlreichen unterschiedlichen verwendeten Messverfahren ist zu betonen, dass jedes Labor bzw. jede Klinik eigene Grenzwerte, auch in Hinblick auf die lokale Bevölkerung, definieren sollte. Dies gilt einerseits für TRAK, aber andererseits natürlich ebenso für TSI, die noch so neu in der klinischen Anwendung sind, dass im Grunde noch keine allgemeingültigen Referenzwerte existieren.

Der Normbereich wird geschlechtsunabhängig angegeben und für TRAK häufig mit 0-15 U/l beziffert (7,37). Was TSI angeht, so hat Siemens auf Basis seiner eigenen Studie für den Immulite[®]-Assay einen Cut-off von 0,55 IU/l definiert, mit dem die Sensitivität und Spezifität bei 98,3 % bzw. 99,7 % lagen (36). Tozzoli et al. (31) ermittelten in ihrer Studie mit 0,54 IU/l einen ähnlichen TSI-Grenzwert unter Verwendung des Immulite[®].

Beeinflussung der TSI-Messung:

Verschiedene Faktoren können die Testergebnisse verfälschen. Zu diesen gehören (am Beispiel des Immulite[®]-Assays) (36):

- eine unsachgemäße Probenlagerung bei höheren Temperaturen als 2-8 °C. Dies gilt für bis zu sieben Tage, anschließend ist eine Lagerung bei -20 °C erforderlich.
- lipämische oder hämolysierte Proben
- Zentrifugation der Proben vor vollständigem Abschluss der Gerinnung
- heterophile Antikörper im Patientenserum – wobei das Risiko laut Herstellerangabe minimiert sei.

Prinzipiell kann es bei Assays dieser Art auch zur Kreuzreaktivität mit anderen Antikörpern oder Hormonen kommen. Diese wurde beim Immulite[®]-TSI-Assay aber für FSH, LH, TSH, hCG, Tg-AK und TPO-AK getestet und konnte von Herstellerseite nahezu ausgeschlossen werden (36).

Neben diesen durch das Messverfahren begründeten möglichen Abweichungen wurde interessanterweise aber auch bei einigen Patienten mit einer Hashimoto-Immuntthyreopathie eine leichte TSI-Erhöhung festgestellt (32,33). Anscheinend finden sich bei einer Minderheit der Patienten mit chronischer autoimmun-bedingter Thyreoiditis generell TRAK, die zwar überwiegend blockierend (und damit mit der assoziierten Hypothyreose vereinbar) sind, zum Teil aber auch TSI sein können (34).

1.2.4. Anwendung der TSI-Messung

TRAK und TSI als Diagnostikum:

Der Hintergrund der eifrigen Forschung zu neuen Methoden der TSI-Messung ist die Hypothese, mit ihnen TRAK in der Diagnose des Morbus Basedow (auch „Immunhyperthyreose“ oder „Graves‘ disease“) ablösen zu können.

Da TRAK (und im Speziellen TSI) kennzeichnend für den Morbus Basedow sind, weil sie bei 80-100 % der Patient/innen mit dieser Erkrankung vorliegen (17), wurden und werden die TRAK im klinischen Alltag genutzt, um erstens bei Vorliegen einer Hyperthyreose zwischen immunogenen (Morbus Basedow, Hashitoxikose) und nicht-immunogenen Ursachen (funktionelle Schilddrüsenautonomie, faktitiell durch SD-Hormonpräparat-Überdosierung, sehr seltene SD-Hormon-produzierende Tumoren) differenzieren zu können (7). Außerdem dienen sie dem Nachweis einer endokrinen Orbitopathie, wenn keine wegweisende Hyperthyreose vorliegt, und der Diagnose eines Myxödems durch blockierende Antikörper (17).

Der Nachteil an TRAK ist allerdings, dass ihre Höhe nicht exakt mit dem Grad der Überfunktion korreliert und somit nur eine eingeschränkte Beurteilung der Krankheitsaktivität des Morbus Basedow zulässt (17). Neben der (im Gegensatz zu TSI) mangelhaften Spezifität lässt sich dies unter anderem damit begründen, dass eine häufig koexistierende Thyreoiditis die Schilddrüsenfunktion ebenfalls beeinflusst (38).

Morbus Basedow – epidemiologischer Überblick:

Der Morbus Basedow ist in 60-80 % Ursache einer Hyperthyreose (38) und tritt mit einer Inzidenz von 40 pro 100000 Menschen pro Jahr auf (19). Er kommt bei bis zu 2 % der Frauen vor und ist bei diesen fünf- bis zehnmals so häufig wie bei Männern (19,38). Dabei ist die Prävalenz auch von dem Ausmaß der Jodaufnahme abhängig – in Ländern mit hoher Jodaufnahme kommt die Basedow-Krankheit daher häufiger vor, z. B. in den USA im Vergleich zu Deutschland. Ein Jodmangel ist dagegen assoziiert mit der Entwicklung einer nicht-immunogenen funktionellen Autonomie (38). In der Regel tritt die Erkrankung zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr auf (38) bzw. zwei Drittel der Fälle nach dem 35. Lebensjahr (19).

Morbus Basedow – Pathogenese:

Die Manifestation des Morbus Basedow wird durch eine Kombination aus genetischen und Umweltfaktoren begünstigt (siehe auch Punkt 1.2.2). Dabei ist ein plötzlicher Anstieg der

Jodaufnahme ein möglicher Auslöser. Die Konkordanz beträgt bei monozygoten Zwillingen 20-30 % im Vergleich zu < 5 % bei dizygoten Zwillingen (38).

Wie schon mehrfach erwähnt, wird die Erkrankung durch die Schilddrüse stimulierende Antikörper, TSI, verursacht. Zusätzlich kommen im Rahmen der Autoimmunreaktion neben TSI bzw. TRAK häufig noch andere Antikörper vor, vor allem die TPO-AK, die man sonst vornehmlich bei der Hashimoto-Immunitäthypothese findet (7).

Bei der Entstehung der assoziierten endokrinen Orbitopathie scheinen Zytokine eine wesentliche Rolle zu spielen (38): Der TSH-Rezeptor ist vermutlich ein gemeinsames Autoantigen von Schilddrüse und Orbita. Nach Infiltration der extraokulären Muskeln durch aktivierte T-Zellen schütten diese z. B. IFN- γ , TNF und IL-1 aus, was zu einer Fibroblastenaktivierung und vermehrter Synthese von Glykosaminoglykanen führt. Letztere binden Wasser und bedingen so die typische Muskelschwellung. Schließlich kann es sogar zur irreversiblen Fibrosierung kommen.

Morbus Basedow – Klinisches Bild:

Die Klinik setzt sich aus allgemeinen Symptomen der Hyperthyreose und spezifischen des Morbus Basedow zusammen.

Eine Hyperthyreose im Allgemeinen ist gekennzeichnet durch allerlei verschiedene Organsysteme betreffende Symptome. Dazu gehören (19,38,39):

- Schilddrüse: Struma bei 70-90 % der Patient/innen – Vergrößerung der Schilddrüse auf das Zwei- bis Dreifache ihres normalen Volumens bei fester, aber nicht knotiger Konsistenz
- neuropsychiatrisch: psychomotorische Unruhe, feinschlägiger Tremor der ausgestreckten Finger, Hyperreflexie, gesteigerte Nervosität und Reizbarkeit, Schlaflosigkeit
- vegetativ: Sinustachykardie, Palpitationen, evtl. Herzrhythmusstörungen, (systolische) Hypertonie, Wärmeintoleranz und vermehrtes Schwitzen
- gastrointestinal: gesteigerte Stuhlfrequenz, evtl. Diarrhoe, evtl. Fettleber
- metabolisch: Gewichtsabnahme trotz Heißhungers, pathologische Glucosetoleranz
- Haut und -Anhangsgebilde: warme, feuchte Haut, diffuser Haarausfall
- muskuloskeletal: Myopathie mit Adynamie (vorwiegend der Oberschenkel), evtl. Osteopenie
- Reproduktion: Oligo- oder Amenorrhoe, Libidoverlust (häufiger bei Hypothyreose).

Das Ausmaß der Symptomatik ist dabei abhängig vom Schweregrad der Hyperthyreose, der Erkrankungsdauer, der individuellen Empfindlichkeit gegenüber einem Schilddrüsenhormonexzess und dem Alter des/der Betroffenen. Denn gerade bei älteren Patient/innen können die Symptome milde ausfallen, viele zeigen in erster Linie Müdigkeit und Gewichtsverlust (38).

Zu den Basedow-spezifischen Symptomen zählen die oben erwähnte endokrine Orbitopathie (in circa 60 % der Fälle), die klassische *Merseburger Trias* (bei circa 50 % der Patient/innen) aus Struma, Exophthalmus und Tachykardie und das seltenere Myxödem, das sich hauptsächlich prätibial findet. Selten kann es auch zur sogenannten Akropachie kommen, einer Auftreibung der Finger- und Zehenendglieder (19).

Was die *endokrine Orbitopathie (EO)* angeht, so kommt diese auch ohne Hyperthyreose vor – unter anderem auch deshalb, weil die EO bereits Monate bis Jahre vor Ausbruch der Hyperthyreose auftreten kann. Schilddrüsenantikörper lassen sich aber in der Regel trotzdem nachweisen. Interessanterweise kann die damit verbundene Lidretraktion aber bei allen Formen der Hyperthyreose auftreten, da sie nur Resultat der übersteigerten sympathischen Aktivität ist (38).

Auch wenn viele der Basedow-Patient/innen nur eine geringe EO aufweisen, so lassen sich doch bei fast allen mit entsprechend sensitiven Ultraschall- oder CT-Untersuchungen die typischen Verdickungen der extraokulären Augenmuskulatur nachweisen (38).

Zu den Frühsymptomen gehören ein sandiges Fremdkörpergefühl, Augenschmerzen und ein gesteigerter Tränenfluss. Außerdem kommt es zum typischen Exophthalmus, der in schweren Fällen zu Hornhautschäden durch insuffizienten Lidschluss führen kann. Häufig sind auch periorbitale Ödeme, sklerale Injektionen und eine Chemosis. Bei besonders schweren Verläufen treten Doppelbilder oder eine Kompression des Nervus opticus auf, wobei letztere zu einem Visusverlust führen kann (38).

Morbus Basedow – Diagnostik:

An erster Stelle bei Verdacht auf einen Morbus Basedow steht die labordiagnostische Bestimmung von TSH, fT₃ und fT₄. Für eine manifeste Hyperthyreose müssen TSH supprimiert sowie fT₃ und/oder fT₄ erhöht sein. Ist nur TSH erniedrigt, während sich fT₃ und fT₄ noch im Normbereich befinden, handelt es sich um eine latente Hyperthyreose.

Zur weiteren Differentialdiagnostik dienen die Schilddrüsenantikörper: TRAK ist in nahezu

allen Basedow-Fällen erhöht und damit beweisend, in circa 70 % der Fälle sind ebenfalls die TPO-AK erhöht und gelegentlich die Tg-AK (19).

Ergänzend wird routinemäßig eine Schilddrüsenultraschalluntersuchung durchgeführt, die beim Morbus Basedow ein typisches Bild einer diffusen echoarmen Schilddrüse mit einer ausgeprägten Hypervaskularisierung zeigt (38).

Morbus Basedow – Therapie:

Alle Therapieansätze zielen auf die Reduktion der Schilddrüsenhormonsynthese ab.

Zuerst wird immer konservativ mittels Thyreostatika vorgegangen. Das heißt, für 12 bis 18 Monate erhält der/die Patient/in ein Thionamid (39), nämlich Thiamazol, dessen Prodrug Carbimazol oder eventuell Propylthiouracil, die die Funktion der Schilddrüsenperoxidase (TPO) bei der Hormonsynthese hemmen (38). Die Initialdosis richtet sich nach dem klinischen Bild und beträgt üblicherweise bei Thiamazol und Carbimazol zweimal täglich 10-20 mg (38). In der Regel tritt unter der Therapie eine Remission ein, sodass die Dosis sukzessive verringert werden kann, sobald ein euthyreoter Zustand erreicht ist – z. B. auf 5-10 mg Thiamazol pro Tag und dann weiter je nach individuellem Verlauf (38). Als Indikator dient in den ersten Wochen der fT_4 -Spiegel, da TSH oft noch für mehrere Monate supprimiert bleibt und erst nach Nachlassen ebendieser zur Überwachung des Behandlungserfolges herangezogen werden sollte (38).

Bei der Dosiseinstellung ist es gleichzeitig essentiell, eine *Hypothyreose* zu vermeiden, weil diese die eventuell vorhandene EO verschlechtert (39).

Anschließend kann ein Auslassversuch begonnen werden, wobei auf die mögliche Entwicklung einer erneuten Hyperthyreose in circa 50 % zu achten ist (19).

Sollte jedoch TRAK sechs Monate nach Therapiebeginn noch > 10 IU/l sein, ist eine Remission unwahrscheinlich und eine definitive Therapie anzustreben (19). Dafür kommen entweder eine Operation oder eine Radiojodtherapie in Frage. Als Operation wird häufig die totale Thyreoidektomie der subtotalen Operation vorgezogen, da sie durch die komplette Entfernung des Schilddrüsenorgans eine bessere Hyperthyreosekontrolle erlaubt. Bei der Radiojodtherapie wird einmalig radioaktives ^{131}I mit einer Dosis von 200-300 Gy peroral verabreicht, welches von der Schilddrüse aufgenommen wird und dort als β -Strahler im Verlauf mehrerer Wochen zu einer Zelledestruktion führt. Deswegen ist bei Vorliegen einer EO eher die Operation zu bevorzugen, um den immunologischen Stimulus durch Freisetzung von Antigenen geringer zu halten, bzw. die Radiojodtherapie unter Glucocorticoidschutz

durchzuführen (39).

Wichtig ist bei beiden definitiven Verfahren, dass vorab eine Euthyreose vorliegt, um eine nachfolgende thyreotoxische Krise durch Freisetzung von Schilddrüsenhormonen aus den zerstörten Zellen zu vermeiden. Zudem ist zu bedenken, dass anschließend in der Regel eine lebenslange Hormonsubstitution nötig ist (39).

Zusätzlich kommt häufig der Betablocker Propranolol zur Anwendung, da dieser die Konversion von fT_4 zum metabolisch aktiveren fT_3 hemmt und den adrenergen Symptomen wie der Tachykardie entgegenwirkt (19). Üblich sind anfangs 20-40 mg alle sechs Stunden (38).

Was die EO angeht, so profitiert diese von einer gut eingestellten Thyreostatikatherapie und der Einhaltung eines Rauchverbots. Supportiv wirkt auch eine Selengabe. Hinzu kommen lokale Maßnahmen, wie befeuchtende Augentropfen und -salben, Schlafen bei erhöhtem Oberkörper zur Reduktion von Lidödemem und ggf. Prismen-Brillengläser bei Doppelbildern. Schwerere Verläufe erfordern außerdem eine immunmodulierende Therapie mit Glucocorticoiden (40). Dafür kommt eine intravenöse Stoßtherapie mit Methylprednisolon in Frage, wobei z. B. sechs Wochen lang einmal 500 mg/Woche und dann weitere sechs Wochen jeweils 250 mg/Woche verabreicht werden (38). Sollte dies nicht anschlagen, so verbleiben noch Immunsuppressiva, eine Retrobulbärbestrahlung oder eine operative Dekompression als letzte und aggressivste Optionen (40).

Morbus Basedow – Klinischer Verlauf:

Im Allgemeinen verschlechtern sich die klinischen Symptome ohne bzw. bei unzureichender Behandlung. Einige Betroffene können allerdings auch spontan in Remission gehen. Bei circa 15 % der Patienten unter erfolgreicher Thyreostatika-Therapie kommt es mit einer Latenz von 10 bis 15 Jahren durch den destruktiven Autoimmunprozess zu einer Hypothyreose (38).

Unabhängig vom Verlauf der Schilddrüsenerkrankung entwickelt sich die EO, die sich normalerweise in den ersten drei bis sechs Monaten verschlechtert und nach einer Plateauphase von 12 bis 18 Monaten spontan bessert. Dennoch ist in der Akutphase eine Behandlung erforderlich (siehe oben), erst recht bei Kompression des Nervus opticus oder bei Hornhautschäden (38).

1.3. Fragestellungen und Zielsetzung dieser Arbeit

Bezüglich des ersten Themenkomplexes, Calcitonin, stellte sich auf Grundlage des präsentierten Fallberichts die Frage, welche Faktoren die Calcitonin-Messwerte bei MTC- und bei Nicht-MTC-Patient/innen beeinflussen können. Da es bis dato keine eigenen, für das Universitätsklinikum Graz spezifischen Calcitonin-Grenzwerte zur MTC-Diagnostik gibt, sollen diese hiermit für Männer und Frauen getrennt unter Nutzung der Grazer Daten der letzten Jahre retrospektiv ermittelt werden. Dabei sollen besonders die besprochenen Einflussfaktoren (siehe Punkt 1.1.3) Beachtung finden, sodass die Cut-offs entsprechend der klinischen Relevanz gesetzt werden, um verlässliche Werte für die präoperative Bewertung potentiell vorliegender MTCs zur Verfügung zu haben.

Parallel zum Bearbeitungsbeginn der Calcitonin-Daten kam der neue Immulite® 2000 TSI im Jahr 2015 auf den Markt und versprach, für die Morbus-Basedow-Diagnostik einen spezifischeren Laborwert als die bloße TRAK-Messung zu generieren, indem er nur die zur Hyperthyreose führenden aktivierenden Antikörper des TSH-Rezeptors, und nicht die blockierenden oder neutralen, messe. Damit sollte eine genauere Zuordnung von Antikörperwerten und Schwere der Symptomatik möglich sein und so eine effizientere Diagnostik und zielgerichtete Patient/innen-Betreuung erlauben. Deshalb werden in dieser Arbeit sowohl der tatsächliche Nutzen dieses Tests für die klinische Praxis als auch die vom Hersteller publizierte Sensitivitäten und Spezifitäten evaluiert. Zudem werden auch für TSI potentiell sinnvolle Cut-offs ermittelt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Calcitonin

2.1.1. Studienprotokoll und Patient/innenkollektiv

Diese Arbeit wurde im Rahmen der dafür eigens initiierten Studie „TSICAL“ (= TSI und Calcitonin) durchgeführt. Im Studienprotokoll wurde der Einschluss von 4000 bis 6000 Patient/innen geplant, bei denen zwischen 2005 und 2015 im Rahmen der Abklärung von Schilddrüsenknoten Calcitonin gemessen worden war. Frauen und Männer, jeweils im Alter von 18 bis 100 Jahren, sollten gleichermaßen eingeschlossen werden. Als Hauptzielgröße wurde der Laborwert Calcitonin in der Abklärung von Schilddrüsenknoten zum Ausschluss eines medullären Schilddrüsenkarzinoms definiert; als Nebenzielparameter waren Erkrankungen mit möglichem Einfluss auf die Schilddrüsenfunktion, Alter, Geschlecht, Medikation, weitere (Schilddrüsen-)Hormonwerte, Vitamin D, Lebensstilfaktoren wie Rauchen und präanalytische Daten (z. B. bekannter längerdauernder Proben-transport) angedacht.

Vor Beginn der Arbeit wurde ein Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz eingeholt (EK-Nummer 28-275 ex 15/16), um die Patient/innen-Daten aus den (elektronischen) Kranken- und Ambulanzakten, den OP-Berichten und den Radiologiebefunden etc. der letzten Jahre verwenden zu dürfen.

Real ließen sich Daten vom 01.01.2009 bis zum 31.12.2015 retrospektiv erheben. Dies betraf 8802 Patient/innen, wobei 320 einen Calcitonin-Wert von ≥ 10 pg/ml aufwiesen – ab diesem Wert wurden Patient/innen für die spätere Auswertung eingeschlossen, da bei niemandem mit niedrigerem Wert ein MTC diagnostiziert worden war.

Die endgültige Auswertung inklusive Aufarbeitung der jeweiligen Krankenvorgeschichte involvierte dann alle Patient/innen, die 2015 – also im Jahr des Studienbeginns – aktuelle Patient/innen mit Calcitonin-Messung an der Endokrinologie des Universitätsklinikums Graz waren und damit im Bearbeitungszeitraum bis Oktober 2016 auch teils zum Follow-up kamen. Dies waren 2143 Patient/innen, davon 87 mit einer Calcitonin-Konzentration von ≥ 10 pg/ml, die damals (01.01.2016) zwischen 8 und 86 Jahren alt waren. Das heißt, eine einzelne minderjährige Patientin war mit eingeschlossen worden.

Es handelte sich bei diesen 87 Patient/innen um solche mit:

- bereits diagnostiziertem MTC, mit oder ohne MEN-Syndrom
- Verdacht auf ein MTC

- Struma
- anderen endokrinologischen Erkrankungen und
- retrospektiv nicht eruierbaren Gründen der Calcitonin-Messung, da es sich zum Teil um Anforderungen auswärtiger Ärzte und Ärztinnen handelte.

2.1.2. Analyseverfahren im Labor

Die Calcitonin-Konzentrationen in den Patient/innen-Seren wurden mittels Analyseautomaten „Immulinite® 2000 Calcitonin“ (6), einem Festphasen-, Enzym-markierten Sandwich-Chemolumineszenz-Immunoassay der Firma Siemens, bestimmt. Bei einigen Patient/innen wurde der Wert zusätzlich durch ein ergänzendes Verfahren per RIA gemessen und verifiziert, wie bereits im Fallbericht (Punkt 1.1.1) erwähnt. Es wurden allerdings primär die per Immulinite® ermittelten Wert für die Stratifizierung der Calcitonin-Daten herangezogen.

Für die Analyse per Immulinite® 2000 wurden die Blutproben an der Endokrinologie-Laborplattform zuerst kurz gekühlt gelagert, bis die Gerinnung abgeschlossen war, und dann zentrifugiert. Anschließend wurden sie in die Teströhrchen des Analyseautomaten überführt, die als Festphase mit monoklonalen Calcitonin-Maus-Antikörpern beschichtete Polysterol-Kügelchen enthalten. Es folgte eine 30-minütige Inkubationszeit zur Bindung des in den Proben potentiell enthaltenen Calcitonins. Nach Reinigung von den ungebundenen Bestandteilen per Zentrifugation und Waschungen wurden als Signalmoleküle polyklonale Calcitonin-Ziegen-Antikörper, die mit alkalischer Phosphatase konjugiert sind, dem Reaktionsgefäß zugesetzt und erneut für 30 Minuten inkubiert. Währenddessen konnten diese Antikörper an eine zweite Bindungsstelle des an den Kügelchen immobilisierten Proben-Calcitonins binden. Es folgte eine erneute Zentrifugationsreinigung und die Zugabe eines Chemilumineszenz-Substrats (ein Dioxetan), das von der alkalischen Phosphatase umgesetzt wurde, wodurch es zur Lichtemission kam, die vom Photomultiplier innerhalb des Messautomaten (Versa Cell) detektiert wurde. Die Anzahl der emittierten Lichtsignale ist dabei der Calcitonin-Konzentration in der Probe proportional.

Der mit dieser Methode erhaltene Messbereich umfasst 2-2000 pg/ml.

2.1.3. Statistische Auswertung der Daten

Sammlung und Klassifizierung der Daten:

Die gemessenen Calcitonin-Konzentrationen von 2009 bis 2015 wurden in einer Excel-Tabelle, getrennt nach Jahren, gesammelt und zusammen mit den jeweiligen Abnahmetermeninen, Anforderungsnummern und -leitstellen, Patient/innen-Namen, Geschlecht und Geburtsdaten aufgeführt. Anschließend wurden diese pro Jahr absteigend nach den Calcitonin-Werten geordnet, um einen Überblick besonders bezüglich der Anzahl erhöhter Werte zu gewinnen. Schließlich wurden die gesamten Daten der aktuellen Patient/innen von 2015 extrahiert und gemeinsam mit den Follow-up-Daten im Folgejahr bis Oktober 2016 gelistet. Die jeweils höchsten Calcitonin-Konzentrationen pro Patient/in wurden für die tabellarische, absteigende Auflistung übernommen und die übrigen Messwerte zur Information parallel gespeichert. Nach stichprobenartigem Abgleich dieser Werte mit den zugehörigen Befunden im MEDOCS wurde beschlossen, im Folgenden nur bei Patient/innen mit Calcitonin-Konzentrationen von ≥ 10 pg/ml weiter zu recherchieren, welche potentiellen Ursachen für deren Calcitonin-Anstieg verantwortlich sein könnten. Es wurden daher bei 87 der 2143 Patient/innen alle verfügbaren Informationen der Krankengeschichte im MEDOCS gesichtet und protokolliert. Die endokrinologischen bzw. (wenn vorhanden) Schilddrüsenhauptdiagnosen und ggf. potentielle Beeinflussungsfaktoren der Calcitonin-Werte wurden ebenfalls in der sortierten Excel-Tabelle aufgeführt. Für die konkrete statistische Auswertung wurden dann

- erstens die Patient/innen gemäß der Diagnosen stratifiziert, indem diese mittels fünf verschiedener Diagnosecodes kodiert wurden (siehe auch 2.1.1):
 - 0 = unbekannt
 - 1 = MTC, ohne MEN
 - 2 = MEN
 - 3 = Struma
 - 4 = Verdacht auf MTC
 - 5 = andere (endokrinologische) Erkrankung
- und zweitens die Namen für die Anonymisierung durch fortlaufende Patient/innen-Nummern ersetzt.

Deskriptive Statistik:

Die so kodierte und anonymisierte Tabelle wurde der deskriptiven Statistik zugeführt, die mit dem Programm SPSS Version 22.0 berechnet wurde.

Im Rahmen dieser wurden die verarbeiteten Fälle zuerst anhand der obigen Diagnosecodes in

- „positiv“ bei Code 1 und 2 (MTC diagnostiziert bzw. MEN-positiv)
- „negativ“ bei Code 0, 3 und 5 (kein MTC diagnostiziert und kein MEN) und
- „fehlend“ bei Code 4 (Verdacht auf MTC, aber Diagnose zum Zeitpunkt der statistischen Auswertung unklar) unterteilt.

Damit wurde erstens unter Einberechnung der zugehörigen Calcitonin-Werte eine ROC-Kurve für die Darstellung der Sensitivitäten und Spezifitäten und zur Ermittlung sinnvoller Cut-off-Werte erstellt. Diese lassen sich manuell wählen oder über den maximalen Youden-Index berechnen, d. h. der maximal erzielbare Wert aus Sensitivität + Spezifität - 1 (41). Zusätzlich wurde die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) als Maß für die Qualität des Klassifikators errechnet.

Als Zweites wurde dieses Verfahren getrennt nach weiblichen und männlichen Personen wiederholt und jeweils eine ROC-Kurve angefertigt.

Als Drittes wurden die absoluten und relativen Häufigkeiten der Altersverteilung aufgelistet und per Histogramm graphisch dargestellt sowie Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Auf Grundlage des Mittelwertes (56,56 Jahre) \pm 1 Standardabweichung (16,47 Jahre) wurden vier Alterskategorien entwickelt und jeweils ROC-Kurven erstellt – bis 40 Jahre, 41-56, 57-73 und 74-87 Jahre – um altersspezifische Cut-offs zu erhalten.

Danach erfolgte eine Auflistung der absoluten und relativen Häufigkeiten der erhaltenen Calcitonin-Konzentrationen und im vierten Schritt wurden Kreuztabellen erstellt. Diese enthielten die vier Felder aus der Diagnose MTC/MEN „ja“ oder „nein“ und der Calcitonin-Konzentration „niedrig“ oder „hoch“, wobei die Einteilung aus den im zweiten Schritt errechneten geschlechtsspezifischen Cut-offs resultierte.

Damit wurden zum einen Chi-Quadrat-Tests bzw. Fisher-Exakt-Tests (wenn bei mehr als 20 % der Zellen eine erwartete Häufigkeit < 5 vorlag) ausgeführt, um zu überprüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen Calcitonin-Wert und MTC-Diagnose gibt, und zum anderen ein Zusammenhangsmaß für zwei binäre Variablen, der Phi-Koeffizient, für die Stärke des Zusammenhangs berechnet.

Im letzten Schritt wurden dann in Excel unter Verwendung der für Frauen und Männer ermittelten Cut-offs der negative und positive Vorhersagewert, die Sensitivität und Spezifität sowie mit diesen der Youden-Index für die Gesamtstichprobe berechnet.

2.1.4. Literaturrecherche

Die Literatur für den allgemeinen Teil sowie für die Vergleiche in der Diskussion wurde einerseits durch gezielte PubMed-Recherche und andererseits durch Sichtung des Bibliotheksbestandes an Lehr- und Laborbüchern an der Medizinischen Universität Graz, sowohl vor Ort als auch unter Nutzung der Onlineressourcen, gewonnen. Außerdem wurden die Anleitungen und Veröffentlichungen der Labortesthersteller genutzt.

In PubMed wurden vor allem die Suchbegriffe „Calcitonin“, „medullary thyroid cancer“ und „MTC“ unter Ausschluss von „Calcitonin gene-related peptide“ verwendet. Für Detailfragen wurden diese mit Stichwörtern wie „guidelines“, „Hashimoto“, „Gastrin“, „pregnancy“, „smoking“, „immunoassay“ bzw. „heterophilic antibodies“ verknüpft.

Aus den so gefundenen Arbeiten wurden zudem die darin angegebenen Quellen extrahiert und diese in Abhängigkeit ihrer Relevanz für eine tieferreichende Recherche weiterverwendet.

2.2. TSI

2.2.1. Studienprotokoll und Patient/innenkollektiv

Auch der TSI-Teil dieser Arbeit wurde im Rahmen der TSICAL-Studie durchgeführt. Im Studienprotokoll war eine Fallzahl von 500 Patient/innen mit Immunhyperthyreose, deren TRAK- und TSI-Werte an der Endokrinologie-Laborplattform an der Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie zwischen 2015 und 2016 bestimmt wurden, vorgesehen. Alle verfügbaren Frauen und Männer von 18 bis 100 Jahren sollten eingeschlossen werden.

Als Hauptzielgröße wurde der Laborwert „TSI“ bei der Diagnose Morbus Basedow bzw. Immunhyperthyreose festgesetzt und als Nebenzielparameter wurden Begleiterkrankungen, Alter, Geschlecht, weitere Schilddrüsenhormonwerte, Vitamin D und weitere Schilddrüsen-Antikörperwerte definiert.

Wie bereits erwähnt, wurde für die Studie ein Votum der Ethikkommission eingeholt, um die Patient/innen-Daten aus den (elektronischen) Kranken- und Ambulanzakten, den OP-Berichten und den Radiologiebefunden etc. der letzten Jahre verwenden zu dürfen. Dieses Votum galt sowohl für den Calcitonin- als auch den TSI-Teil.

Schließlich konnten 115 Patient/innen, bei denen sowohl TSI als auch TRAK gemessen wurden, im Zeitraum von Anfang Januar bis Ende Mai 2016 rekrutiert werden, da nur für diese Zahl an Patient/innen die zur Verfügung gestellte Anzahl an TSI-Testsets für Analysen verwendet wurde. Dies involvierte auch 15 damals minderjährige Personen, die in Hinblick auf eine größere Fallzahl nachträglich noch eingeschlossen wurden, sodass das Patient/innenkollektiv dann ein Altersspektrum von 0 bis 84 Jahren umfasste (Stichtag 01.06.2016).

Die Zuweisung der Patient/innen zur TRAK- und TSI-Messung erfolgte aufgrund der Diagnosen Morbus Basedow, Hashimoto-Immunthyreopathie und anderer (Schilddrüsen-) Erkrankungen.

2.2.2. Analyseverfahren im Labor

Für die Vergleichbarkeit der Aussagekraft von TSI und TRAK wurden jeweils beide bei allen Patient/innen gemessen. Für TSI erfolgte dies mit dem Immulite[®] 2000 TSI von Siemens Healthcare Diagnostics und für TRAK mittels IASONTRAb[®]e. der IASON GmbH.

TRAK-Messung – IASONTRAb® e.:

Bei diesem Testkit handelt es sich um ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Autoantikörpern gegen den TSH-Rezeptor in Humanseren (37), die im Englischen TRAb („TSH receptor autoantibodies“) genannt werden, woraus sich der Name des Kits ableitet.

Vor der Testdurchführung mussten alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht werden. Als Erstes wurden jeweils ein Startpuffer gemeinsam mit den Patient/innenproben in die mit TSH-Rezeptoren beschichteten Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Parallel dazu erfolgte dies auch mit Standards und Kontrollseren aus dem Testkit auf derselben Platte. Während der zweistündigen Inkubation unter Schütteln bei Raumtemperatur konnten die TRAK aus den Proben an die TSH-Rezeptoren in den Wells binden. Anschließend wurden die ELISA-Platten zum Entfernen nicht gebundener Bestandteile mit einem Waschpuffer zweimal gewaschen und danach auf Zellstoff zum Trocknen ausgeklopft. Als Nächstes wurde ein TSH-Biotin-Komplex, der vorher mit einem Assaypuffer rekonstituiert worden war, in die Wells pipettiert und die Platten nun für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In dieser Zeit konnten die TSH-Biotin-Komplexe an die noch freien TSH-Rezeptoren binden. Die Flüssigkeit wurde anschließend abgesaugt und die Platten dreimal mit dem Waschpuffer, wie bereits zuvor, gewaschen. Im nächsten Schritt wurde Streptavidin-Meerrettichperoxidase, die zuvor mit dem zugehörigen Verdünnungspuffer im Verhältnis 1:20 verdünnt worden war, in die Wells pipettiert. Es folgten wieder 30 Minuten Inkubation, während der die Rezeptor-TSH-Komplexe spezifisch mit einem an die Peroxidase gekoppelten Konjugat reagierten. Nach Absaugen und drei Waschungen zur Entfernung überschüssiger Konjugatmoleküle wurde das farblose Substrat 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin hinzupipettiert und für 30 Minuten im Dunkeln inkubiert. Währenddessen kam es durch Umsetzen des Substrats durch die Peroxidase zur blauen Farbentwicklung, die im Folgeschritt durch Zugabe von 0,5 M Schwefelsäure als Stopplösung unterbrochen wurde, was einen Farbumschlag von blau nach gelb bewirkte. Im letzten Schritt wurde die Absorption der Wells bei 450 nm mit einem Photometer gemessen, wobei die optische Dichte umgekehrt proportional zur TRAK-Konzentration war, die mit einer Eichkurve bestimmt werden konnte.

Der mit dieser Methode erzielbare Messbereich umfasst 1-40 U/l (37). Für höhere TRAK-Konzentrationen wurden Verdünnungsreihen mit dem Standard 1 (TRAK-Konzentration = 0 U/l) des Testkits durchgeführt, sodass bei uns Werte bis 600 IU/l ermittelt werden konnten.

TSI-Messung – Immulite® 2000:

Das Grundprinzip dieses automatischen, Zwei-Schritt-Chemilumineszenz-Immunoassays wurde bereits unter Punkt 1.2.3 skizziert und ist vergleichbar mit der in Punkt 2.1.2 beschriebenen Methodik des Immulite® 2000 Calcitonin.

Die Proben wurden, sofern sie nicht sofort der Analyse zugeführt wurden, bei 2-8 °C an der Endokrinologie-Laborplattform gelagert. Dies ist auch der erforderliche Temperaturbereich für die Lagerung der Reagenzien für den Immulite®-Automaten.

Nach Abschluss der Gerinnung wurden die Proben zentrifugiert und in die Teströhrchen des Analyseautomaten überführt. In diesen befanden sich als Festphase Polyesterol-Kügelchen, die mit einem rekombinanten humanen TSH-Rezeptor beschichtet waren. Während der anschließenden 30 Minuten Inkubationszeit konnten die in den Proben enthaltenen TSI-Moleküle an diese Rezeptoren binden. Ungebundene Bestandteile wurden daraufhin mittels Waschungen und Zentrifugation entfernt.

Im nächsten Schritt wurden als Signalmoleküle mit alkalischer Phosphatase konjugierte rekombinante humane TSH-Rezeptoren zugesetzt, die in einer Pufferlösung stabilisiert vorlagen. Es folgte erneut eine 30-minütige Inkubationszeit, sodass die markierten Rezeptoren über eine zweite Bindungsstelle des TSI an diese binden konnten. Ungebundene Rezeptoren wurden danach wiederum per Zentrifugalreinigung entfernt.

Im letzten Reaktionsschritt wurde das Chemilumineszenz-Substrat (ein Dioxetan) hinzugefügt, das von der gebundenen alkalischen Phosphatase im Reaktionsansatz umgesetzt wurde. Dies diente der Quantifizierung des Signalsubstrats und damit indirekt der TSI. Denn bei der Reaktion wurde ein Lichtsignal erzeugt, das der TSI-Menge in der Probe proportional war und mit dem im Gerät integrierten Photomultiplier detektiert werden konnte.

Der Messbereich umfasst mit dieser Methode 0,10 bis 40 IU/l, wobei Ergebnisse über 40 IU/l durch Verdünnung mit zum Beispiel Multi-Diluent 2 erneut getestet und so spezifiziert werden können (36).

2.2.3. Statistische Auswertung der Daten

Sammlung und Klassifizierung der Daten:

Alle 115 Patient/innen, bei denen an der Abteilung für Endokrinologie in Graz TSI gemessen wurde, wurden in einer Excel-Tabelle gemeinsam mit dem vollständigen Namen,

Geburtsdatum, Abnahmedatum und dem parallel bestimmten TRAK gelistet. Dies betraf den Zeitraum von Januar bis Mai 2016.

Nachfolgend wurden alle Personen aufsteigend nach ihren TSI-Werten geordnet, um für die weitere Bearbeitung eine Stratifizierung in vier Konstellationsgruppen zu erlauben:

1. $TSI \leq 0,1 \text{ IU/l} + \text{TRAK} < 15 \text{ IU/l}$
2. $TSI \leq 0,1 \text{ IU/l} + \text{TRAK} \geq 15 \text{ IU/l}$
3. $TSI > 0,1 \text{ IU/l} + \text{TRAK} < 15 \text{ IU/l}$
4. $TSI > 0,1 \text{ IU/l} + \text{TRAK} \geq 15 \text{ IU/l}$

Die Grenzwerte wurden dabei folgendermaßen gewählt: Für TSI zählte das bloße Vorhandensein, d. h. Werte oberhalb der Nachweisgrenze von 0,1 IU/l. Bei TRAK wurde der allgemein genutzte Cut-off von 15 IU/l verwendet.

Bei Patient/innen, bei denen mehrfach TSI und TRAK gemessen wurden, wurden alle Daten in gesonderten Zeilen derselben Tabelle gespeichert, für die Reihung wurde aber in der Regel das in der Chronologie erste Messwertepaar herangezogen.

Innerhalb dieser nun gesondert gelisteten Gruppen wurden dann für alle Patient/innen die elektronischen Krankenakten und Befunde durchsucht, um die zugehörigen Hauptdiagnosen sowie relevante Nebendiagnosen, Lebensstilfaktoren etc. ebenfalls in den vier Tabellen aufzuführen. Konstellation 4 wurde nachfolgend noch in 4a ($TSI < 5,0 \text{ IU/l}$) und 4b ($TSI \geq 5,0 \text{ IU/l}$) gegliedert, da sich empirisch oberhalb dieses Grenzwerts nur noch Morbus-Basedow-Fälle fanden, wenn die Ursache aus den Krankenakten hervorging.

Nach Abschluss der Recherche wurde jedem Patienten und jeder Patientin für die statistische Auswertung ein Diagnosecode entsprechend der Schilddrüsen-relevanten Diagnosen zugeordnet:

- 0 = unbekannt
- 1 = Morbus Basedow
- 2 = Immunthyreopathie Typ Hashimoto und/oder Hypothyreose
- 3 = andere Schilddrüsendiagnose
- 4 = andere Diagnosen (nicht die Schilddrüse betreffend).

Im letzten Schritt erfolgten die erneute Zusammenführung der vier einzelnen Tabellen und die Anonymisierung, indem die Namen durch fortlaufende Patient/innen-Nummern ersetzt wurden.

Deskriptive Statistik:

An der auf diese Weise kodierten und anonymisierten Tabelle wurde mit dem Programm SPSS Version 22.0 die deskriptive Statistik durchgeführt.

Für die Berechnungen wurde zuerst die fünfstufige Diagnosevariable in eine zweistufige rekodiert, indem die Diagnosecodes 0 sowie 2 bis 4 mit „0“ (= kein Morbus Basedow) rekodiert wurden, während Diagnosecode 1 „1“ (= Morbus Basedow) blieb. Außerdem wurde für die TRAK-Analysen den TRAK-Werten $< 15,0$ IU/l der Wert „0“ zugeordnet, während mit TRAK-Werten $\geq 15,0$ IU/l „1“ verknüpft wurde.

Im ersten Schritt wurden eine Häufigkeitstabelle mit den absoluten und relativen Häufigkeiten aller einzelnen TRAK-Werte sowie eine Übersicht über die entsprechenden Gesamthäufigkeiten der Werte ober- bzw. unterhalb des Grenzwerts angefertigt.

Im nächsten Schritt wurde eine Kreuztabelle erstellt, und zwar für die vier Felder Hyperthyreose (ja oder nein) und TRAK größer oder kleiner 15 IU/l. Damit wurden verschiedene Chi-Quadrat-Tests durchgeführt, um zu prüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen Hyperthyreose und TRAK gibt. Zudem wurde das symmetrische Maß Phi-Koeffizient zur Darstellung der Stärke des Zusammenhangs berechnet. Die vier Konstellationen der Kreuztabelle wurden dann zusätzlich graphisch per Balkendiagramm veranschaulicht.

Als Drittes wurde für TRAK, je nach Hyperthyreose „ja oder nein“, eine ROC-Kurve für die Darstellung der Sensitivitäten und Spezifitäten und zur Verifizierung des gesetzten Cut-off-Werts erstellt. Zur Überprüfung des letzteren wurden die einzelnen Koordinaten der Kurve noch tabellarisch aufgeführt. Auch die Fläche unter der Kurve (AUC) als Maß für die Güte des Klassifikators wurde im Zuge dieses Schrittes berechnet.

Anschließend wurde Schritt 3 für die TSI-Werte wiederholt, sodass auch für TSI eine ROC-Kurve, AUC und die einzelnen gelisteten Kurvenkoordinaten vorlagen, welche essentiell für die Fragestellung bezüglich sinnvoller TSI-Grenzwerte sind. Ebenso wurde für TSI das beschriebene Prozedere zur Korrelationsanalyse wiederholt.

Auf Grundlage dieser Berechnungen wurden einzelne weitere Detailbetrachtungen in Excel ausgeführt:

1. Für einen TRAK-Cut-off von 15 IU/l wurden negativer und positiver prädiktiver Wert, Sensitivität, Spezifität und damit der Youden-Index berechnet.
2. Für einen TRAK-Cut-off von 15 IU/l wurden die Werte aus Schritt 1 getrennt für die Substichproben Frauen und Männer berechnet.

3. Für den einen in der ROC-Analyse ermittelten TSI-Cut-off wurden negativer und positiver prädiktiver Wert, Sensitivität, Spezifität und Youden-Index berechnet.
4. Schritt 3 wurde für die Substichproben Frauen und Männer einzeln wiederholt.
5. Für einen zweiten in der ROC-Analyse ermittelten TSI-Cut-off wurden negativer und positiver prädiktiver Wert, Sensitivität, Spezifität und Youden-Index berechnet.
6. Schritt 5 wurde für die Substichproben Frauen und Männer einzeln wiederholt.

Im finalen Schritt wurden die ROC-Kurven und deren Parameter von TRAK und TSI verglichen und daraus mittels Chi-Quadrat-Test geprüft, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Antikörpern als Diagnostikum gibt.

2.2.4. Literaturrecherche

Wie schon für Calcitonin, wurde auch bezüglich TSI und TRAK die Literatur für den allgemeinen Teil sowie für die Vergleiche in der Diskussion zum einen durch gezielte PubMed-Recherche und zum anderen durch Nutzung des Bibliotheksbestandes an Lehr- und Laborbüchern an der Medizinischen Universität Graz, sowohl vor Ort als auch die Onlinere Ressourcen, gewonnen. Außerdem wurden die Anleitungen und Veröffentlichungen der Labortesthersteller genutzt. Ergänzend wurden Informationen aus der AMBOSS-Online-Enzyklopädie und durch Google-Suche gewonnen.

In PubMed wurden die Suchbegriffe „TSI“ oder „TRAb“ in Kombination mit „Graves‘ disease“, „Graves‘ orbitopathy“, „bioassay“ oder „immunoassay“ angewandt. Für Detailfragen wurden diese noch mit Stichwörtern wie „guidelines“ und „Hashimoto“ verknüpft.

Aus den so gefundenen Arbeiten wurden zudem die darin angegebenen Quellen extrahiert und diese in Abhängigkeit ihrer Relevanz für eine detailliertere Recherche weiterverwendet.

3. ERGEBNISSE

3.1. Calcitonin

3.1.1. Deskriptive Statistik / allgemeine Patient/innen-Charakteristika

Im gewählten Beobachtungszeitraum wurde bei 2143 Personen Calcitonin gemessen, wobei 87 davon eine Calcitonin-Konzentration von ≥ 10 pg/ml aufwiesen und in die Auswertung einfließen. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über das Kollektiv dieser 87 Personen.

Tabelle 1 – Kollektiv der 87 Patient/innen mit Calcitonin-Werten ≥ 10 pg/ml

Geschlechtsverteilung	<u>Frauen:</u> n=23 (26,4 %)		<u>Männer:</u> n=64 (73,6 %)			
Altersspektrum	<u>0-40 J.:</u> n=14 (16,1 %)	<u>41-56 J.:</u> n=27 (31,0 %)	<u>57-73 J.:</u> n=32 (36,8 %)	<u>74-87 J.:</u> n=14 (16,1 %)		
Calcitonin-Spiegel nach „altem“ Cut-off	<u>10-12 pg/ml:</u> n=26 (29,9 %)			<u>> 12 pg/ml:</u> n=61 (70,1 %)		
MTC- bzw. MEN-Status	<u>Positiv:</u> n=14 (16,1 %)		<u>Negativ:</u> n=71 (81,6 %)		<u>V. a. MTC:</u> n=2 (2,3 %)	
Verteilung Diagnosecodes im Detail	<u>Dg. unbekannt:</u> n=18 (20,7 %)	<u>MTC:</u> n=11 (12,6 %)	<u>MEN:</u> n=3 (3,4 %)	<u>Struma.:</u> n=36 (41,4 %)	<u>V. a. MTC:</u> n=2 (2,3 %)	<u>Andere Erkr.:</u> n=17 (19,5 %)

Legende: Dg. = Diagnose, Erkr. = Erkrankung, J. = Jahre, n = Anzahl der Patient/innen

Bezüglich der Berechnung von **Lagemaßen** ist zu bedenken, dass das ausgewertete Kollektiv nur Patient/innen ab Calcitonin-Werten von 10 pg/ml enthält, um Verzerrungen durch die Überzahl an Personen mit sehr niedrigen Werten bzw. solchen von 0 pg/ml zu vermeiden. Für dieses Kollektiv errechneten sich folgende Parameter:

- Mittelwert aller Patient/innen: 179,4 pg/ml
- Median aller Patient/innen: 16 pg/ml
- Mittelwert der Personen mit MTC und MEN im Follow-up: 934,8 pg/ml
- Mittelwert der Personen mit erhöhtem Calcitonin bei anderen Diagnosen: 34,6 pg/ml

Geschlechtsspezifisch ergaben sich folgende Zahlen:

- Von den Frauen waren 3 (13,0 %) MTC- bzw. MEN-positiv und 20 (87 %) negativ. 7 (30,4 %) wiesen Calcitonin-Konzentrationen von 10-12 pg/ml und 16 (69,6 %) von

> 12 pg/ml auf.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 145,9 pg/ml

- Von den Männern waren 11 (17,2 %) MTC- bzw. MEN-positiv, 51 (79,7 %) negativ und 2 (3,1 %) liefen zum Zeitpunkt der Auswertung unter „Verdacht auf MTC“.
- 19 (29,7 %) wiesen Calcitonin-Konzentrationen von 10-12 pg/ml und 45 (70,3 %) von > 12 pg/ml auf.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 191,5 pg/ml

Was die Verteilungen in den **vier Altersgruppen** anging, so zeigten sich folgende Zahlen:

- In der Alterskategorie bis 40 Jahre waren 2 Patient/innen (14,3 %) MTC- bzw. MEN-positiv und 12 (85,7 %) negativ.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 165,7 pg/ml

- In der Gruppe der 41- bis 56-Jährigen waren 6 Personen (22,2 %) positiv, 20 (74,1 %) negativ und eine (3,7 %) mit „Verdacht auf MTC“ enthalten.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 111,5 pg/ml

- Unter den 57- bis 73-Jährigen waren 4 Personen (12,5 %) positiv, 27 (84,4 %) negativ und eine (3,1 %) mit „Verdacht auf MTC“ enthalten.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 293,5 pg/ml

- In der Kategorie der 74- bis 87-Jährigen waren 2 Patient/innen (14,3 %) positiv und 12 (85,7 %) negativ.

Mittelwert der Calcitonin-Konzentrationen: 63,5 pg/ml

Anmerkung: Zum Zwecke der Übersichtlichkeit wurden bei den Bezeichnungen der Altersgruppen die Grenzen gerundet. Die genauen Grenzen, die dann zu den Anzahlen der positiven und negativen Personen führten, ergaben sich aus der Standardabweichung von 16,47 Jahren um den Mittelwert von 56,56 Jahren.

In Abbildung 5 ist die Altersverteilung aller 87 Patient/innen dargestellt.

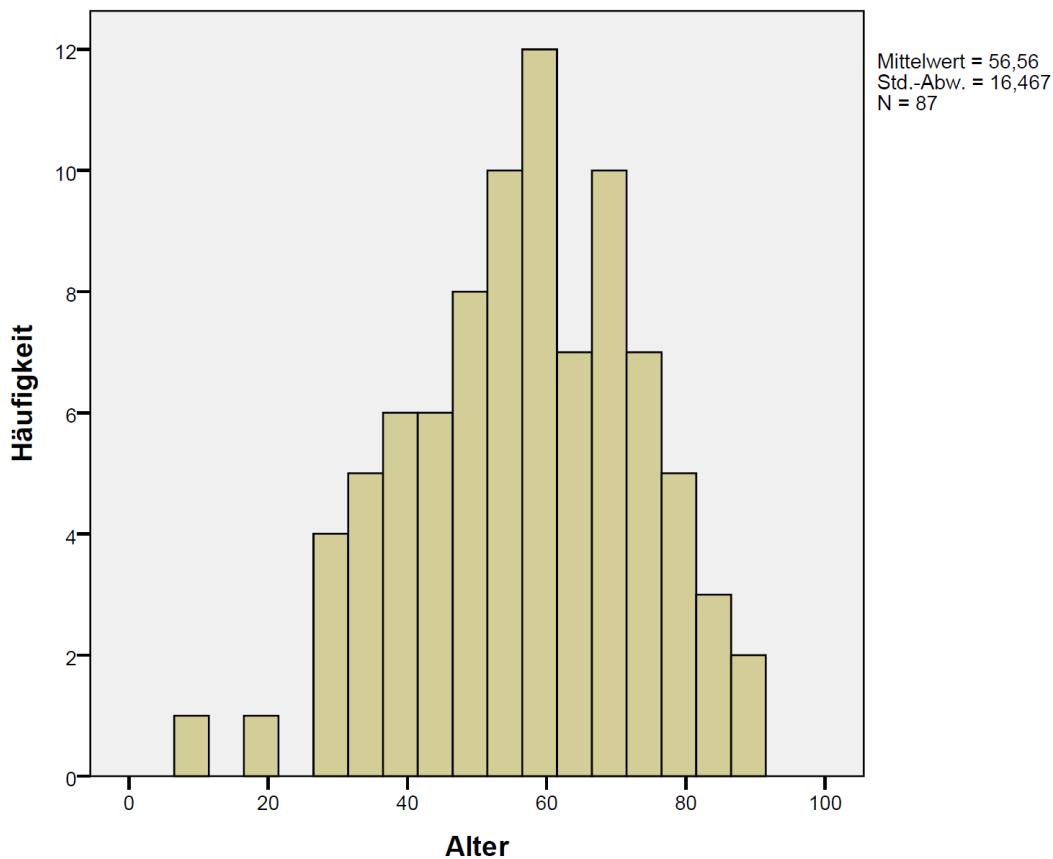


Abbildung 5 – Histogramm zur Darstellung der Altersverteilung des Calcitonin-Patient/innen-Kollektivs

3.1.2. Cut-off-Analysen und Sensitivität/Spezifität

Die Cut-off-Analysen wurden sowohl allgemein für das komplette Kollektiv, als auch geschlechtsspezifisch sowie einzeln für die vier Alterskategorien mit Hilfe von ROC-Kurven durchgeführt.

3.1.2.1. **Analyse des Gesamtkollektivs**

Für das allgemeine Kollektiv der 87 Patient/innen ergab sich die in Abbildung 6 dargestellte ROC-Kurve mit folgenden Parametern:

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,915
- Standardfehler der AUC: 0,039
- Asymptotische Signifikanz: $p < 0,0001$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,838 bis 0,992

Tabelle 2 zeigt einen Ausschnitt der Koordinaten der Kurve. Eine als Cut-off-Wert günstige

Konstellation aus Calcitonin-Konzentration sowie Sensitivität und Spezifität ist hellblau hervorgehoben.

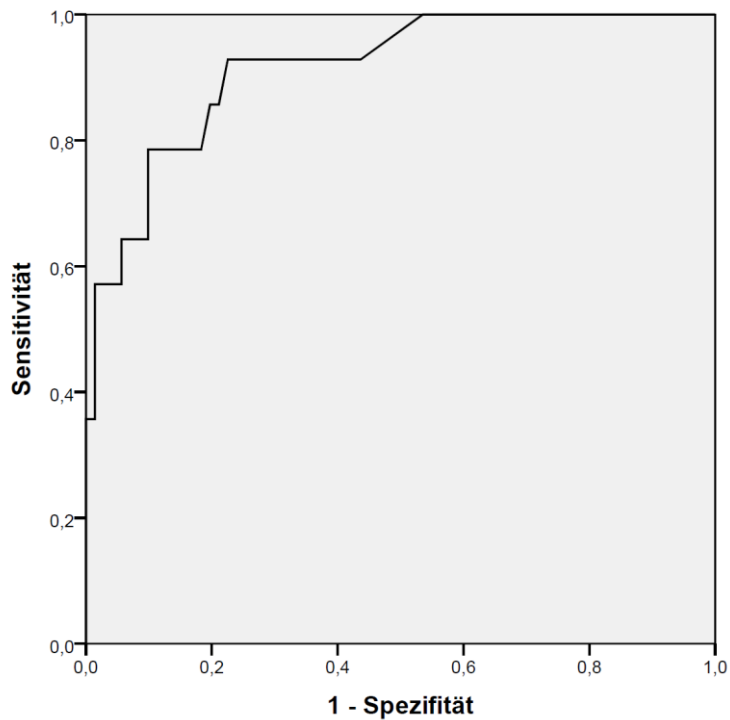


Abbildung 6 – ROC-Kurve des gesamten Calcitonin-Patient/innen-Kollektivs

Tabelle 2 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve des Gesamtkollektivs

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
11,5	1,000	0,662
12,5	1,000	0,634
14,5	1,000	0,535
15,5	0,929	0,437
16,5	0,929	0,394
17,5	0,929	0,366
18,5	0,929	0,324
19,5	0,929	0,310
21,0	0,929	0,282
23,0	0,929	0,254
24,5	0,929	0,225
25,5	0,857	0,211
26,5	0,857	0,197
29,0	0,786	0,183

* hellblaue Zeile: manuell gewählter Cut-off

3.1.2.2. Geschlechtergetrennte Analyse

Bei den separat betrachteten Frauen und Männern resultierten die in Abbildung 7 bzw. Abbildung 8 dargestellten ROC-Kurven mit den unten stehenden Parametern.

Tabelle 3 fasst einen Teil der jeweiligen Kurvenkoordinaten zusammen. Auch hierin sind als Cut-off-Wert günstige Konstellationen aus Calcitonin-Konzentration sowie Sensitivität und Spezifität hellblau hervorgehoben.

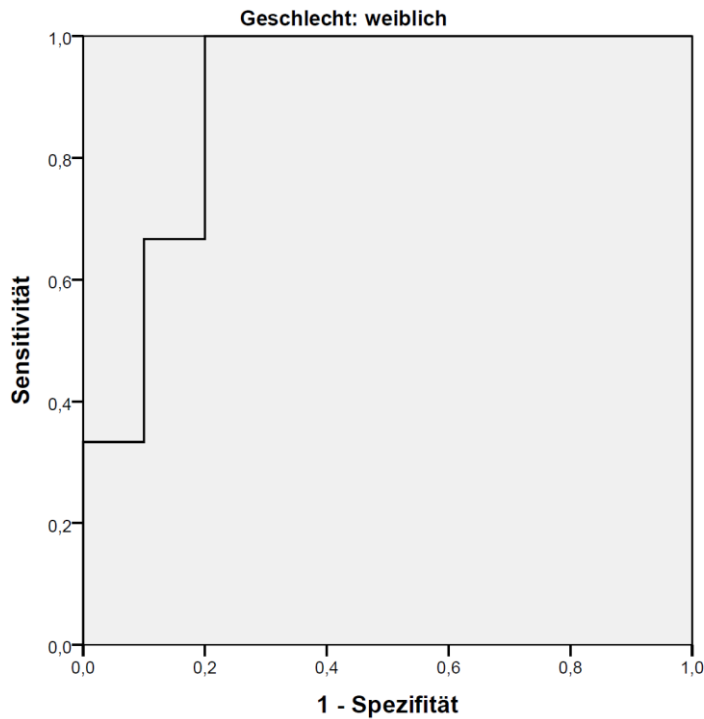


Abbildung 7 – ROC-Kurve der untersuchten Frauen

– Frauen:

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,900
- Standardfehler der AUC: 0,072
- Asymptotische Signifikanz: $p = 0,028$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,760 bis 1,000

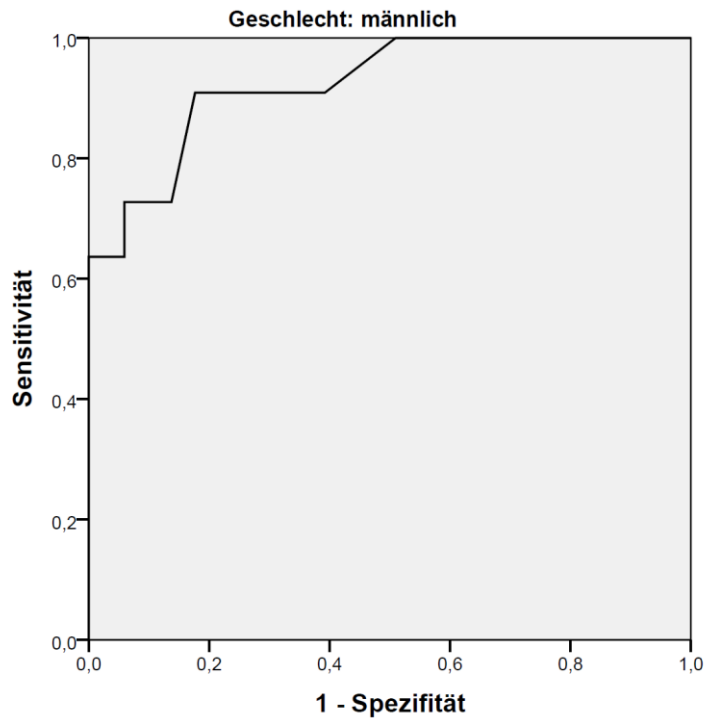


Abbildung 8 – ROC-Kurve der untersuchten Männer

– **Männer:**

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,925
- Standardfehler der AUC: 0,044
- Asymptotische Signifikanz: $p < 0,0001$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,839 bis 1,000

Tabelle 3 – Auswahl an Koordinaten der beiden geschlechtergetrennten ROC-Kurven

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
Frauen:		
11,5	1,000	0,700
21,5	1,000	0,450
25,0	1,000	0,350
35,0	1,000	0,300
47,0	1,000	0,250
73,0	1,000	0,200
106,5	0,667	0,200
118,0	0,667	0,150
127,0	0,667	0,100

Männer:			
	11,5	1,000	0,647
	12,5	1,000	0,627
	14,5	1,000	0,510
	15,5	0,909	0,392
	16,5	0,909	0,333
	17,5	0,909	0,314
	19,0	0,909	0,255
	21,0	0,909	0,216
	23,5	0,909	0,176
	26,0	0,818	0,157
	29,0	0,727	0,137

* hellblaue Zeilen: manuell gewählte Cut-offs

Unter Nutzung der hiermit gewählten Cut-offs von 73 pg/ml bei Frauen und 23,5 pg/ml bei Männern wurde eine Vierfeldertafel der zugehörigen Häufigkeiten von Diagnose und Calcitonin-Konzentration ober- bzw. unterhalb dieses Cut-offs erstellt:

Tabelle 4 – Kreuztabelle aus MTC-Diagnose und Calcitonin-Konzentration bez. neuen geschlechtergetrennten Cut-offs

		Calcitonin-Konzentration [pg/ml]		
		≤ 73 für Frauen/ $\leq 23,5$ für Männer (0)	> 73 für Frauen/ $> 23,5$ für Männer (1)	total
Diagnose	kein MTC (0)	58	13	71
	MTC/MEN (1)	1	13	14
	total	59	26	85

Daraus errechneten sich, für Frauen und Männer zusammengenommen, folgende **Gütekriterien** (gerundet) für die so gesetzten Cut-offs:

- Negativer Vorhersagewert: 0,983
- Positiver Vorhersagewert: 0,5
- Sensitivität: 0,929
- Spezifität: 0,817
- Youden-Index: 0,745

3.1.2.3. Analyse nach Altersgruppen

Bei der Betrachtung der Altersgruppen wurden die folgenden ROC-Kurven (Abbildung 9, Abbildung 10, Abbildung 11, Abbildung 12) mit ihren Parametern (Tabelle 5, Tabelle 6, Tabelle 7, Tabelle 8) errechnet.

– **Alter bis 40 Jahre:**

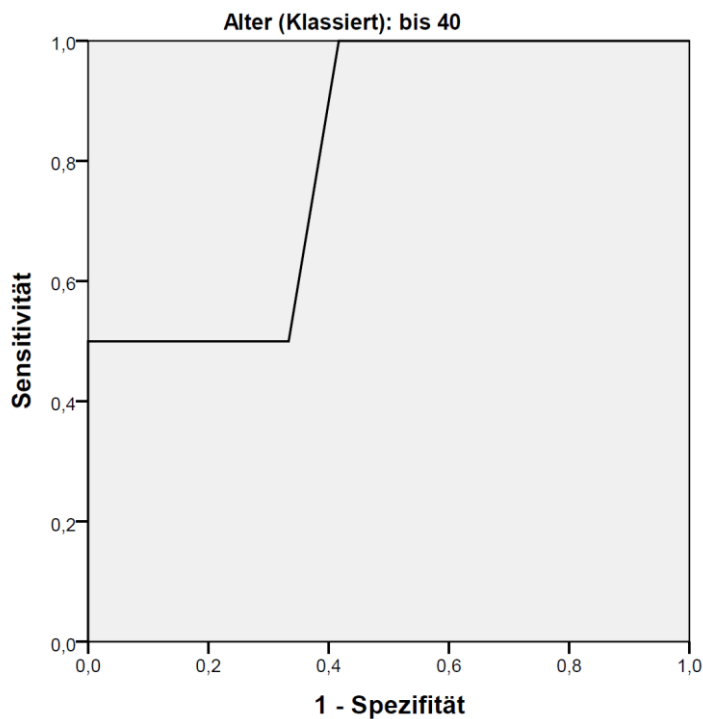


Abbildung 9 – ROC-Kurve der Altersgruppe bis 40 Jahre

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,812
- Standardfehler der AUC: 0,158
- Asymptotische Signifikanz: $p = 0,171$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,503 bis 1,000

Tabelle 5 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 0- bis 40-Jährigen

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
11,5	1,000	0,500
13,5	1,000	0,417
16,5	0,500	0,333
24,5	0,500	0,250
40,0	0,500	0,167

82,5	0,500	0,083
------	-------	-------

* hellblaue Zeilen: manuell gewählte Cut-offs

– **Alter von 41 bis 56 Jahren:**

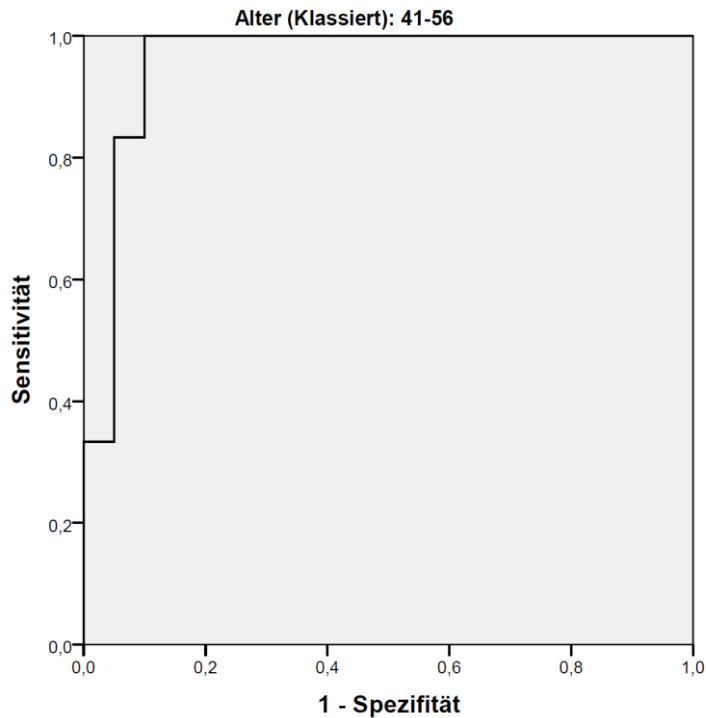


Abbildung 10 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 41 bis 56 Jahren

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,958
- Standardfehler der AUC: 0,038
- Asymptotische Signifikanz: $p = 0,001$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,884 bis 1,000

Tabelle 6 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 41- bis 56-Jährigen

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
24,5	1,000	0,250
25,5	1,000	0,200
35,5	1,000	0,150
71,0	1,000	0,100
108,5	0,833	0,100
143,0	0,833	0,050

* hellblaue Zeile: manuell gewählter Cut-off

– **Alter von 57 bis 73 Jahren:**

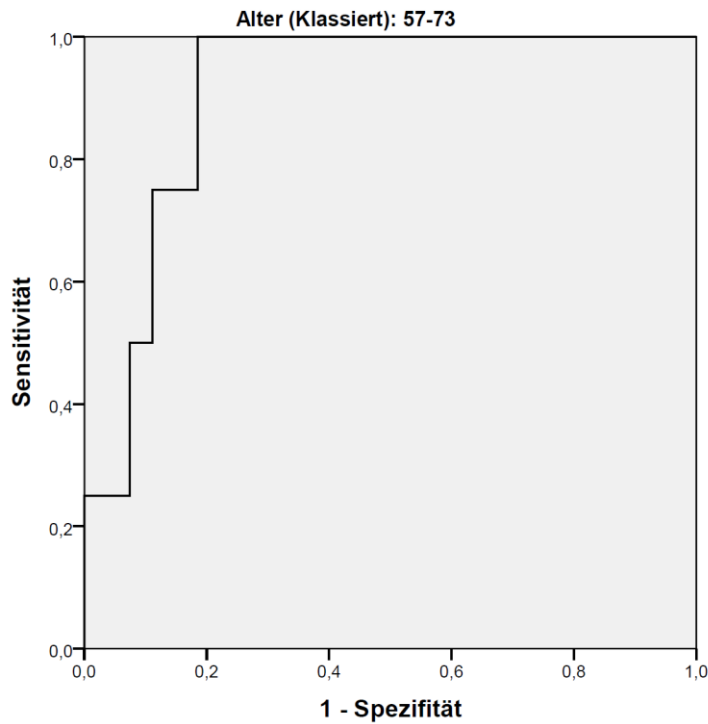


Abbildung 11 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 57 bis 73 Jahren

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,907
- Standardfehler der AUC: 0,056
- Asymptotische Signifikanz: $p = 0,010$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,797 bis 1,000

Tabelle 7 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 57- bis 73-Jährigen

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
19,5	1,000	0,259
21,0	1,000	0,222
24,5	1,000	0,185
32,5	0,750	0,185
45,5	0,750	0,148
73,0	0,750	0,111

* hellblaue Zeile: manuell gewählter Cut-off

– **Alter von 74 bis 87 Jahren:**

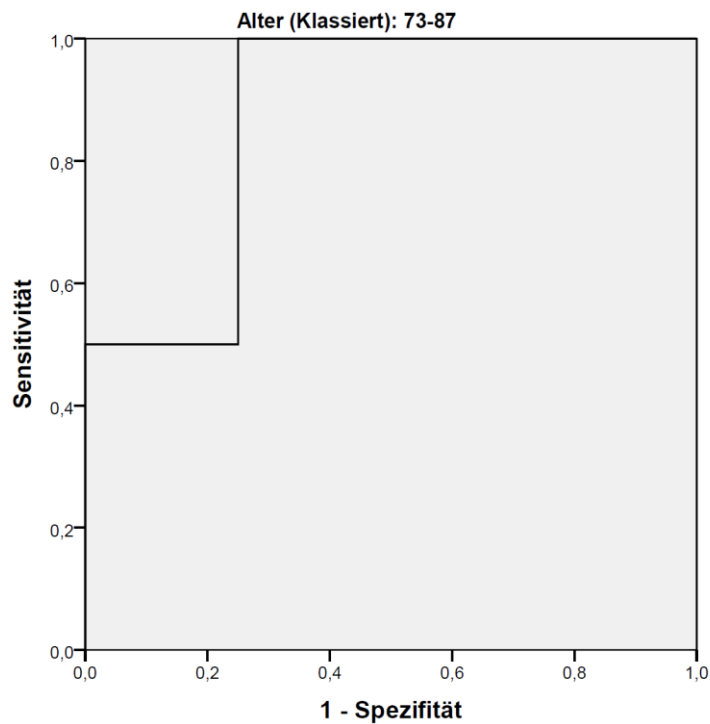


Abbildung 12 – ROC-Kurve der Altersgruppe von 74 bis 87 Jahren

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,875
- Standardfehler der AUC: 0,117
- Asymptotische Signifikanz: $p = 0,100$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,646 bis 1,000

Tabelle 8 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve der 74- bis 87-Jährigen

Positiv, wenn Calcitonin-Spiegel [pg/ml] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
19,5	1,000	0,417
23,0	1,000	0,333
24,5	1,000	0,250
26,0	0,500	0,250
54,0	0,500	0,167
123,0	0,500	0,083

* hellblaue Zeile: manuell gewählter Cut-off

3.1.2.4. Zusammenfassung der ermittelten Calcitonin-Cut-offs

- Gesamtkollektiv: 24,5 pg/ml (Sensitivität 0,929; Spezifität 0,775)
- Frauen: 73,0 pg/ml (Sensitivität 1,000; Spezifität 0,800)
- Männer: 23,5 pg/ml (Sensitivität 0,909; Spezifität 0,824)
- Bis 40-Jährige: 13,5 pg/ml (Sensitivität 1,000; Spezifität 0,583)
- 41- bis 56-Jährige: 71,0 pg/ml (Sensitivität 1,000; Spezifität 0,900)
- 57- bis 73-Jährige: 24,5 pg/ml (Sensitivität 1,000; Spezifität 0,815)
- 73- bis 87-Jährige: 24,5 pg/ml (Sensitivität 1,000; Spezifität 0,750)

3.1.3. Korrelation von Diagnose und Calcitonin-Werten

Ausgehend von der bereits gezeigten Kreuztabelle zur Korrelation von Diagnose und Grenzwert-bezogener Calcitonin-Konzentration (Tabelle 4), die hier mittels Balkendiagramm veranschaulicht werden soll, wurden Chi-Quadrat-Tests ausgeführt.

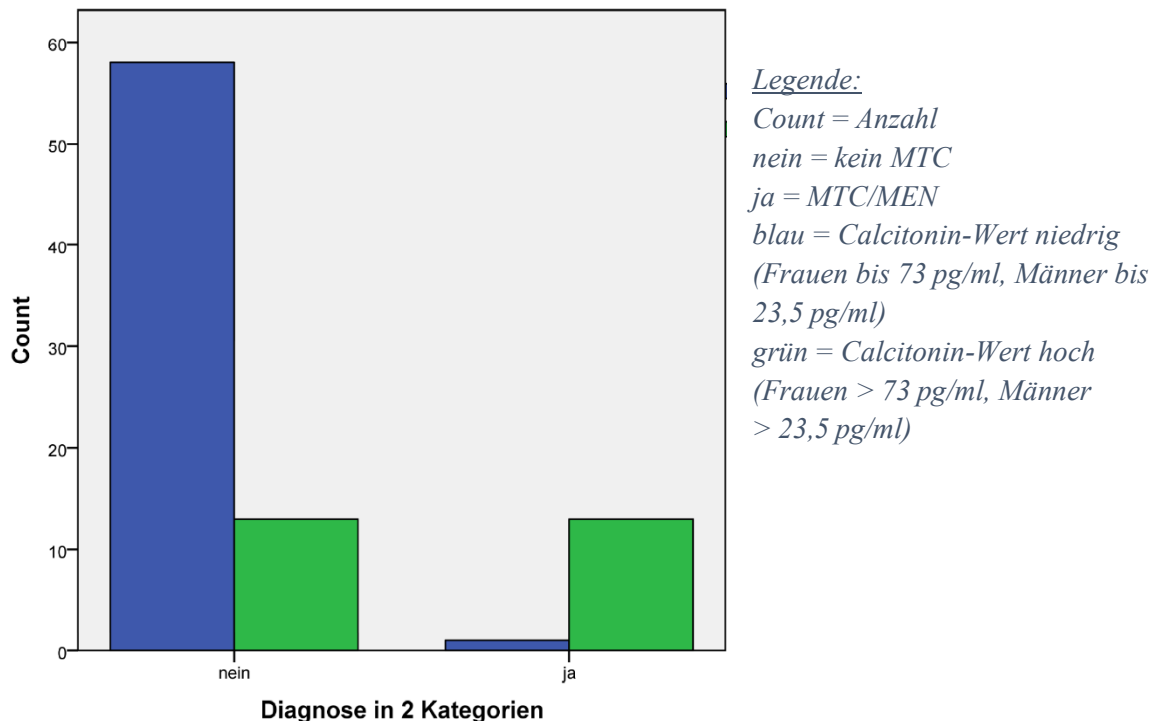


Abbildung 13 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach Calcitonin-Konzentration ober- oder unterhalb des neuen Cut-off-Werts

Es gibt einen Zusammenhang zwischen Diagnose (MTC/MEN) und erhöhten geschlechtsspezifischen Calcitonin-Werten ($X^2 = 30,609$, $df = 1$, $p < 0,0001$).

Die Höhe des Zusammenhangs lag bei Phi = 0,600 ($p < 0,0001$).

3.2. TSI

3.2.1. Deskriptive Statistik / allgemeine Patient/innen-Charakteristika

Im Testzeitraum im ersten Halbjahr 2016 wurde bei 115 Personen TSI zusammen mit TRAK gemessen, die alle in der Auswertung eingeschlossen wurden. Tabelle 9 gibt eine Übersicht zur Zusammensetzung des Patient/innen-Kollektivs.

Tabelle 9 – Kollektiv der 115 TSI-Patient/innen

Geschlechtsverteilung	<u>weiblich:</u> n=94 (81,7 %)	<u>männlich:</u> n=21 (18,3 %)	<u>davon Kinder:</u> n=15 (13,0 %)		
Alter	0-84 Jahre	\bar{x} = 42,58 J.	SD: 19,65 J.	Median: 43 J.	
TRAK-Spiegel bez. Cut-off 15 IU/l	<u>0-15 IU/l:</u> n=21 (18,3 %)		<u>> 15 IU/l:</u> n=94 (81,7 %)		
TSI-Spiegel bez. Nachweisgrenze	<u>< 0,1 IU/l:</u> n=24 (20,9 %)		<u>≥ 0,1 IU/l:</u> n=91 (79,1 %)		
Morbus Basedow	<u>Positiv:</u> n=66 (57,4 %)		<u>Negativ:</u> n=49 (42,6 %)		
Verteilung Diagnosecodes im Detail	<u>Dg. unbekannt:</u> n=18 (15,6 %)	<u>Mb. Basedow:</u> n=66 (57,4 %)	<u>Hashimoto/Hypothyreose:</u> n=11 (9,6 %)	<u>andere SD-Dg.:</u> n=9 (7,8 %)	<u>andere Dg.:</u> n=11 (9,6 %)

Legende: Dg. = Diagnose, Erkr. = Erkrankung, J. = Jahre, Konz. = Konzentrationen, Mb. = Morbus, n = Anzahl der Patient/innen, SD = Standardabweichung

Tabelle 10 fasst die für dieses Kollektiv errechneten Lagemaße zusammen. Der Fokus der Untersuchung lag auf dem Unterschied der allgemeinen diagnostischen Wertigkeit von TRAK und TSI, deswegen entfiel eine detailliertere Berechnung altersspezifischer Differenzen.

Tabelle 10 – Lagemaße des TSI-Patient/innen-Kollektivs

	TRAK [IU/l]	TSI [IU/l]
<i>Mittelwert der Gesamtstichprobe</i>	133,3	7,0
<i>Median der Gesamtstichprobe</i>	50,53	2,09
<i>Mittelwert der Morbus-Basedow-Patient/innen</i>	175,1	10,2
<i>Median der Morbus-Basedow-Patient/innen</i>	97,70	5,66
<i>Mittelwert der weiblichen Personen</i>	137,0	7,0
<i>Mittelwert der männlichen Personen</i>	117,0	7,2

3.2.2. Cut-off-Analysen und Sensitivität/Spezifität

Die Cut-off-Analysen wurden jeweils für TRAK und TSI sowohl allgemein für das komplette Kollektiv als auch geschlechtsspezifisch mit Hilfe von ROC-Kurven durchgeführt.

3.2.2.1. **TRAK-Analysen**

Für das **allgemeine Kollektiv** der 115 Patient/innen ergab sich unter Nutzung des Morbus-Basedow-Status (positiv oder negativ) die in Abbildung 14 dargestellte ROC-Kurve mit folgenden Parametern:

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,775
- Standardfehler der AUC: 0,047
- Asymptotische Signifikanz: $p < 0,0001$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,684 bis 0,867

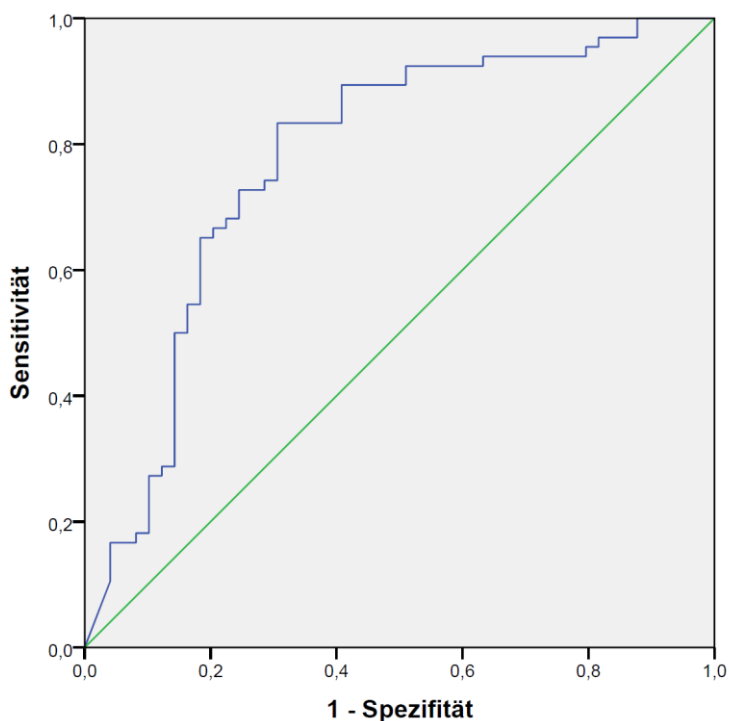


Abbildung 14 – ROC-Kurve zur Bestimmung des TRAK-Cut-offs

Tabelle 11 zeigt einen Ausschnitt der Koordinaten der Kurve. Eine als Cut-off-Wert günstige Konstellation aus TRAK-Konzentration sowie Sensitivität und Spezifität ist hellblau hervorgehoben, während die dem aktuellen Cut-off am nächsten kommende Zeile hellgrün markiert ist.

Table 11 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve für TRAK

Positiv, wenn TRAK-Spiegel [IU/l] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
7,700	1,000	0,878
8,850	0,985	0,878
10,585	0,970	0,816
10,950	0,955	0,796
13,200	0,939	0,714
13,935	0,939	0,673
14,925	0,939	0,653
16,345	0,939	0,633
21,495	0,924	0,510
22,595	0,894	0,490
25,010	0,894	0,408
29,165	0,833	0,388
32,800	0,833	0,306
38,100	0,742	0,286
44,145	0,727	0,245
56,010	0,682	0,224
68,400	0,652	0,184
87,760	0,545	0,163
100,650	0,500	0,143

* hellblaue Zeile: manuell gewählter Cut-off;

hellgrüne Zeile: aktuell in der Klinik genutzter Cut-off

Zur Prüfung des aktuell verwendeten Cut-offs von 15 IU/l wurde eine Vierfeldertafel der zugehörigen Häufigkeiten von Diagnose (Morbus Basedow positiv oder negativ) und TRAK-Konzentration ober- bzw. unterhalb dieses Cut-offs erstellt:

Table 12 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Gesamtkollektiv)

		TRAK-Konzentration [IU/l]		
		< 15 IU/l (0)	≥ 15 IU/l (1)	total
Diagnose	kein Morbus Basedow (0)	17	32	49
	Morbus Basedow (1)	4	62	66
	total	21	94	115

Daraus errechneten sich folgende **Gütekriterien** (gerundet) für den etablierten Cut-off:

- Negativer Vorhersagewert: 0,810
- Positiver Vorhersagewert: 0,660
- Sensitivität: 0,939
- Spezifität: 0,347
- Youden-Index: 0,286

Das entsprechende Prozedere wurde **getrennt für Männer und Frauen** bezüglich des TRAK-Grenzwerts 15 IU/l wiederholt.

Tabelle 13 zeigt die Kreuztabelle für den weiblichen und Tabelle 14 für den männlichen Anteil der Stichprobe.

Tabelle 13 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Frauen)

		TRAK-Konzentration [IU/l]		
		< 15 IU/l (0)	≥ 15 IU/l (1)	total
Diagnose	kein Morbus Basedow (0)	13	25	38
	Morbus Basedow (1)	4	52	56
	total	17	77	94

Daraus resultierten für die **weiblichen Personen** folgende **Gütekriterien** (gerundet) für den aktuellen Cut-off:

- Negativer Vorhersagewert: 0,765
- Positiver Vorhersagewert: 0,675
- Sensitivität: 0,929
- Spezifität: 0,342
- Youden-Index: 0,271

Tabelle 14 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TRAK-Konzentration bez. Cut-off 15 IU/l (Männer)

		TRAK-Konzentration [IU/l]		
		< 15 IU/l (0)	≥ 15 IU/l (1)	total
Diagnose	kein Morbus Basedow (0)	4	7	11
	Morbus Basedow (1)	0	10	10
	total	4	17	21

Für die männlichen **Personen** ergaben sich daraus folgende **Gütekriterien** (gerundet) für den aktuellen Cut-off:

- Negativer Vorhersagewert: 1,000
- Positiver Vorhersagewert: 0,588
- Sensitivität: 1,000
- Spezifität: 0,364
- Youden-Index: 0,364

3.2.2.2. TSI-Analysen

Für das **allgemeine Kollektiv** der 115 Patient/innen ergab sich unter Verwendung des Morbus-Basedow-Status (positiv oder negativ) die in Abbildung 15 dargestellte ROC-Kurve mit folgenden Parametern:

- Fläche unter der Kurve (AUC): 0,822
- Standardfehler der AUC: 0,041
- Asymptotische Signifikanz: $p < 0,0001$
- Asymptotisches 95-%-Konfidenzintervall: 0,742 bis 0,902

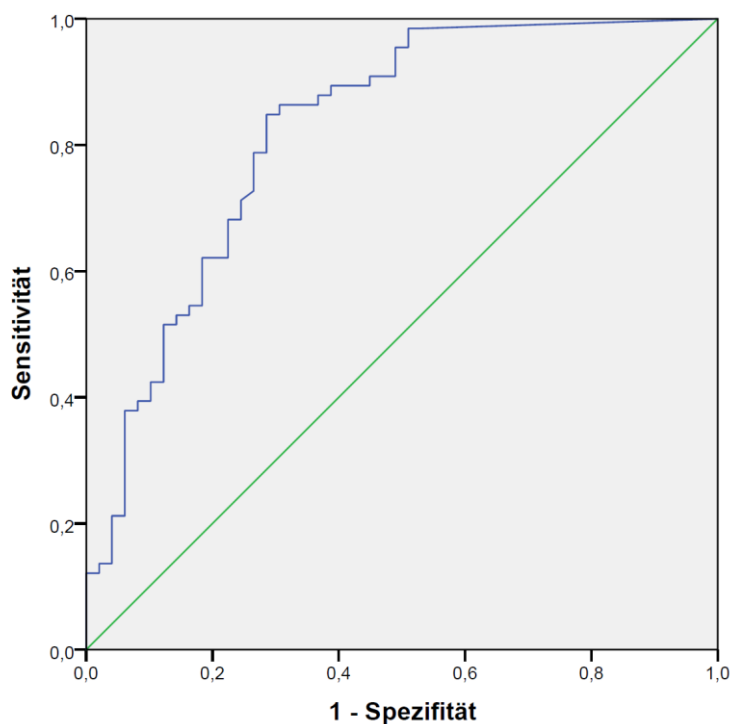


Abbildung 15 – ROC-Kurve zur Bestimmung des TSI-Cut-offs

Tabelle 15 zeigt einen Ausschnitt der Koordinaten der ROC-Kurve. Zwei als Cut-off-Wert günstige Konstellationen aus TSI-Konzentration sowie Sensitivität und Spezifität sind hellblau markiert.

Tabelle 15 – Auswahl an Koordinaten der ROC-Kurve für TSI

Positiv, wenn TSI-Spiegel [IU/l] größer oder gleich	Sensitivität	1 – Spezifität
0,131	0,985	0,531
0,169	0,985	0,510
0,383	0,955	0,490
0,593	0,909	0,449
0,8905	0,894	0,408
0,9895	0,894	0,388
1,080	0,879	0,367
1,515	0,864	0,306
1,620	0,848	0,306
1,770	0,833	0,286
1,830	0,788	0,265
2,020	0,712	0,245
2,160	0,682	0,224
2,930	0,621	0,184
4,720	0,545	0,163
4,895	0,530	0,143
5,225	0,515	0,122
7,430	0,424	0,102
8,465	0,394	0,082
8,855	0,379	0,061
16,050	0,212	0,041
23,550	0,136	0,020

** hellblaue Zeilen: manuell gewählte Cut-offs*

Zur Prüfung der zwei der ROC-Kurve entnommenen Cut-offs wurden **Vierfeldertafeln** der zugehörigen Häufigkeiten von Diagnose (Morbus Basedow positiv oder negativ) und TSI-Konzentration ober- bzw. unterhalb des jeweiligen Cut-offs angefertigt – für beide Cut-offs jeweils für das gesamte Kollektiv und geschlechtergetrennt:

Tabelle 16 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Gesamtkollektiv)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		<i>< 0,593 IU/l (0)</i>	<i>≥ 0,593 IU/l (1)</i>	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	27	22	49
	Morbus Basedow (1)	6	60	66
	total	33	82	115

Daraus errechneten sich folgende **Gütekriterien für den Cut-off 0,593 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 0,818
- Positiver Vorhersagewert: 0,732
- Sensitivität: 0,909
- Spezifität: 0,551
- Youden-Index: 0,460

Tabelle 17 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Frauen)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		<i>< 0,593 IU/l (0)</i>	<i>≥ 0,593 IU/l (1)</i>	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	22	16	38
	Morbus Basedow (1)	6	50	56
	total	28	66	94

Daraus errechneten sich für die **weiblichen Personen** folgende **Gütekriterien für den Cut-off 0,593 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 0,786
- Positiver Vorhersagewert: 0,758
- Sensitivität: 0,893
- Spezifität: 0,579
- Youden-Index: 0,472

Tabelle 18 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 0,593 IU/l (Männer)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		< 0,593 IU/l (0)	≥ 0,593 IU/l (1)	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	5	6	11
	Morbus Basedow (1)	0	10	10
	total	5	16	21

Daraus errechneten sich für die **männlichen Personen** folgende **Gütekriterien für den Cut-off 0,593 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 1,000
- Positiver Vorhersagewert: 0,625
- Sensitivität: 1,000
- Spezifität: 0,455
- Youden-Index: 0,455

Tabelle 19 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Gesamtkollektiv)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		< 1,77 IU/l (0)	≥ 1,77 IU/l (1)	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	35	14	49
	Morbus Basedow (1)	11	55	66
	total	46	69	115

Daraus ergaben sich folgende **Gütekriterien für den Cut-off 1,77 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 0,761
- Positiver Vorhersagewert: 0,797
- Sensitivität: 0,833
- Spezifität: 0,714
- Youden-Index: 0,563

Tabelle 20 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Frauen)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		< 1,77 IU/l (0)	≥ 1,77 IU/l (1)	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	26	12	38
	Morbus Basedow (1)	10	46	56
	total	36	58	94

Daraus ergaben sich für die **weiblichen Personen** folgende **Gütekriterien für den Cut-off 1,77 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 0,722
- Positiver Vorhersagewert: 0,793
- Sensitivität: 0,821
- Spezifität: 0,684
- Youden-Index: 0,506

Tabelle 21 – Kreuztabelle aus Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Konzentration bez. Cut-off 1,77 IU/l (Männer)

		<i>TSI-Konzentration [IU/l]</i>		
		< 1,77 IU/l (0)	≥ 1,77 IU/l (1)	total
<i>Diagnose</i>	kein Morbus Basedow (0)	9	2	11
	Morbus Basedow (1)	1	9	10
	total	10	11	21

Daraus ergaben sich für die **männlichen Personen** folgende **Gütekriterien für den Cut-off 1,77 IU/l**:

- Negativer Vorhersagewert: 0,900
- Positiver Vorhersagewert: 0,818
- Sensitivität: 0,900
- Spezifität: 0,818
- Youden-Index: 0,718

3.2.2.3. Zusammenfassung der ermittelten TRAK- und TSI-Cut-offs

Zum direkten Vergleich zeigt Abbildung 16 die ROC-Kurven von TRAK und TSI in derselben Graphik. Anschließend sind die aus den Berechnungen ausgewählten TRAK- und TSI-Konstellationen mit ihren jeweiligen Sensitivitäten und Spezifitäten aufgelistet.

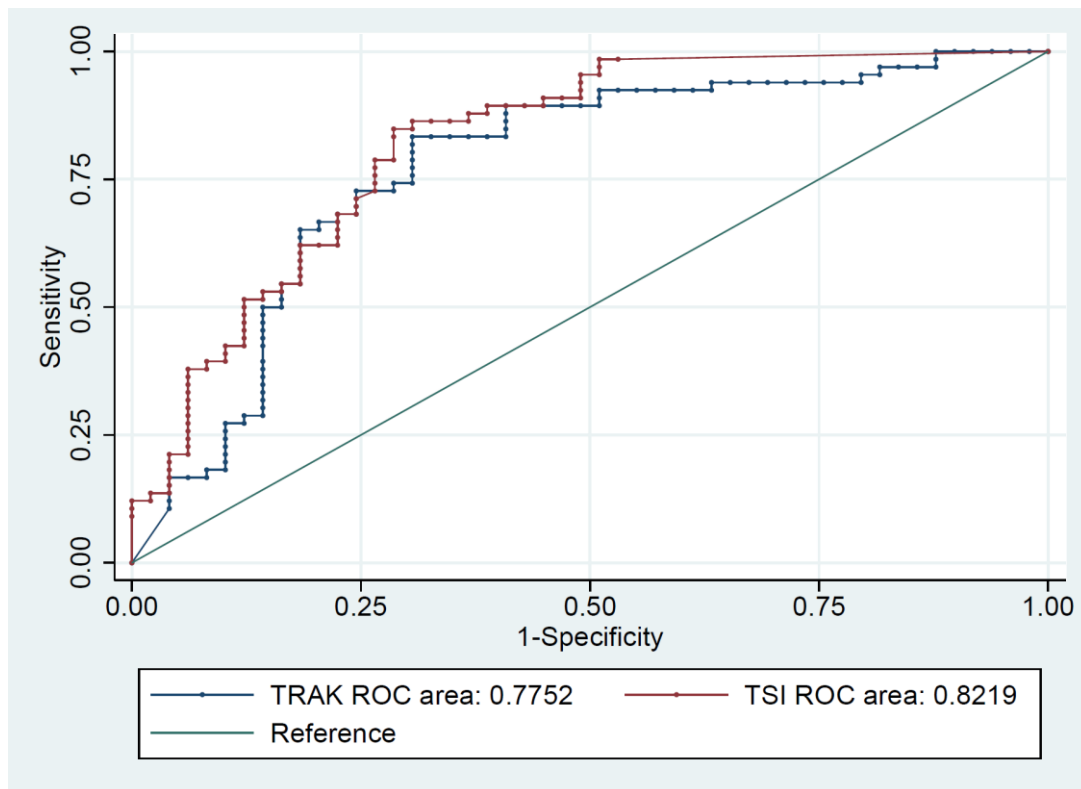


Abbildung 16 – Gegenüberstellung der ROC-Kurven von TRAK und TSI

- TRAK Gesamtkollektiv: üblicher Cut-off **15 IU/l** (Sensitivität 0,939; Spezifität 0,347)
alternativ **25,01 IU/l** (Sensitivität 0,894; Spezifität 0,592)
- Für TRAK 15 IU/l bei Frauen: Sensitivität 0,929; Spezifität 0,342
- Für TRAK 15 IU/l bei Männern: Sensitivität 1,000; Spezifität 0,364
- TSI Gesamtkollektiv: **0,593 IU/l** (Sensitivität 0,909; Spezifität 0,551)
1,770 IU/l (Sensitivität 0,833; Spezifität 0,714)

- Für TSI 0,593 IU/l bei Frauen: Sensitivität 0,893; Spezifität 0,579
- Für TSI 0,593 IU/l bei Männern: Sensitivität 1,000; Spezifität 0,455
- Für TSI 1,77 IU/l bei Frauen: Sensitivität 0,821; Spezifität 0,684
- Für TSI 1,77 IU/l bei Männern: Sensitivität 0,900; Spezifität 0,818

3.2.3. Korrelation von Diagnose und TRAK- bzw. TSI-Werten sowie Vergleich

TRAK-Grenzwert 15 IU/l:

Ausgehend von der bereits gezeigten Kreuztabelle zur Korrelation von Diagnose und TRAK-Konzentration (Tabelle 12), die hier noch mittels Balkendiagramm veranschaulicht wird, wurden Chi-Quadrat-Tests ausgeführt.

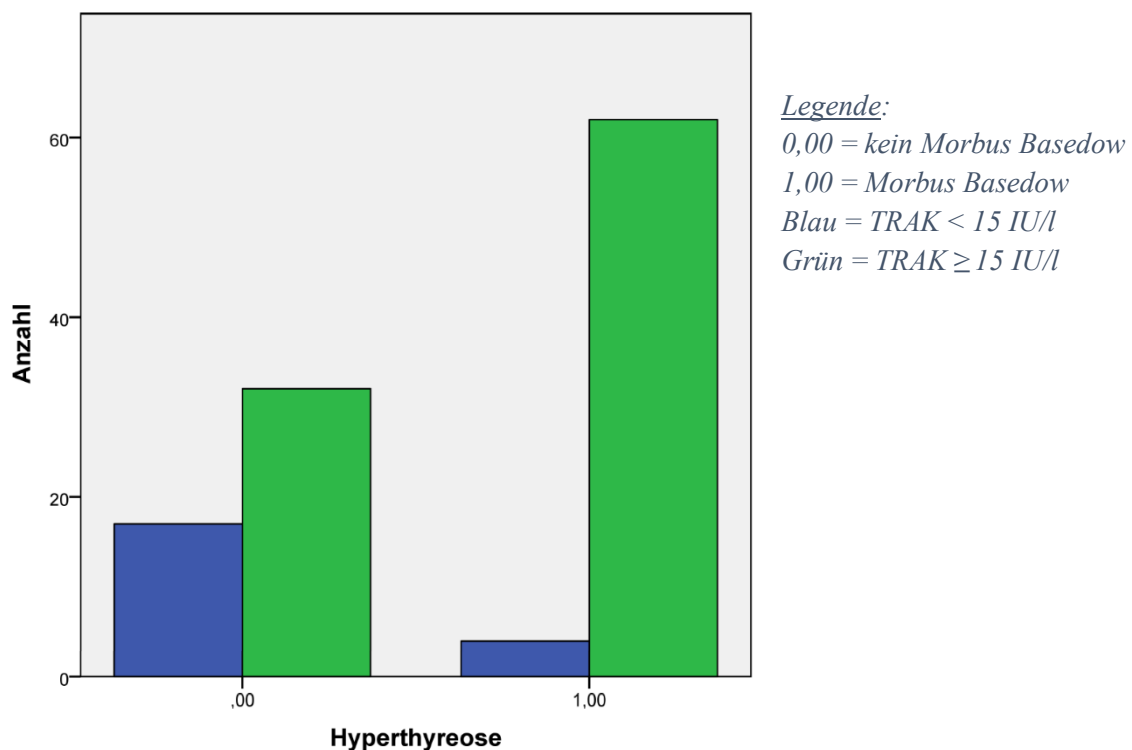


Abbildung 17 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TRAK-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 15 IU/l

Die Berechnung erbrachte einen Zusammenhang zwischen Diagnose (Morbus Basedow) und TRAK-Konzentrationen ≥ 15 IU/l ($X^2 = 15,447$, $df = 1$, $p < 0,0001$).

Die Höhe des Zusammenhangs lag bei $\Phi = 0,366$ ($p < 0,0001$).

TSI-Grenzwert 0,593 IU/l:

Gleichermaßen wurden diese Korrelationsanalysen für TSI durchgeführt. Die unten stehende Abbildung zeigt die Verteilung von Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Wert bezüglich Cut-off 0,593 IU/l.

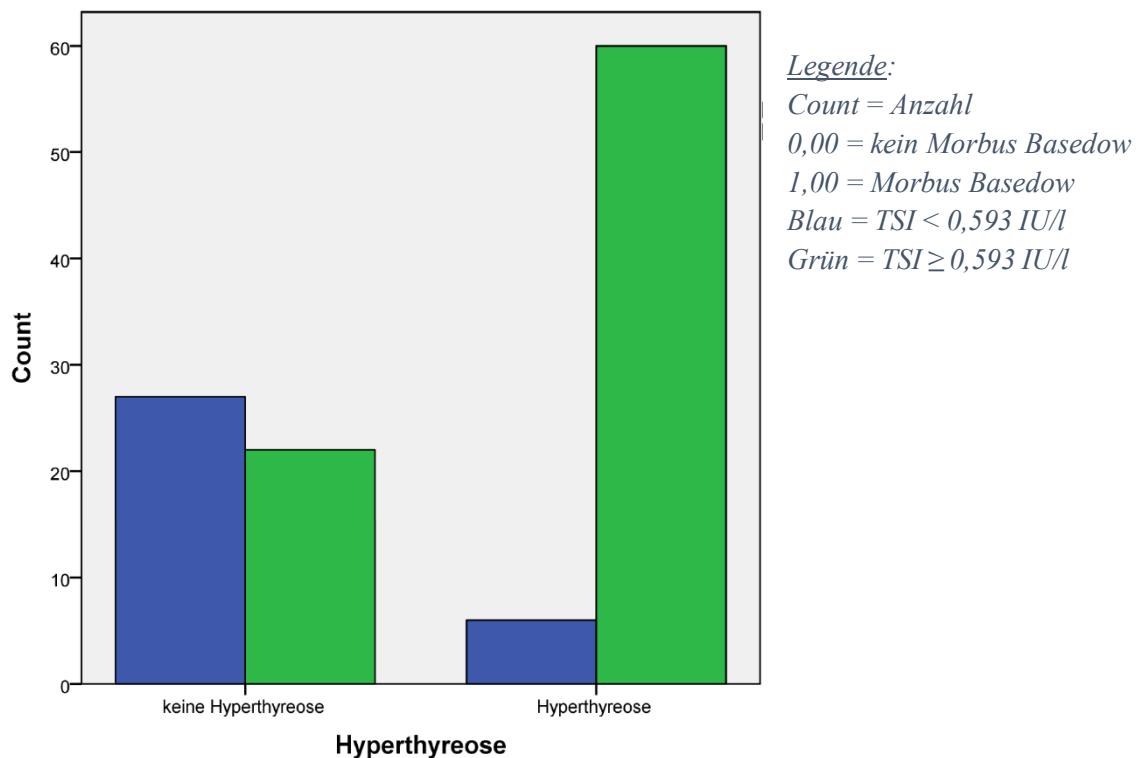


Abbildung 18 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TSI-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 0,593 IU/l

Die Chi-Quadrat-Tests erbrachten einen Zusammenhang zwischen Diagnose (Morbus Basedow) und TSI-Konzentrationen $\geq 0,593$ IU/l ($X^2 = 29,096$, $df = 1$, $p < 0,0001$).

Die Höhe des Zusammenhangs lag bei $\Phi = 0,503$ ($p < 0,0001$).

TSI-Grenzwert 1,77 IU/l:

Entsprechend wurden die Berechnungen für den zweiten TSI-Grenzwert durchgeführt. Folgende Abbildung zeigt die Verteilung von Morbus-Basedow-Diagnose und TSI-Wert bezüglich Cut-off 1,77 IU/l:

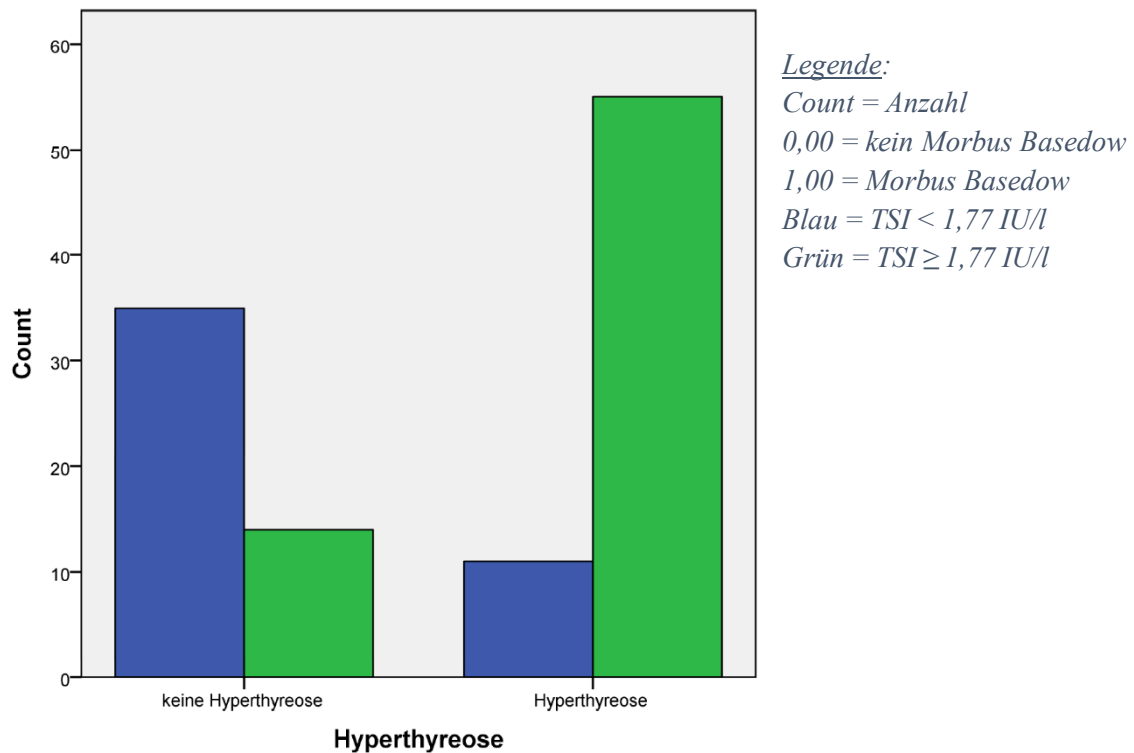


Abbildung 19 – Balkendiagramm zu den Häufigkeiten der zwei Diagnosegruppen je nach TSI-Konzentration ober- oder unterhalb des Cut-off-Werts 1,77 IU/l

Die Chi-Quadrat-Tests erbrachten einen Zusammenhang zwischen Diagnose (Morbus Basedow) und TSI-Konzentrationen $\geq 1,77$ IU/l ($X^2 = 35,139$, $df = 1$, $p < 0,0001$).

Die Höhe des Zusammenhangs lag bei $\Phi = 0,553$ ($p < 0,0001$).

Vergleich von TRAK und TSI:

Der Vergleich der AUC von TRAK und TSI (siehe auch Abbildung 16) zeigte, dass keiner der beiden Antikörper dem anderen statistisch überlegen ist ($X^2 = 3,34$, $p = 0,0676$).

4. DISKUSSION

Im Folgenden werden ausgewählte Ergebnisse in Hinblick auf die gesetzten Zielstellungen näher beleuchtet. Dies beinhaltet für Calcitonin die neu ermittelten, klinikeigenen Grenzwerte sowie Labor-analytische Faktoren, die die Messwerte beeinflussen. Im TSI-Teil werden die Wertigkeit des neuen TSI-Immunoassays evaluiert und die Grenzwertberechnungen von TRAK und TSI im Sinne der diagnostischen Relevanz für die Immunthyreopathie Typ Basedow gegeneinander abgewogen.

4.1. Calcitonin

4.1.1. Einordnung der ermittelten Parameter des Patient/innen-Kollektivs

Bei der Analyse der Daten fiel zuerst der deutliche Überhang an Männern (73,6 %) mit Calcitonin-Werten ≥ 10 pg/ml im Vergleich zu den Frauen dieses Kollektivs (26,4 %) auf. Ebenso lag der Mittelwert von Calcitonin bei den Männern mit 191,4 pg/ml höher als bei den Frauen (145,9 pg/ml). Diese Tendenz deckt sich mit der bereits in Punkt 1.1.3 erwähnten Erkenntnis, dass Männer deutlich mehr C-Zellen als Frauen besitzen und damit auch höhere Calcitonin-Werte aufweisen (14), wodurch sie einerseits vermehrt in der bei 10 pg/ml beginnenden Auswahl vorkamen und andererseits auch in der klinischen Praxis bei gleichen Grenzwerten für beide Geschlechter eher ins Raster häufiger (da auffälliger) Laborkontrollen fallen.

Trotz dieses Unterschieds bei den Calcitonin-Basalwerten sind Männer und Frauen aber etwa gleich häufig von einem MTC betroffen (19) und so war auch im Grazer Patient/innen-Kollektiv der Anteil der MTC- und MEN-Betroffenen bei den eingeschlossenen Frauen und Männern mit 13,0 % bzw. 17,2 % vergleichbar.

Auffällig war auch die große Streuung bei den statistischen Lagemaßen. Während der Mittelwert aller Patient/innen 179,4 pg/ml betrug, lag der Median bei nur 16 pg/ml. Dies erklärt sich daraus, dass einzelne Patient/innen, zum Teil mit Calcitonin-Werten jenseits von 1000 pg/ml, den Mittelwert nach oben verzerrten, während der Großteil der Personen nur moderate Erhöhungen aufwies. So lag der Mittelwert der MTC- und MEN-Patient/innen bei hohen 934,8 pg/ml, während jener der anderen Personen zusammengenommen lediglich 34,6 pg/ml betrug.

Dabei war auch festzustellen, dass alle Patient/innen mit Werten > 160 pg/ml, bei denen die

Diagnose retrospektiv von mir nachvollziehbar war, ein MTC (aktiv oder im Follow-up) bzw. MEN-Syndrom aufwiesen.

Auch in den vier Altersgruppen zeigte sich die Verteilung von MTC- bzw. MEN-Positiven und -Negativen mit einem Anteil Positiver zwischen 12,5 % und 14,3 % ähnlich – nur die Gruppe der 41- bis 56-Jährigen wies mit 22,2 % eine etwas höhere Rate auf. Die beiden mittleren Alterskategorien (insgesamt 41- bis 73-Jährige) machten zudem mit 67,8 % den Hauptteil des Kollektivs aus, wie im dargestellten Histogramm (Abbildung 5) gut zu sehen. Damit lässt sich mein Ergebnis mit dem postulierten Altersgipfel des MTC zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr vereinbaren (19). Allerdings lag der Calcitonin-Mittelwert mit 111,5 pg/ml bei dieser Gruppe deutlich unter dem Gesamtmittelwert, während er mit 293,5 pg/ml bei der nächstälteren Gruppe (57 bis 73 Jahre) deutlich über ebendiesem lag, was in erster Linie einem „Sample Bias“ entsprechen dürfte.

Bei den über 73-Jährigen lag der Calcitonin-Mittelwert nur noch bei 63,5 pg/ml, was auch für die Hypothese spräche, dass die Calcitonin-Produktion im Alter abnimmt (5). Es bleibt aber zu bedenken, dass die Stichprobe mit 14 Personen sowohl in dieser als auch in der jüngsten Gruppe sehr klein war und damit nicht unbedingt verlässliche Ergebnisse liefern konnte.

Trotz der Vielzahl an Patient/innen mit erhöhten Werten stand nur bei 16,1 % sicher die Diagnose MTC oder MEN-Syndrom fest, was die Vermutung unterstreicht, dass ein niedriger Cut-off wie z. B. 12 pg/ml eine hohe Rate an falsch-positiven Fällen kreiert, siehe Punkt 4.1.2.

4.1.2. Einordnung der neu bestimmten Grenzwerte

Die ROC-Analyse des Gesamtkollektivs erbrachte mit einem p-Wert von $< 0,0001$ ein hochsignifikantes Ergebnis. Ich entschied mich hier für den Calcitonin-Grenzwert 24,5 pg/ml, der eine Sensitivität von 92,9 % und eine Spezifität von 77,5 % aufweist. Im Vergleich zum aktuellen Grenzwert von 12 pg/ml, bei dem die Sensitivität in meiner Analyse bei 100 % und die Spezifität bei 35,2 % liegt, hat dieser neue Wert den Vorteil, bei deutlich weniger Gesunden fälschlich einen MTC-Verdacht zu stellen. Damit würden vielen Patient/innen jahrelange Calcitonin-Kontrollen erspart werden, die zum einen eine psychische Belastung durch den Karzinomverdacht für die Betroffenen darstellen und zum

anderen kumulativ einen hohen zeitlichen sowie finanziellen Aufwand für die Gesundheitsökonomie bedeuten.

Da bei einem Cut-off von 24,5 pg/ml jedoch keine hundertprozentige Sensitivität vorliegt, wäre zu überlegen, ob man bei Grenzfällen trotzdem ein zeitlich beschränktes Kontrollfenster einrichtet. So ist bei klinischem Verdacht die Durchführung eines Stimulationstests im Anschluss erwägenswert, des Weiteren könnten dann ein bis zwei Calcitonin-Kontrollen inklusive Schilddrüsenultraschall innerhalb von 12-24 Monaten erfolgen.

Nur in wenigen Publikationen wurden konkrete Zahlen zur finanziellen Belastung durch die Untersuchungen genannt. So bezifferten zum Beispiel Rosario et al. (42) anhand ihrer prospektiven Studie die „Kosten“ eines einzelnen diagnostizierten MTCs auf circa 500 Calcitonin-Messungen. Turk et al. (43) berechneten 2017 in der Türkei anhand ihrer eigenen Untersuchungen Kosten von € 912,68 durch Routine-Calcitonin-Messungen bis zur Detektion eines MTC-Falls, was noch niedrig war bezogen auf die von ihnen verglichenen internationalen Studien: € 3.710,-- in einer französischen, € 7.200,-- in einer britischen Studie und \$ 4.000-20.000,-- in amerikanischen Untersuchungen, wobei die Preise für einen einzelnen Calcitonin-Test je nach Land zwischen € 5,-- und € 37,-- schwankten. Ausführliche Berechnungen zur Kosten-Nutzen-Relation wurden 2008 von Cheung et al. (44) in den USA angestellt: Sie errechneten unter anderem Kosten von \$ 11.793,-- (circa € 10.050,--) pro gerettetem Lebensjahr durch Routine-Calcitonin-Screenings bei der Evaluierung von Schilddrüsenknoten, wobei jeder MTC-Betroffene 1,4 Lebensjahre dazugewinnen würde. Außerdem gaben sie eine höhere Kosteneffizienz beim Screening von Männern, jungen Patient/innen und von großen Schilddrüsenknoten als bei Frauen, Älteren und kleinen Knoten an.

Der volkswirtschaftliche Aufwand unnötig häufiger Calcitonin-Messungen ist demnach nicht zu unterschätzen.

Auch was geschlechterspezifische Referenzbereiche betrifft, erhielt ich mit $p = 0,028$ bei den Frauen und $p < 0,0001$ bei den Männern signifikante Ergebnisse. Hier zeigt sich eine große Diskrepanz bezüglich potentieller Cut-offs zur Detektion von MTCs. Denn bei den Männern liegt er mit 23,5 pg/ml bei einer Sensitivität von 90,9 % und einer Spezifität von 82,4 % ähnlich wie für das Gesamtkollektiv, während er bei den Frauen mit 73,0 pg/ml bei einer optimalen Sensitivität von 100,0 % und einer Spezifität von 80,0 % erheblich höher liegt. Es ist dabei zu betonen, dass die Korrelationsanalyse mit diesen Werten einen hoch

signifikanten Zusammenhang erbrachte.

Dies unterstreicht, dass geschlechtergetrennte Cut-offs lohnenswert sind – in unserer Studie insbesondere, um die Rate falsch-positiver Frauen zu reduzieren. Denn selbst mit den so gesetzten Grenzwerten beträgt der positive Vorhersagewert (PPV) noch immer niedrige 50,0 %, während der negative Vorhersagewert (NPV) hohe 98,3 % aufweist, was bedeutet, dass trotz Erhöhung der Calcitonin-Grenzwerte kaum Falsch-Negative durch das Kontrollraster fallen und so einer richtigen MTC-Diagnose entgehen könnten.

Costante et al. (45) zogen in ihrer Studie an 5817 Non-MEN-Patient/innen mit Schilddrüsenknoten ebenfalls die PPVs als Maßzahl der Genauigkeit von Calcitonin-Messungen heran. In ihrem Kollektiv wurden bei allen Personen mit basalen Konzentrationen von > 100 pg/ml MTCs diagnostiziert, einem PPV von 100 % entsprechend, und daher mit einer klaren OP-Empfehlung verbunden. Bei der Gruppe mit Werten zwischen 50 und 100 pg/ml betrug der PPV 25 % und bei jener mit Konzentrationen von 20 bis 50 pg/ml nur noch 8,3 %. Wurde zur Differenzierung nachfolgend ein Pentagastrin-Stimulationstest durchgeführt, stieg der PPV immerhin auf 40 %. Das heißt, auch diese Arbeitsgruppe zeigte, dass mit niedrigen Grenzwerten im Sinne einer verbesserten Sensitivität eine erhöhte Rate falsch-positiver Resultate in Kauf genommen wird – weshalb hierbei eine OP-Indikation erst recht mit Bedacht gestellt werden muss – und damit auch eine reduzierte Kosteneffizienz einhergeht. Deswegen tendiert man dazu, den PPV durch eine hohe Spezifität zu verbessern, was durch Beschränkung des Screening-Prozesses auf eine kleinere Risikopopulation mit höheren basalen Calcitonin-Konzentrationen möglich ist (45), wie auch wir an der Universitätsklinik es mit den neuen höheren Cut-offs anstreben.

Allerdings fällt bei meinen geschlechterspezifischen Cut-offs auf, dass sie sich nicht gleichsinnig zu den von anderen Forschungsgruppen veröffentlichten verhalten. So beschrieben Rosario et al. (42) 2016 in ihrer Arbeit in Brasilien, dass sie mit einem Cut-off von circa 30 pg/ml für Frauen und 60 pg/ml für Männer alle MTC-Fälle ihres 1023 Personen fassenden Studienkollektivs diagnostizieren konnten, ohne einen falsch-positiven Fall zu erhalten. Dies ist auch vereinbar mit der beschriebenen Annahme, dass Männer aufgrund ihrer größeren C-Zell-Zahl höhere basale Calcitonin-Werte ohne Krankheitswert haben (14), sodass man bei ihnen den Cut-off höher ansetzen könnte. Ebenso spricht die American Thyroid Association (ATA) in ihren Guidelines von 2015 (18), auf die auch die Europäische Gesellschaft für Endokrinologie (ESE) verweist, von höheren Referenzbereichen bei Männern. Sie geben darin aber keine konkreten Werte vor, sondern empfehlen jedem Labor

die individuelle Bestimmung von Referenzwerten für ihre Patient/innen – ein Anlass für die vorliegende Diplomarbeit.

Meine inversen Ergebnisse dürften sich nicht allein durch regionale Unterschiede erklären lassen, sondern sind wohl vornehmlich eine Frage der Fallzahl. Auch die im Kollektiv in großer Zahl vorkommenden weiteren Erkrankungen oder Begleitfaktoren, die mit moderaten Calcitonin-Erhöhungen einhergehen, könnten zu einer Verschiebung des Frauen-Cut-offs nach oben geführt haben, da es sonst zu zahlreichen falsch-positiven Fällen gekommen wäre und sich die Spezifität verschlechtert hätte.

Was altersspezifische Grenzwerte angeht, so erhielt ich aufgrund der Fallzahl nur bei den beiden mittleren Alterskategorien signifikante Ergebnisse. Zwar sind die Sensitivitäten (jeweils 100,0 %) und Spezifitäten (90,0 % bzw. 81,5 %) sowohl für den Grenzwert 71,0 pg/ml der 41- bis 56-Jährigen als auch für die 24,5 pg/ml der 57- bis 73-Jährigen sehr hoch, jedoch ist momentan eine Auftrennung der Cut-offs je nach Alter nicht sinnvoll und wäre etwas willkürlich, solange sie nicht mit einer hinreichend großen Fallzahl für alle Alterskategorien erneut bestimmt werden.

Dabei ist anzumerken, dass eine solche Auftrennung generell (noch) nicht üblich ist und auch die ATA keinerlei Empfehlungen diesbezüglich ausgibt. Sie weist nur darauf hin, dass Kleinkinder im Alter unter drei Jahren, insbesondere unter sechs Monaten, höhere Calcitonin-Konzentrationen ohne pathologische Bedeutung aufweisen können (18). Deshalb wurde die einzelne minderjährige (achtjährige) Person im Grazer Kollektiv auch für die statistische Auswertung nicht ausgeschlossen, da hiervon keine Verzerrung zu erwarten war.

4.1.3. Herausforderungen eines Laborwerts

Wie bei den meisten Labormessungen spielt auch beim Calcitonin die Präanalytik eine Hauptrolle für die Ergebnisqualität. Bezüglich Calcitonin ist besonders die Lagerungszeit und -temperatur wegen der geringen Stabilität bei einer Halbwertszeit von nur circa 10 Minuten von Bedeutung (6).

Mich beschäftigte aufgrund unserer Patientin aus dem vorgestellten Fallbericht jedoch noch zusätzlich die Möglichkeit von heterophilen Antikörpern, die zu falschen Werten bei der Calcitonin-Messung führen können. Denn bei ihr hatte die mehrfache Messung von stark erhöhten Calcitonin-Konzentrationen über 1000 pg/ml im Rahmen der Abklärung eines

Schilddrüsenknotens schließlich zu einer Hemithyreoidektomie geführt, die wegen des vorhandenen solitären Knotens zwar denkbar, aber in dieser Form nicht unbedingt erforderlich gewesen wäre. Hinzu kam die nicht zu unterschätzende psychische Belastung durch die Angst vor einem Karzinom und um die Fortdauer ihrer damals bestehenden Schwangerschaft.

Das Forschungsteam und ich vermuteten als Ursache das Vorhandensein besagter heterophiler Antikörper, die in der Calcitonin-relevanten Literatur häufiger benannt werden und in der Regel falsch-hohe (und nur sehr selten falsch-niedrige) Konzentrationen in den Labortests vortäuschen (18). Dies ist dadurch bedingt, dass diese humanen Antikörper tierische Immunglobuline binden können und so in Immunoassays zu Interferenzerscheinungen führen, indem sie in „Sandwich“-Typ-Assays an Stelle von Calcitonin eine Brücke zwischen dem Bindungs- und dem Signalantikörper ausbilden. Sie werden nach Exposition gegenüber tierischen Immunglobulinen gebildet, z. B. natürlich durch Tierkontakt, durch Antigene aus der Nahrung oder iatrogen durch Pharmazeutika oder Impfungen mit Bestandteilen tierischer Herkunft, und können mehrere Monate im Blut persistieren (10). Das Problem in Labortests betrifft neben Calcitonin auch andere Tumormarker, darunter hCG, PSA, CA-125 und CEA (46).

Auch Censi et al. veröffentlichten 2016 hierzu einen Fallbericht (10). Bei ihrem 15-jährigen Patienten hatten heterophile Antikörper mit dem Immunoassay interagiert und so zu Calcitonin-Werten von bis zu 73,9 pg/ml geführt. Daraufhin verwendete das Labor ein „heterophilic blocking tube“ (HBT) zur Vorbehandlung der Proben – ein Spezialröhrchen mit Beschichtung zur Bindung heterophiler Antikörper – und führte damit erneut ein Immunoassay durch – mit dem Ergebnis eines normalen Calcitonin-Wertes von < 1 pg/ml. Die Moleküle des HBT haben eine hohe Bindungsaffinität zu humanen Anti-Tier-Antikörpern und inaktivieren daher die heterophilen Antikörper (10). Damit konnten die Hersteller das Auftreten von heterophilen Interferenzen, wie sie in 2-5 % der unblockierten Assays vorkommen, bereits senken, aber noch nicht komplett eliminieren (46). Dieses Verfahren ist trotzdem wirkungsvoller als die von einigen Herstellern vertriebenen Kits mit unspezifischen blockierenden Reagenzien in Form von kleinen Mengen tierischer Seren/Immunglobuline derselben Spezies wie der Test-Antikörper (häufig Maus oder Ziege). Deswegen kommen üblicherweise bereits HBTs zum Einsatz, wenn heterophile Antikörper vermutet werden (10).

Papapetrou et al. (1) untersuchten 2006 anhand von vier Patient/innen mit Hashimoto-Immuntyreopathie bzw. mit Struma multinodosa, die erhöhte Calcitonin-Werte aufgrund

von heterophilen Antikörpern aufwiesen, wie sich diese diagnostisch beseitigen ließen, sodass es nicht erneut zu einem fälschlichen MTC-Verdacht käme. Sie empfehlen anhand ihrer Ergebnisse, dann misstrauisch bei (moderat) erhöhten Calcitonin-Konzentrationen in Hinblick auf heterophile Antikörper zu werden, wenn erstens im Calcium- oder Pentagastrin-Stimulationstest kein signifikanter Anstieg des Serum-Calcitonins trotz eines hohen Basalwerts erfolgt, es sich zweitens um Patient/innen mit Autoimmun-Thyreoiditis handelt – da bei Autoimmunerkrankungen die Wahrscheinlichkeit zirkulierender heterophiler Antikörper erhöht sei – oder drittens plötzliche, unerwartete Änderungen des Serum-Calcitonins in Verlaufskontrollen auftreten. Alle diese Umstände waren bei unserer Patientin jedoch nicht gegeben, zumal die Zuweisung mit vorhandenen hohen Calcitonin-Werten von auswärts erfolgte.

Bei Verdacht auf eine solche Interferenzerscheinung können ergänzend zum Stimulationstest, der die erste Wahl darstellt, auch Verdünnungsreihen angefertigt werden, die im Falle von heterophilen Antikörpern meist keine Linearität der Antigenkonzentrationen aufweisen (10). Eine weitere indirekte Nachweismethode ist die erneute Konzentrationsbestimmung mit einem anderen Testkit, welches ein anderes Paar Antikörper verwendet, gegen das die heterophilen Antikörper normalerweise nicht ebenfalls gerichtet sein sollten. Am Universitätsklinikum Graz werden hohe oder auffällige Werte nunmehr mittels Calcitonin-RIA nachgemessen.

Trotz des für unsere Patientin schlussendlich relativ glimpflichen Ausgangs zeigt der Fall die Grenzen von Labormessungen auf und dass auch bei jahrelanger Erfahrung Laborwerte allein nicht immer die absolute Verlässlichkeit liefern, mit der sie üblicherweise im klinischen Alltag gehandhabt werden. Es ist daher essentiell, auch bei Calcitonin die Messergebnisse immer im Kontext mit dem klinischen Bild, der Anamnese und weiteren Befunden zu sehen und bei Unstimmigkeiten neben sekundären Ursachen der Calcitonin-Erhöhung auch an die Möglichkeit von Labor-analytischen Interferenzen zu denken, bevor die Patient/innen den Risiken und Kosten zusätzlicher Tests oder Eingriffe ausgesetzt werden.

4.1.4. Stärken und Limitationen der Studie

Die Studie lieferte einen umfassenden Überblick über die Qualität und Quantität der Calcitonin-Datenerhebung am Universitätsklinikum Graz der letzten Jahre. Damit war es möglich, statistisch signifikante Ergebnisse bezüglich klinikspezifischer Grenzwerte zu erhalten, die zukünftig im klinischen Alltag Beachtung finden können. In diesem Kontext ist zusätzlich von Wert, dass durch diese Arbeit ein detaillierter Einblick in mögliche endogene wie auch (prä)analytische Einflussfaktoren auf Calcitonin-Messwerte zur Verfügung gestellt wird, sodass Kliniker/innen eine kritischere Einordnung erhöhter Messwerte und damit auch eine Reduktion der Häufigkeit von Calcitonin-Messungen ermöglicht werden.

Allerdings ist die Anwendung meiner statistischen Berechnungen nicht uneingeschränkt und universal zu empfehlen – in erster Linie aus dem Grund, dass ein großer Teil der Patient/innen mit unbekannter Schilddrüsendiagnose als „gesund“ im Sinne keiner vorliegenden MTC- bzw. MEN-Diagnose klassifiziert werden musste, was unter Umständen zu verzerrten Cut-offs geführt haben könnte. Dies lag daran, dass es in vielen Fällen unmöglich war, retrospektiv bei Patient/innen mit hausinterner Calcitonin-Messung weitere Informationen zu erheben: einerseits die Frage betreffend, warum diese Messung bei ihnen (oft von extern) angefordert worden war und andererseits wegen des Fehlens von Arztbriefen (mit Anamnesen bezüglich Nebendiagnosen, Medikation und Lebensstilfaktoren) und von weiteren Befunden in der Klinikdatenbank.

Eine weitere Limitation ergibt sich aus der recht kleinen Fallzahl, vor allem die eingeschlossenen Frauen betreffend, was vermutlich ein Grund für den vergleichsweise hohen berechneten Cut-off bei ihnen ist. Selbiges gilt für gewisse Altersgruppen, in denen nur wenige Patient/innen verfügbar waren.

Ferner ist hier der Umstand zu nennen, dass nur Personen ab einer Calcitonin-Konzentration von 10 pg/ml überhaupt in die Betrachtungen einfließen, was aber eher bei Populationsmittelwerten und -medianen als bei den Grenzwerten eine Rolle spielen dürfte.

Eine weitere Schwierigkeit bestand in der Literaturrecherche, bei der auffiel, dass Forscher/innen häufig Informationen aus anderen Calcitonin-Publikationen übernommen hatten, statt eigene Untersuchungen anzustellen. Dies erschwerte insbesondere die Recherche bezüglich Ursachen und pathophysiologischen Zusammenhängen von MTC-unabhängigen Calcitonin-Erhöhungen. Hierzu wären weitere Studien wünschenswert.

4.2. TSI

4.2.1. Einordnung der ermittelten Parameter des Patient/innen-Kollektivs

Im Gegensatz zum Calcitonin-Teil fiel hier die deutlich größere Anzahl weiblicher Personen (81,7 %) im Kollektiv auf, bei denen TRAK und TSI bestimmt worden waren. Dies war auch so zu erwarten, da Frauen circa fünfmal so häufig wie Männer von einer Immunhyperthyreose betroffen sind (39). Eine Bevorzugung des weiblichen Geschlechts findet sich bekanntlich bei zahlreichen Autoimmunerkrankungen.

Zwei Drittel der Fälle manifestieren sich nach dem 35. Lebensjahr (19) und passend dazu lag auch im Grazer Patient/innen-Kollektiv der Altersschnitt bei 42,56 Jahren. Um die Fallzahl maximal zu halten und die Berechnung des Altersschnitts (potentiell) Morbus-Basedow-Betroffener nicht zu verzerren, waren die 15 minderjährigen Patient/innen nicht ausgeschlossen worden.

Der Mittelwert von TRAK lag in allen Betrachtungen deutlich höher als der entsprechende von TSI, da letztere ja im Prinzip eine Teilmenge von TRAK darstellen. Bei den weiblichen Personen lag der TRAK-Mittelwert mit 137,0 IU/l im Vergleich zu 117,0 IU/l der männlichen Personen etwas höher, während sich die TSI-Mittelwerte mit 7,0 bzw. 7,2 IU/l sehr ähnlich verhielten. Ersteres ist wohl eher als Schwankung aufgrund der geringen männlichen Fallzahl (n = 21) zu interpretieren.

Obwohl TRAK und TSI vornehmlich bei Personen mit zumindest Verdacht auf Immunhyperthyreose gemessen werden und folglich auch 81,7 % der Patient/innen TRAK-Werte oberhalb des üblichen Cut-offs von 15 IU/l aufwiesen, war nur bei 57,4 % aller Patient/innen die Diagnose Morbus Basedow eruierbar. Dies warf bereits die Vermutung auf, dass dieser Cut-off wenig spezifisch ist.

Bei den Immunhyperthyreose-Patient/innen war eine gewisse Diskrepanz zwischen den Mittelwerten und den Medianen sichtbar: Hier standen Mittelwerte von 175,1 IU/l (TRAK) bzw. 10,2 IU/l (TSI) Medianen von 97,7 IU/l bzw. 5,66 IU/l gegenüber. Das bedeutet, dass einzelne Patient/innen mit sehr hohen Konzentrationen im Bereich der oberen Nachweisgrenze (= 600 IU/l bei TRAK) die Mittelwerte nach oben verschoben haben, was besonders bei TRAK der Fall war, während die Spannweite der TSI-Werte bei einer oberen Nachweisgrenze von 40 IU/l generell niedriger ausfällt.

4.2.2. Vergleich der diagnostischen Wertigkeit von TRAK und TSI

4.2.2.1. **Betrachtung der TRAK-Ergebnisse**

Die Auswertung der TRAK-ROC-Kurve demonstrierte in Hinblick auf den aktuell gebräuchlichen TRAK-Grenzwert von 15 IU/l, dass damit zwar eine sehr gute Sensitivität (93,9 %), aber nur eine mäßige Spezifität (34,7 %) zu erreichen ist. Es war zwar keine explizite Zielstellung dieser Arbeit, aber dennoch wäre anhand dieser Ergebnisse denkbar, den Cut-off zum Beispiel auf 25 IU/l zu setzen, wobei die Sensitivität mit 89,4 % noch immer gut wäre und die Spezifität immerhin auf 59,2 % gesteigert werden könnte. Allerdings sollte man nicht vergessen, dass es sich bei TRAK auch um einen Screeningparameter handelt, bei welchem bei Werten in diesem niedrigen Bereich selten ein aktuelles Leiden mit akutem Handlungsbedarf vorliegt, sodass ein falsch-positives Ergebnis hier vertretbarer ist als beispielsweise beim vorgestellten Tumormarker Calcitonin. Aufgrund des oft schleichenden Beginns von Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse (vor allem bei der Immunthyreopathie Typ Hashimoto) ist daher ein niedriger Cut-off, der unter Umständen zu kontinuierlichen Nachkontrollen führt, nicht unbedingt als unnötige Belastung von Patient/in und Gesundheitssystem zu sehen – zumal die Kosteneffizienz durch frühzeitigen Einsatz der TRAK-/TSI-Diagnostik schon in mehreren Untersuchungen geprüft wurde (47,48).

Alle weiteren Betrachtungen wurden für den Vergleich der diagnostischen Wertigkeit gegenüber TSI mit dem alten Cut-off durchgeführt, siehe auch Punkt 4.2.2.3. Bei der geschlechtergetrennten Auswertung fiel als Hauptunterschied auf, dass der NPV bei den Männern (wie auch die Sensitivität) 100 % betrug, während er bei den Frauen nur bei 76,5 % lag. Das heißt, mit dem Grenzwert von 15 IU/l wurde kein betroffener Mann nicht als solcher erkannt, während circa ein Viertel der Frauen falsch-negativ eingeordnet wurde. Jedoch war die Fallzahl der Männer ($n = 21$) hier im Gegensatz zu derer der Frauen ($n = 94$) so klein, dass sich schwer verlässliche Ableitungen generieren lassen. Bei beiden Geschlechtern wurden zahlreiche gesunde Personen als krank klassifiziert, sodass sich nur ein mäßig guter PPV ergab (Frauen 67,5 %, Männer 58,8 %).

4.2.2.2. **Betrachtung der TSI-Ergebnisse**

Anhand der TSI-ROC-Kurve wählte ich zwei potentielle Cut-offs für die weitere Untersuchung aus: 0,593 IU/l mit einer sehr guten Sensitivität von 90,9 % bei einer Spezifität von 55,1 % und 1,77 IU/l mit einer guten Sensitivität von 83,3 % bei einer höheren Spezifität von 71,4 %.

Bei den geschlechtergetrennten Analysen zeigte sich wieder das erwähnte Fallzahlproblem bezüglich der männlichen Probanden. Wie schon bei TRAK lag der NPV dadurch bei den Männern sehr hoch – 100 % für 0,593 IU/l und 90 % für 1,77 IU/l – während er bei den Frauen 78,6 % bzw. 72,2 % betrug. Demnach entgehen mit dem ersten Cut-off etwas weniger Patient/innen als falsch-negativ einer korrekten Morbus-Basedow-Diagnose. Beachtlich ist dennoch, dass es selbst bei dem sehr niedrigen ersten Grenzwert überhaupt Personen (respektive Frauen) gibt, die trotz Vorliegens noch niedrigerer TSI-Konzentrationen an einer Immunhyperthyreose erkrankt sind. Dies spricht dafür, dass TSI bei einigen Personen ein sehr sensitiver Parameter sein könnte.

Die PPVs lagen sowohl im Vergleich der Geschlechter als auch der beiden Grenzwerte deutlich näher beieinander, allerdings ist zu erkennen, dass sie jeweils für Frauen und Männer beim Grenzwert 1,77 IU/l (79,3 % bzw. 81,8 %) höher und damit besser waren als für den niedrigeren Grenzwert (75,8 % bzw. 62,5 %). Das bedeutet, dass mit dem höheren Cut-off weniger falsch-positive Fälle auftreten – wie es auch zu erwarten ist.

Für ein weiteres Abwägen, welcher der beiden Grenzwerte vorzuziehen ist, lohnt auch ein Blick auf die Youden-Indizes. Diese sind für den Wert 1,77 IU/l sowohl für das Gesamtkollektiv (0,563) als auch separat für Frauen (0,506) und Männer (0,718) höher als für den Cut-off 0,593 IU/l (0,460 bzw. 0,472 bzw. 0,455). Aus statistischer Sicht wäre also 1,77 IU/l als Cut-off zur Unterscheidung Gesunder und Kranker effektiver. Dennoch ist natürlich zu überlegen, ob man den damit verbundenen Sensitivitätsverlust in Kauf nehmen möchte, solange sich die TSI-Messung auch zum Screening eignen soll. Soll TSI vornehmlich als Aktivitätsparameter bei bereits diagnostizierten Immunhyperthyreose-Erkrankungen zur Anwendung kommen, ließe sich wiederum mit dem höheren Cut-off argumentieren. Für die Eignung zu diesem Zweck bräuchte es jedoch noch genauere Untersuchungen.

Interessant ist an dieser Stelle der Vergleich mit den bereits publizierten Daten des Immulite®-Testherstellers. Dieser gab nach einer Untersuchung der Serumproben von 236 Basedow-Patient/innen, 138 Patient/innen mit anderen Autoimmunerkrankungen und 200 Gesunden für einen Cut-off-Wert von 0,55 IU/l, also sehr ähnlich dem ersten in der vorliegenden Arbeit definierten, eine außerordentlich hohe klinische Sensitivität und Spezifität von 98,3 % bzw. 99,7 % an (36) – herausragende Werte, die sich bei der retrospektiven Auswertung unserer Patient/innen nicht erzielen ließen.

4.2.2.3. Gegenüberstellung von TRAK und TSI

Die Korrelationsanalysen von Diagnose und Antikörper-Messwert erbrachten sowohl für den TRAK-Grenzwert 15 IU/l als auch für die beiden beschriebenen TSI-Grenzwerte hochsignifikante Ergebnisse ($p < 0,0001$). Allerdings war die Stärke des Zusammenhangs bei TSI mit $\Phi = 0,503$ (für 0,593 IU/l) bzw. $\Phi = 0,553$ (für 1,77 IU/l) höher als bei TRAK mit $\Phi = 0,366$, was eine diagnostische Überlegenheit von TSI nahelegen würde.

Der rechnerische Vergleich der AUCs von TRAK und TSI zeigte jedoch, dass dies nicht der Fall ist und keiner der Antikörper dem anderen statistisch überlegen ist ($X^2 = 3,34$, $p = 0,0676$). Dies lässt sich auch anhand der parallelen Darstellung der beiden ROC-Kurven in Abbildung 16 ablesen: Die rote TSI-Kurve verläuft in weiten Teilen links und oberhalb von der blauen TRAK-Kurve, aber im mittleren Bereich kommt es zu Überschneidungen, das heißt, TSI bietet nicht in allen Fällen einen Vorteil gegenüber TRAK. Gäbe es keine solche Überschneidung, würde die Vergleichsrechnung ein statistisch signifikantes Ergebnis liefern und TSI wäre eindeutig zu bevorzugen.

Tozzoli et al. (31) untersuchten 2016 in einer Studie an 383 Personen (mit Morbus Basedow, anderen Autoimmunerkrankungen bzw. Gesunden) ebenfalls den Immulite[®]-Assay auf seinen diagnostischen Wert im Vergleich zu zwei herkömmlichen TRAK-Immunoassays. Dabei ermittelten sie einen Cut-off von 0,54 IU/l mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 98,7 %, also vergleichbar mit den in Punkt 4.2.2.2 genannten Herstellerwerten, bei einem Median der unbehandelten Basedow-Patient/innen von 7,12 IU/l. Damit erhielten sie hierfür etwas akkuratere Ergebnisse als für die verglichenen TRAK-Assays. Sie gaben zu bedenken, dass ein geringer Anteil positiver Ergebnisse bei Patient/innen mit anderen Autoimmunerkrankungen dadurch zustande gekommen sein könnte, dass der Immulite[®] 2000 TSI auch in gewissem Maße blockierende TRAK messe, wie sie zum Beispiel bei autoimmun-bedingter Thyreoiditis oder systemischem Lupus erythematodes (SLE) vorkommen können. Demgegenüber konnten sie mit ihren Tests auch nicht ausschließen, ob nicht bei diesen Erkrankungen ebenso stimulierende TRAK, also TSI, vorliegen (31). Denn der Immulite[®]-Assay ist nur in der Lage, die Antikörperkonzentration über die Bindung an die (eigentlich TSI-spezifische) Bindungsstelle des chimären TSH-Rezeptors zu messen und nicht über die stimulierende Aktivität per cAMP-Produktion, wie es in anderen (experimentellen) TSI-Bioassays der Fall ist, zum Beispiel beschrieben bei Lytton et al. (49) und Pierce et al. (27).

Auch Villalta et al. (32) führten 2017 eine Studie an 439 Patient/innen zum Vergleich der diagnostischen Genauigkeit dreier TRAK-Immunoassays durch. Das Kollektiv setzte sich aus behandelten und unbehandelten Basedow-Patient/innen, Personen mit anderen benignen Schilddrüsenerkrankungen (u. a. Hashimoto-Thyreoiditis, Struma multinodosa) und nicht-thyreoidalen Autoimmunerkrankungen sowie gesunden Kontrollen zusammen. Sie prüften mit der Studie einen neuen automatischen Fluoreszenzenzym-Immunoassay der dritten Generation (ELiA[®] anti-TSH-R Assay) im Vergleich zu einem bewährten TRAK-RIA und dem Immulite[®]-TSI-Assay. Dabei ermittelten sie für den neuen Immunoassay eine Sensitivität und Spezifität von 94,7 % und 99,6 %, während sie für den Immulite[®]-Assay eine optimale Sensitivität von 100 % und eine etwas geringere, aber dennoch sehr hohe Spezifität von 98,2 % erhielten. Der zugehörige Cut-off ist leider nur für den ELiA[®] genannt (3,8 IU/l).

Interessant zu erwähnen ist an dieser Stelle, dass auch sie mit dem Immulite[®] einen positiven SLE-Fall und drei positive Hashimoto-Fälle erhielten, was wiederum bedeutet, dass bei diesen Autoimmunerkrankungen auch TSI vorliegen bzw. es sich um TRAK allgemein handelt, die durch einen Fehler im Analyseverfahren als TSI erkannt wurden. Nichtsdestotrotz werteten sie den Immulite[®]-Assay sowie den getesteten TRAK-RIA als tendenziell überlegen und verlässlicher im Vergleich mit dem neuen ELiA[®]-Assay.

Allgemeingültige Guidelines, die Empfehlungen zu konkreten TRAK- oder TSI-Assays bzw. zu Cut-off-Werten geben, existieren derzeit nicht. Die American Thyroid Association (ATA) erwähnt in ihren Guidelines von 2016 zu Diagnose und Management der Hyperthyreose (48) nur einige Fälle, in denen sie die Messung von TRAK oder TSI empfehlen. Dazu gehören die Diagnostik der Hyperthyreose in klinisch unklaren Fällen, inklusive der EO bei euthyreoten Patient/innen, außerdem bei Schwangeren mit behandeltem oder neu diagnostiziertem Morbus Basedow (wegen einer möglichen neonatalen Schilddrüsendysfunktion) und zur Überwachung einer thyreostatischen Therapie. Hierbei ist allerdings anzumerken, dass die Anwendung von TRAK und TSI in Amerika generell restriktiver ist als in Europa, wo zumindest TRAK zur Routinediagnostik gehört und nicht Spezialfällen vorbehalten ist.

4.2.3. Exkurs zum Fallbericht

Bei der jungen Patientin mit Morbus Basedow und endokriner Orbitopathie aus dem beschriebenen Fallbericht (Punkt 1.2.1) war sehr eindrücklich der Abfall ihrer TRAK-Werte nach Beginn der Therapie mit Cortison (Abbildung 3), begleitet von einer sukzessiven Besserung ihrer (Augen-)Symptome, zu sehen. Unmittelbar vor Therapiebeginn im Februar 2018 war leider nicht erneut TRAK gemessen worden, weshalb der Abfall des Graphen in der Abbildung (scheinbar) bereits früher einsetzt.

Zwar konnte bei der Patientin TSI nicht mehr gleichzeitig mitbestimmt werden, jedoch ist anhand der Untersuchungen zu TSI davon auszugehen, dass sich der Verlauf dieser gleichermaßen verhalten hätte (siehe unten).

Mehrere Studien haben sich der Wirkung von Glucocorticoiden auf die endokrine Orbitopathie (EO) gewidmet und dabei festgestellt, dass sie unter anderem die Synthese und Sekretion von Glykosaminoglykanen durch orbitale Fibroblasten mindern sowie die Zytokin- und Antikörpersekretion inhibieren (50). Der Verlauf unserer Patientin demonstrierte dementsprechend, dass die medikamentöse Immunsuppression auch die autoimmune Aktivität bezüglich der Antikörperproduktion unterdrückt und damit TRAK ein Maß für das Therapieansprechen darstellt.

Letzteres inkludiert auch die Symptomschwere bzw. den Verlauf der endokrinen Orbitopathie, was von Lytton et al. (49) 2010 unter Nutzung eines TSI-Bioassays untersucht wurde. Sie stellten eine starke Korrelation von TSI-Werten und Aktivität sowie Schwere der EO fest, welche ebenso wie die Sensitivität und Spezifität höher war als bei den simultan gemessenen TRAK-Werten. Die Serum-TSI-Titer waren bei den EO-Patient/innen außerdem dreimal höher als bei den Patient/innen, die nur an Morbus Basedow ohne EO litten, mit den höchsten Titern bei Personen mit Diplopie, d. h. schweren Ausprägungen der EO. Bemerkenswerterweise hatten in ihrem Setting alle TSI-positiven/TRAK-negativen Patient/innen eine EO und waren hyperthyreot, während alle TRAK-positiven/TSI-negativen Personen einzig einen Morbus Basedow (ohne extrathyreoidale Manifestationen) aufwiesen und euthyreot waren. Das bedeutet, dass TSI einen besonders sensitiven Parameter für die Evaluierung der EO darstellt. Zu diesem Schluss kamen auch Woo et al. (51) in ihrer Studie von 2015 zu TSI-Levels und der Symptomschwere im chronisch-inaktiven Stadium der EO. Sie wiesen eine signifikante Korrelation von TSI-Spiegel (gemessen mit einem Bioassay) und NOSPECS-Score nach – einer siebenteiligen, nach Ausprägungsgrad aufsteigenden Klassifikation der EO-Symptome – und das selbst noch im untersuchten inaktiven Stadium.

Die sehr niedrigen TSI-Werte bei einigen reinen Basedow-Patient/innen ohne EO lassen sich aus der vorausgegangenen langjährigen thyreostatischen Therapie ableiten (49). Dieser Zusammenhang des Rückgangs der Antikörpertiter nach Therapie wird von vielen Forschern und Forscherinnen beschrieben, unter anderem von Kamath et al. in ihrem Review von 2012 (28). Darin deklarieren sie als Ursache für die Wirkung der thyreostatischen Medikation ihre immunmodulatorischen Effekte und für die Wirkung der Schilddrüsenchirurgie das Entfernen des Antigens (TSH-Rezeptoren) als Auslöser der TRAK-Produktion.

Auch die erwähnten Villalta et al. (32, siehe oben) beschrieben dies, weshalb auch sie TRAK/TSI als sinnvolles Mittel zur Kontrolle der Krankheitsaktivität und der Behandlungserfolge beim Morbus Basedow bestätigen. Lediglich die Prognose zu Remission und Rezidiven ist damit nach wie vor schwierig und erbrachte bisher in Studien widersprüchliche, d. h. bis dato nicht anwendbare, Ergebnisse (28). Dabei könnte ein verlässlicher prognostischer Marker Patient/innen ggf. langwierige medikamentöse Therapien ersparen, indem angebrachte definitive Therapien, also Operation oder Radiojodtherapie, zeitlich vorgezogen würden.

4.2.4. Stärken und Limitationen der Studie

Durch die Studie war es erstmals am Universitätsklinikum Graz möglich, gezielt TSI parallel zur TRAK-Routinediagnostik zu bestimmen. Damit konnten statistisch signifikante TSI-Grenzwerte ermittelt und somit der neue Immulite[®]-TSI-Assay für eine mögliche Einführung am Klinikum evaluiert werden. Außerdem wurden der bisher gängige TRAK-Grenzwert überprüft und Alternativen berechnet.

Gleichzeitig wurde einerseits ein detaillierter Überblick über das aktuelle Morbus-Basedow-Patient/innen-Kollektiv gewonnen und andererseits eine Zusammenstellung des Forschungsstands bezüglich verschiedenster Assay-Varianten zur TRAK-/TSI-Messung, und damit der Morbus-Basedow-Diagnostik, für die Klinik erarbeitet.

Demgegenüber stellte sich heraus, dass die Fallzahl eher zu gering war, um in allen Bereichen relevante Ergebnisse zu erhalten – vor allem, was die männlichen Patienten betraf, sodass nur geschlechtseinheitliche Cut-offs berechnet wurden.

Die Haupteinschränkung war jedoch das retrospektive Design der Studie. Dieses bedingte, dass einige Patient/innen-bezogenen Informationen nicht mehr rekonstruiert werden konnten, wie exakte Diagnosen, Schweregrad des Morbus Basedow oder einer endokrinen

Orbitopathie und Lebensstil- sowie anamnestische Faktoren. Dadurch mussten Patient/innen, bei denen aus den Akten nicht sicher ein Morbus Basedow hervorging, als faktisch „gesund“ klassifiziert werden – sicher eine der Hauptursachen, die die berechneten Sensitivitäten und Spezifitäten von TSI reduziert hat, sodass die Ergebnisse diesbezüglich schlechter als in anderen (oft prospektiven) Studien ausfielen. Dies könnte auch der Grund dafür sein, dass TSI sich abschließend statistisch nicht als überlegen gegenüber TRAK belegen lassen konnte.

Die unvollständigen in den Krankenakten zur Verfügung stehenden Daten führten außerdem dazu, dass Untersuchungen zur Korrelation von Höhe der TSI-Werte und Krankheitsaktivität bzw. Ausprägungsgrad der Symptome nicht in dem Maße durchgeführt werden konnten, als dass man sie statistisch hätte auswerten können. Dafür bräuchte es definitiv eine neue prospektive Studie mit standardisierten Symptomskalen, größerer Fallzahl, Verlaufskontrollen und eventuell auch vordefinierten Vergleichsgruppen, z. B. Patient/innen mit anderen Autoimmun- oder Schilddrüsenerkrankungen.

4.3. Conclusio

Calcitonin stellt einen verlässlichen Tumormarker in der Früherkennung medullärer Schilddrüsenkarzinome dar, solange die gemessenen Werte im Kontext von Anamnese und Klinik des Patienten/der Patientin gesehen werden. Denn zum einen hat sich gezeigt, dass häufig einmalige, ungeklärte moderate Erhöhungen auftreten können, die, wenn sie sich plausibel auf sekundäre Ursachen (z. B. Rauchen, Medikamente) zurückführen lassen können, aus psychologischer und wirtschaftlicher Sicht nicht zu engmaschigen Nachkontrollen führen sollten. Zum anderen ist hier die Möglichkeit des Auftretens von laborbedingten Interferenzen nicht zu unterschätzen, sodass bei zweifelhaften Befunden eher auf ein zweites Analyseverfahren zurückgegriffen werden sollte, bevor belastende invasive Maßnahmen zur Anwendung kommen.

Anhand der vorliegenden ROC-Analysen ist für die Universitätsklinik Graz die Erhöhung des allgemeinen Cut-offs von 12 auf 24,5 pg/ml (Sensitivität 92,9 %; Spezifität 77,5 %) zu empfehlen. Es hat sich sowohl in meinen Betrachtungen als auch in anderen Studien gezeigt, dass geschlechtergetrennte Grenzwerte günstig sind, aber zumindest für Graz bräuchte es dafür eine neue prospektive Studie, in der für eine genauere Berechnung alle Diagnosen und Lebensstilfaktoren etc. der eingeschlossenen Patient/innen miterhoben werden. Ähnlich verhält es sich bezüglich altersspezifischer Grenzwerte. Hierzu wären auch weitere internationale Vergleichsstudien wünschenswert.

Des Weiteren werden in Zukunft die genauen Mechanismen von MTC-unabhängigen Calcitonin-Erhöhungen sowie alternative Testverfahren zum Screening, z. B. auch unter Nutzung von Procalcitonin statt Calcitonin, genauer zu untersuchen sein.

TRAK bzw. TSI sind sensitive Laborwerte in der Diagnostik des Morbus Basedow und die Einführung sowie zunehmende Etablierung von Tests zur TSI-Messung sind nach wie vor vielversprechend. Auch deuten die hier beschriebenen Ergebnisse darauf hin, dass es sich bei TSI um einen sensitiveren Parameter als TRAK handelt. Jedoch bräuchte es größere und insbesondere prospektive Studien, um mittels höherer Fallzahl (vor allem männlicher Probanden) und genauerer Erfassung von Diagnosen und Symptomschwere eine klinische Überlegenheit von TSI definitiv nachzuweisen. Erst damit wäre eine Übernahme auch in Graz in Betracht zu ziehen. Übergangsweise könnte man sich dann am jetzt berechneten Cut-off von 0,593 IU/l orientieren, da dieser eher im Bereich derjenigen größerer Studien

(circa 0,55 IU/l) als der zweite von mir berechnete (1,77 IU/l) ist.

Besonders interessant wären zukünftig weitere Untersuchungen zur Korrelation von TSI-Wert und Morbus-Basedow-Symptomatik, da diese stimulierenden Antikörper im Gegensatz zu TRAK konkret für die Symptome und ihren Ausprägungsgrad verantwortlich sind. Daher sehe ich das größere Potential auch in Aktivitäts-messenden Bioassays als in Immunoassays. So ein TSI-Bioassay in automatisierter Form würde sich im Klinikalltag zur Differentialdiagnostik der Hyperthyreoseformen, zur Einschätzung des Grads der endokrinen Orbitopathie und besonders auch als Maß für das Therapieansprechen anbieten. In diesem Kontext könnten auch europäische Guidelines zu empfohlenen TSI-Assays und -Cut-offs sowie zur therapeutischen Konsequenz erarbeitet werden.

Da die Studienlage zur Prognose von Remission und Rezidiven anhand der TSI-Werte nach wie vor widersprüchlich ist, wären auch hierzu neue Studien mit einheitlichen Settings wünschenswert, um frühzeitig Therapieentscheidungen (z. B. bezüglich chirurgischer Interventionen) treffen zu können.

5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Papapetrou PD, Polymeris A, Karga H, Vaiopoulos G. Heterophilic antibodies causing falsely high serum calcitonin values. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:919–23.
2. Gasser RW. Ein Hormon stellt sich vor: Calcitonin. *J für Klin Endokrinol und Stoffwechsel* [Internet]. 2016;9(4):112–4. Available from: <http://books.google.com/books?id=w7jJMoGEC6cC&pgis=1>
3. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie.* 8. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2008. 1267 p.
4. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R. *Physiologie.* 6. Auflage. München: Elsevier GmbH; 2013. 888 p.
5. Felsenfeld AJ, Levine BS. Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? *Clin Kidney J.* 2015;8(2):180–7.
6. Immulite 2000 Calcitonin. Llanberis: Siemens Healthcare Diagnostics Inc.; 2008.
7. Obermayer-Pietsch B. Endokrinologische Labordiagnostik. In: Halwachs-Baumann G, editor. *Labormedizin.* 2. Auflage. Vienna: Springer Verlag; 2011. p. 393–467.
8. Bruhn HD, Junker R, Schäfer H, Schreiber S. *LaborMedizin Indikationen, Methodik und Laborwerte, Pathophysiologie und Klinik.* 3. Auflage. Stuttgart: Schattauer Verlag; 2011. 560 p.
9. Besenthal I. Tumormarker. In: *Klinikleitfaden Labordiagnostik.* 4. Auflage. München: Elsevier GmbH; 2008. p. 59–81.
10. Censi S, Cavedon E, Fernando SW, Barollo S, Bertazza L, Zambonin L, et al. Calcitonin measurement and immunoassay interference: A case report and literature review. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(12):1861–70.
11. Schuetz M, Duan H, Wahl K, Pirich C, Antoni A, Kommata S, et al. T lymphocyte cytokine production patterns in Hashimoto patients with elevated calcitonin levels and their relationship to tumor initiation. *Anticancer Res.* 2006;26(6 B):4591–6.
12. Erdogan MF, Gursoy A, Kulaksizoglu M. Long-term effects of elevated gastrin levels on calcitonin secretion. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:771–5.
13. Vannucchi G, Covelli D, Vigo B, Perrino M, Mondina L, Fugazzola L. Thyroid volume and serum calcitonin changes during pregnancy. *J Endocrinol Invest.* 2017;40(7):727–32.
14. Guyétant S, Rousselet MC, Durigon M, Chappard D, Franc B, Guerin O, et al. Sex-related C cell hyperplasia in the normal human thyroid: A quantitative autopsy study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(1):42–7.
15. d'Herbomez M, Caron P, Bauters C, Cao C Do, Schlienger JL, Sapin R, et al. Reference range of serum calcitonin levels in humans: Influence of calcitonin assays, sex, age, and cigarette smoking. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(6):749–55.
16. Lorenz K, Elwerr M, MacHens A, Abuazab M, Holzhausen HJ, Dralle H. Hypercalcitoninemia in thyroid conditions other than medullary thyroid carcinoma: A comparative analysis of calcium and pentagastrin stimulation of serum calcitonin. *Langenbeck's Arch Surg.* 2013;398(3):403–9.

17. Böhm BO. Schilddrüsenhormone. In: *Klinikleitfaden Labordiagnostik*. 4. Auflage. München: Elsevier GmbH; 2008. p. 315–29.
18. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, et al. Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2015 Jun;25(6):567–610.
19. Herold G et al. *Innere Medizin 2017*. Köln: Gerd Herold; 2017. 1000 p.
20. AMBOSS. Schilddrüsenkarzinom [Internet]. 2018 [cited 2018 Mar 29]. Available from: <https://amboss.miamed.de/library#xid=Vg0G82&anker=Zbdc4e387cc0bb739f5edf730e1f4ab9f>
21. Malle P, Kohlfürst S, Igerc I, Sorschag M, Leixner G, Lind P, et al. Diagnostik des medullären Schilddrüsenkarzinoms: Von Biomarkern zur molekularen Bildgebung. *J für Klin Endokrinol und Stoffwechsel*. 2010;3(2):6–12.
22. Barbet J, Champion L, Kraeber-Bodéré F, Chatal JF. Prognostic impact of serum calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling-times in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(11):6077–84.
23. Frank-Raue K, Raue F. MEN-2-Syndrom: Was gibt es Neues? *J für Klin Endokrinol und Stoffwechsel*. 2011;4(3):8–11.
24. European Medicines Agency. European Medicines Agency recommends limiting longterm use of calcitonin medicines. Press Office [Internet]. 2012;2. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2012/07/WC500130122.pdf
25. Bartalena L, Baldeschi L, Boboridis K, Eckstein A, Kahaly GJ, Marcocci C, et al. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves' Orbitopathy Guidelines for the Management of Graves' Orbitopathy. *Eur Thyroid J*. 2016;5(1):9–26.
26. Leschik JJ, Diana T, Olivo PD, König J, Krahn U, Li Y, et al. Analytical performance and clinical utility of a bioassay for thyroid-stimulating immunoglobulins. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(2):192–200.
27. Pierce M, Sandrock R, Gillespie G, Meikle AW. Measurement of thyroid stimulating immunoglobulins using a novel thyroid stimulating hormone receptor-guanine nucleotide-binding protein, (GNAS) fusion bioassay. *Clin Exp Immunol*. 2012;170(2):115–21.
28. Kamath C, Adlan MA, Premawardhana LD. The role of thyrotrophin receptor antibody assays in Graves' disease. *J Thyroid Res*. 2012;2012.
29. Tomer Y, Huber A. The Etiology of Autoimmune Thyroid Disease: A Story of Genes and Environment. *J Autoimmun*. 2009;32(3–4):231–9.
30. Rapoport B, McLachlan SM. TSH receptor cleavage into subunits and shedding of the A-subunit; a molecular and clinical perspective. *Endocr Rev*. 2016;37(2):114–34.
31. Tozzoli R, D'Aurizio F, Villalta D, Giovanella L. Evaluation of the first fully automated immunoassay method for the measurement of stimulating TSH receptor autoantibodies in Graves' disease. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(1):58–64.

32. Villalta D, D'Aurizio F, Da Re M, Ricci D, Latrofa F, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of a new fluoroenzyme immunoassay for the detection of TSH receptor autoantibodies in Graves' disease. *Autoimmun Highlights*. 2018;9(1):4–9.
33. Lytton SD, Li Y, Olivo PD, Kohn LD, Kahaly GJ. Novel chimeric thyroid-stimulating hormone-receptor bioassay for thyroid-stimulating immunoglobulin. *Clin Exp Immunol*. 2010;162(3):438–46.
34. Giuliani C, Cerrone D, Harii N, Thornton M, Kohn LD, Dagia NM, et al. A TSHr-LH/CGr chimera that measures functional TSAb in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(7):1106–15.
35. Araki N, Iida M, Amino N, Morita S, Ide A, Nishihara E, et al. Rapid Bioassay for Detection of Thyroid-Stimulating Antibodies Using Cyclic Adenosine Monophosphate-Gated Calcium Channel and Aequorin. *Eur Thyroid J*. 2015;4(1):14–9.
36. Immulite 2000 Thyroid Stimulating Immunoglobulins (TSI). Llanberis: Siemens Healthcare Diagnostics Inc.; 2015.
37. IASONTRAb e. Enzymimmunoassay zur Bestimmung der TSH Rezeptor Autoantikörper in Humanserum. Graz-Seiersberg: IASON GmbH; p. 1–20.
38. Jameson JL, Mandel SJ, Weetman AP, Brabant G. Erkrankungen der Schilddrüse. In: Suttrop N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 19. Auflage. Berlin: ABW Wissensverlag GmbH; 2016. p. 2805–36.
39. AMBOSS. Hyperthyreose [Internet]. 2018 [cited 2018 Apr 14]. Available from: <https://amboss.miamed.de/library#xid=bg0HF2&anker=Zdac93e391714bd522e88ab23e382191f>
40. AMBOSS. Erkrankungen der Augenhöhle [Internet]. 2017 [cited 2018 Apr 15]. Available from: <https://amboss.miamed.de/library#xid=G50Blg&anker=Z7e5a20cac8c934669f47c66d1e5c3fef>
41. Receiver Operating Characteristic [Internet]. 2017 [cited 2018 Apr 26]. Available from: https://de.wikipedia.org/wiki/Receiver_Operating_Characteristic
42. Rosario PW, Calsolari MR. Usefulness of Serum Calcitonin in Patients Without a Suspicious History of Medullary Thyroid Carcinoma and with Thyroid Nodules Without an Indication for Fine-Needle Aspiration or with Benign Cytology. *Horm Metab Res*. 2016;48(6):372–6.
43. Turk Y, Makay O, Ozdemir M, Ertunc G, Demir B, Icoz G, et al. Routine calcitonin measurement in nodular thyroid disease management: is it worthwhile? *Ann Surg Treat Res*. 2017;92(4):173.
44. Cheung K, Roman SA, Wang TS, Walker HD, Sosa JA. Calcitonin Measurement in the Evaluation of Thyroid Nodules in the United States: A Cost-Effectiveness and Decision Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(6):2173–80.
45. Costante G, Meringolo D, Durante C, Bianchi D, Nocera M, Tumino S, et al. Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):450–5.
46. Preissner CM, Dodge LA, O'Kane DJ, Singh RJ, Grebe SKG. Prevalence of

- heterophilic antibody interference in eight automated tumor marker immunoassays. *Clin Chem*. 2005;51(1):208–10.
47. McKee A, Peyerl F. TSI Assay Utilization: Impact on Costs of Graves' Hyperthyroidism Diagnosis. *Am J Manag Care* [Internet]. 2012;18(1). Available from: <http://www.ajmc.com/journals/issue/2012/2012-1-vol18-n1/tsi-assay-utilization-impact-on-costs-of-gravesu2019-hyperthyroidism-diagnosis>
 48. Ross DS, Burch HB, Cooper DS, Greenlee MC, Laurberg P, Maia AL, et al. 2016 American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis. *Thyroid*. 2016;26(10):1343–421.
 49. Lytton SD, Ponto KA, Kanitz M, Matheis N, Kohn LD, Kahaly GJ. A novel thyroid stimulating immunoglobulin bioassay is a functional indicator of activity and severity of graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(5):2123–31.
 50. Salvi M, Campi I. Medical Treatment of Graves' Orbitopathy. *Horm Metab Res = Horm und Stoffwechselforsch = Horm métabolisme*. 2015;47(10):779–88.
 51. Woo YJ, Jang SY, Hyung T, Lim T, Yoon JS. Clinical Association of Thyroid Stimulating Hormone Receptor Antibody Levels with Disease Severity in the Chronic Inactive Stage of Graves' Orbitopathy. 2015;29(4):213–9.

Anhang

Dokument zur Patient/innen-Einwilligung für Fallberichte:

Landeskrankenhaus - Universitätsklinikum Graz

Universitätsklinik für Innere Medizin

Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. Samonigg

A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 15, Telefon: +43 (316) 385-16888, Fax: +43 (316) 385-13062

E-Mail: medunivklinik@medunigraz.at, Internet: <http://www.unigraz.at/umewww/>



Steiermärkische Krankenanstaltengesellschaft m.b.H.

Medizinische Universität Graz

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

wir möchten Sie einladen, Informationen zu Ihrem Fall für die Erstellung eines Fallberichtes zur Verfügung zu stellen.

Fallberichte (oder „case reports“) sind wissenschaftliche Arbeiten, die sich mit besonders interessanten und außergewöhnlichen Fällen beschäftigen und deren enthaltene Information nützlich für medizinisch tätige Personen sein kann. Solche Arbeiten werden üblicherweise in medizinischen Zeitschriften (in gedruckter Form und/oder online) publiziert sowie auf speziellen Fachkongressen präsentiert.

Persönliche Informationen, die für einen Fallbericht verwendet werden können beinhalten erhobene Laborparameter, medizinische Befunddaten (z.B. von bildgebenden Untersuchungen wie Computertomographien), anthropometrische Messgrößen (z.B. Körpergewicht, Blutdruck) oder andere medizinische Berichte (z.B. Operationsberichte).

Es werden die höchstmöglichen Vorkehrungen getroffen, um Ihre Privatsphäre und Identität zu schützen. Daten, die Sie als Individuum erkennbar machen (z.B. Name, Geburtsdatum, Fallnummer) werden nicht weitergegeben. Auch im Falle einer Veröffentlichung des Fallberichtes werden keine Informationen zu Ihrer Identität preisgegeben.

Ein persönlicher Nutzen aus dieser wissenschaftlichen Arbeit ist für Sie nicht zu erwarten. Durch das Teilen von Informationen mit anderen medizinisch tätigen Personen kann jedoch die Versorgung von anderen PatientInnen in Zukunft verbessert werden.

Das Einverständnis zur Verwendung Ihrer persönlichen Informationen ist mit keinen Kosten verbunden, ebenso werden keine zusätzlichen Untersuchungen oder Eingriffe durchgeführt. Eine gesonderte Vergütung ist nicht vorgesehen.

Die Einwilligung zur Veröffentlichung von anonymisierten Informationen zu Ihrem Fall erfolgt freiwillig und kann zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen widerrufen werden. Sobald der Fallbericht zur Publikation oder öffentlichen Präsentation angenommen wurde, ist ein Widerruf des Einverständnisses jedoch nicht mehr möglich. Der Widerruf Ihres Einverständnisses ist für Sie mit keinerlei negativen Konsequenzen verbunden und beeinträchtigt nicht die Qualität Ihrer medizinischen Versorgung.

Auenbruggerplatz 1
A-8036 Graz
Österreich

Tel. +43 (316) 385-0
Internet: www.klinikum-graz.at
E-Mail: direktion@klinikum-graz.at

FN 49003 p
DVR 0468533
ATU 28619206

Landeshypothekenbank Steiermark
BLZ 56000
Konto 20241042007

Mit Ihrer Unterschrift bestätigen Sie, dass Sie von Dr. _____ über den geplanten Fallbericht und die mit der Zurverfügungstellung Ihrer persönlichen medizinischen Informationen verbundenen Risiken und – falls zutreffend – Nutzen ausführlich aufgeklärt wurden und ausreichend Zeit hatten, anfallende Fragen zu stellen. Ebenso bestätigen Sie, dass Sie die vorliegende Einverständniserklärung vollständig gelesen und verstanden haben. Durch das Unterschreiben dieser Einverständniserklärung gewähren Sie Zugriff auf Ihre persönlichen medizinischen Daten, welche zur Erstellung des Fallberichtes genutzt werden. Diese Daten können – unter höchstmöglichen Vorkehrungen zur Wahrung Ihrer Privatsphäre – im Rahmen des Fallberichtes in wissenschaftlichen Journalen (in gedruckter Form und/oder online) veröffentlicht oder auf speziellen Fachkongressen präsentiert werden.

Name des geplanten Fallberichtes:

Principal Investigator:
Telefonnummer:
Emailadresse:

Name der Patientin/des Patienten:

Geburtsdatum der Patientin/des Patienten:

Ort, Datum

Unterschrift Arzt/ÄrztIn

Ort, Datum

Unterschrift PatientIn