

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie
der Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier)

Analytische und klinische Evaluierung eines kardialen Troponin-I-Immunoassays

Arthur-Johann Brothag

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. H. H. E. Baum
2. Univ.-Prof. A. Kastrati

Die Dissertation wurde am 25.09.2003 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 10.12.2003 angenommen.



Analytische und klinische Evaluierung eines kardialen Troponin-I-Immunoassays

Arthur-Johann Brothag



Widmung

„Man sieht nur mit dem Herzen gut.“

(Antoine de Saint-Exupéry)

*Gewidmet ist diese Arbeit den Ärzten und Forschern,
die durch ihren täglichen Einsatz die Diagnostik und Therapie der Herzerkrankungen
verbessern und somit Patienten das Leben retten und den Betroffenen und ihren
Familien Lebensqualität schenken.*





INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis.....	6
1. Einleitung	7
1.1. Diagnostik von Herzinfarkt und akutem Koronarsyndrom	7
1.1.1. Überblick.....	7
1.1.2. Entwicklung innerhalb der „kardialen Marker“	9
1.1.3. Kardiale Troponine als neue Marker in der kardialen Diagnostik	10
1.2. Kardiales Troponin I - biochemische und physiologische Aspekte.....	11
1.2.1. Biochemie des kardialen Troponin I	11
1.2.2. Pathophysiologie des kardialen Troponin I	13
1.3. Fragestellungen.....	14
2. Material und Methodik.....	15
2.1. Materialien.....	15
2.1.1. Versuchsmaterialien	15
2.1.2. Analytisches Probenmaterial von Patienten.....	18
2.1.3. Klinisches Probenmaterial	19
2.2. Methodik.....	23
2.2.1. Grundlegende Methodik	23
2.2.2. Analytische Evaluierung	24
2.2.3. Klinische Evaluierung	29
2.3. Statistische Methodik	29
3. Ergebnisse	30
3.1. Analytische Evaluierung.....	30
3.1.1. Intra-Assay-Präzision	30
3.1.2. Inter-Assay-Präzision	31
3.1.3. Verdünnungslinearität.....	32
3.1.4. Funktionelle Sensitivität.....	33
3.1.5. Einfluss des Probenmaterials	36
3.1.6. Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur.....	39
3.1.7. Einfluss endogener Störsubstanzen.....	44
3.1.8. Referenzwerte gesunder Personen ohne Herzkrankheiten	46
3.1.9. Analytischer Methodenvergleich	48
3.2. Klinische Evaluierung.....	49
3.2.1. Patienten mit AMI	49
3.2.2. Patienten mit Angina pectoris, KHK, und Non-Q-Wave Infarkt.....	50
3.2.3. Patienten mit herzchirurgischem Eingriff.....	51
3.2.4. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz	53
3.2.5. Patienten mit Verdacht auf Myopathie und maligner Hyperthermie.....	54
3.2.6. Patienten mit chronischer Muskeldystrophie.....	55
3.2.7. Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis.....	56
3.2.8. Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativen Eingriff	57
3.2.9. Vergleich zwischen verschiedenen cTn-Assays	58
4. Diskussion.....	61
4.1. Kardiale Troponine in der Diagnostik akuter Koronarsyndrome	61
4.2. Analytische Evaluierung.....	67
4.2.1. Standardisierung des Tests.....	68
4.2.2. Präzision des Assays	69
4.2.3. Präanalytische Variabilität	71
4.2.4. Zeitdauer bis zum Eintreffen des Messergebnisses	72



4.2.5. Wirtschaftliche Aspekte	73
4.3. Klinische Evaluierung	73
5. Zusammenfassung	78
6. Quellen.....	80
6.1. Literaturverzeichnis	80
6.2. Abbildungsverzeichnis	86
6.3. Tabellenverzeichnis	87
7. Danksagung	88
8. Lebenslauf.....	89



Abkürzungsverzeichnis

μ	mikro-
Abwchg.	Abweichung
ACS	akutes Koronarsyndrom (acute coronary syndrome)
AMI	akuter Myokardinfarkt
Anz.	Anzahl
AP	Angina pectoris
AS	Aminosäure
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase
CABG	koronarer Bypass (coronary artery bypass grafting)
CK	Creatinphosphokinase
cTn	kardiales Troponin (cardiac Troponin)
cTnI	kardiales Troponin I (cardiac Troponin I)
cTnT	kardiales Troponin T (cardiac Troponin T)
CV	Variationskoeffizient (coefficient of variation)
d	dia (Tag)
durchschn.	durchschnittlich
EKG	Elektrokardiogramm
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GP	Glykoprotein
h	hora (Stunde)
HAMA	Humane Anti-Maus-Antikörper (human anti-mouse antibodies)
i. v.	intra-venös
kDa	Kilodalton
KHK	koronare Herzkrankheit
KI	Kontraindikation
klin.	klinisch
LDH	Laktatdehydrogenase
m	männlich
MMD	minor myocardial damage
nd	nicht durchgeführt
notwdg.	notwendig(e)
OP	Operation
OR	Odds Ratio
PTCA	perkutane transluminale koronare Angioplastie (percutaneous transluminal coronary angioplasty)
SAP	stabile Angina pectoris (stable angina pectoris)
SD	Standardabweichung (standard deviation)
sog.	sogenannt
TnC	Troponin C
TnI	Troponin I
TnT	Troponin T
UAP	Instabile Angina pectoris (unstable angina pectoris)
v. a.	vor allem
V. a.	Verdacht auf
w	weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)

Anmerkung:

Die Handelsnamen der Analyser Liaison®, Dimension®, Elecsys®, Immulite® und Stratus® sind allesamt geschützte Begriffe. Der besseren Lesbarkeit halber wurde die Kennzeichnung ® innerhalb der Dissertation weggelassen.



1. Einleitung

1.1. Diagnostik von Herzinfarkt und akutem Koronarsyndrom

1.1.1. Überblick

In Deutschland sind Krankheiten des Herz-Kreislaufsystems ähnlich wie in anderen industrialisierten Ländern weiterhin die häufigste Todesursache. Eine entsprechende Statistik des zuständigen Bundesamts in Wiesbaden ergibt, dass über 47 Prozent aller Todesfälle durch Herz-Kreislaferkrankungen bedingt sind.

Bildet man eine Rangliste der 10 häufigsten Todesursachen, so wird sowohl Platz 1 als auch Platz 2 durch Erkrankungen des Herzens belegt: Die häufigste Todesursache ist die chronische ischämische Herzkrankheit mit einem Anteil von 11,2%. Der akute Myokardinfarkt folgt auf Platz 2 mit 7,9% aller Todesfälle. Chronisch ischämische Herzkrankheit sowie akuter Myokardinfarkt führen somit zum Tod von jährlich über 150.000 Menschen in Deutschland und stellen eine Herausforderung für klinische Medizin, Forschung und Gesellschaft dar.⁽⁸¹⁾

Betrachtet man die klinische Diagnose eines akuten Herzinfarkts (AMI), so basiert diese auf folgenden drei Säulen:

- Klinische Symptomatik,
- Elektrokardiographische Befunde und
- Erhöhte Blutwerte biochemischer Marker.

Wird ein Patient mit Verdacht auf Herzinfarkt in die Notaufnahme eines Krankenhauses eingeliefert, empfiehlt der WHO-Diagnosealgorithmus⁽⁷⁹⁾ als wesentlichen Bestandteil der Diagnosefindung die schnellstmögliche Abnahme von Blut zur Untersuchung von Markern des myokardialen Zelluntergangs. Durch große Studien zur Prognose von Patienten mit koronarer Herzerkrankung und der Etablierung neuer, spezifischerer und empfindlicherer Marker des myokardialen Zelluntergangs sind in den letzten Jahren jedoch einige Neudefinitionen notwendig geworden.

So ist zum Beispiel das sog. „akute koronare Syndrom“ (engl.: acute coronary syndrome - ACS) ein erst kürzlich eingeführter Begriff entstanden. Das ACS beschreibt eine Konstellation von Symptomen, die mit einer akuten myokardialen Ischämie kompatibel sein können. Es umfasst sowohl die instabile Angina pectoris, als auch den Myokardinfarkt mit oder ohne ST-Hebung und eventueller Q-Welle. Siehe auch Abbildung 1.

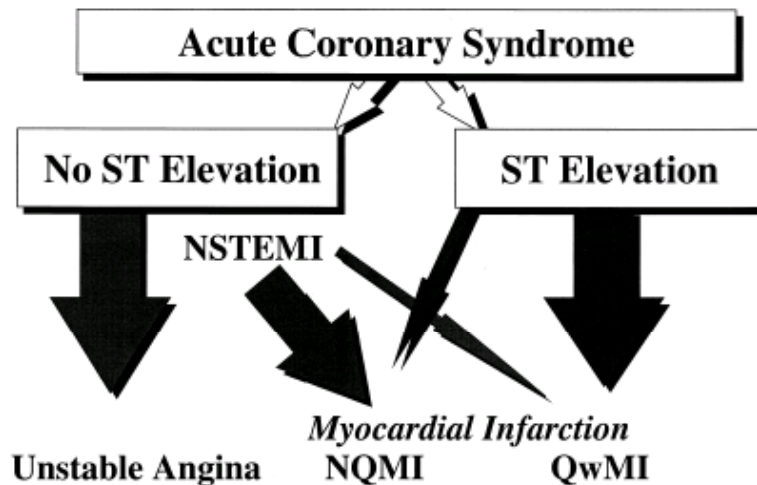


Abbildung 1: Klinische Klassifikation des ACS¹(2)

Leitsymptom des ACS ist der akute Brustschmerz. Stellt sich ein Patient mit ACS vor, ist die rasche Diagnostik eine der vordringlichsten Aufgaben. Ist die Diagnose ACS bestätigt, kann ein sofortiger medikamentöser, invasiver oder operativer Reperfuersionsversuch unternommen werden.⁽¹²⁾ Die akkurate Diagnosefindung beim ACS stellt jedoch eine der größten Herausforderungen an den Kliniker dar.⁽⁶⁸⁾ In einer innerhalb der ACI-TIPI-Studie² veröffentlichten Untersuchung wurde nachgeprüft, wie viele der insgesamt 10.689 sich mit Brustschmerz in der Notaufnahme vorstellenden Patienten mit einem nicht erkannten Herzinfarkt entlassen wurden. Zwei Prozent der Patienten mit Herzinfarkt wurden nach Hause geschickt.⁽⁵⁹⁾ Solche Fehldiagnosen haben sowohl für die Patienten als auch für das medizinische Personal drastische Konsequenzen: Nicht diagnostizierte Herzinfarkte stellen in den Vereinigten Staaten die führende Ursache für Haftungsklagen gegen Ärzte dar.⁽⁶¹⁾ Andererseits sind Patienten, die auf Grund ihrer klinischen Symptomatik mit Verdacht auf eine koronare Herzkrankheit aufgenommen wurden, retrospektiv jedoch koronargesund waren, Ursache für unnötige und exorbitant hohe Krankenhauskosten.^(68, 40)

Deshalb sind zur Diagnosefindung neben der Anamnese und der körperlichen Untersuchung sowohl die mittels EKG gewonnenen elektrophysiologischen Befunde als auch die Messung von Biomarkern zur Erfassung myokardialer Zellschäden essentiell.⁽⁷⁹⁾

Durch Integration der aus Serumanalysen der Herzmarker, Anamnese, klinischer Untersuchung und EKG gewonnenen Informationen können diese Patienten mit Brustschmerz in vier Gruppen eingeteilt werden:

- Nicht-kardiale Diagnose
- Chronische stabile Angina
- Mögliches ACS
- Sicheres ACS.

¹ Zu finden auf Seite 962 des Originalartikels

² ACI-TIPI-Studie = Acute Cardiac Ischemia - Time-Insensitive Predictive Instrument



1.1.2. Entwicklung innerhalb der „kardialen Marker“

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definierte im Jahre 1979 Standards für die Diagnose „akuter Myokardinfarkt“. Dabei nahmen Biomarker zum ersten Mal einen festen Platz in der AMI-Diagnostik ein. Innerhalb der Gruppe dieser kardialen Marker gab es jedoch in den letzten Jahrzehnten eine stetige Weiterentwicklung mit Etablierung „neuer“, spezifischer und/oder sensitiver Marker, welche die bis dahin verwendeten Marker ergänzten und teilweise ersetzten.

Der „ideale“ Marker zur Erkennung von Läsionen des Herzmuskelgewebes soll folgende Eigenschaften haben:⁽⁵⁷⁾

1. Eine hohe Konzentration im Herzmuskelgewebe und keine Präsenz in nicht-kardialen Geweben, um eine hohe Organspezifität zu erreichen.
2. Nach Läsion eine schnelle Freisetzung in den Blutstrom, um eine optimale Sensitivität in den ersten Stunden nach einem kardialen Ereignis gewährleisten zu können.
3. Erhöhung der Blutspiegel während mehrerer Tage nach kardialen Ereignis, um auch solche Läsionen diagnostizieren zu können, die bereits einige Tage zurückliegen.
4. Gute und schnelle Bestimmbarkeit.

Die ersten kardialen Biomarker waren die Enzyme Creatinkinase (CK), Aspartat-Aminotransferase (ASAT/GOT), sowie Laktatdehydrogenase (LDH). Das Problem dieser ersten Marker war jedoch eine mangelnde Spezifität für das Herzgewebe und somit eine Erhöhung der Serumspiegel bei einer Reihe von anderen Krankheiten.

Auch das als Herzmarker eingesetzte Myoglobin ist nicht spezifisch für Herzgewebe, sondern ist vor allem mit hohen Konzentrationen in der Skelettmuskulatur ubiquitär vorhanden. Bei Schädigung der Skelettmuskulatur oder bei Patienten mit Muskelerkrankungen wie auch bei Niereninsuffizienz ist das Myoglobin häufig erhöht. Vorteil des Myoglobins ist jedoch, dass es der „schnellste“ Herzmarker ist und es bereits wenige Stunden nach einem kardialen Ereignis Werte oberhalb des Referenzbereichs anzeigt. Allerdings ist seine Halbwertszeit im Blut sehr gering, so dass es nach initialer Freisetzung rasch wieder aus der Blutbahn eliminiert wird. Aus diesen Gründen ist es lediglich als Frühmarker einsetzbar oder dient bei negativem Untersuchungsergebnis zum Ausschluss eines akuten Geschehens.⁽⁵⁷⁾

Durch die Entwicklung spezifischer Testsysteme zur Erkennung von herzmuskelspezifischen Isoformen der CK und LDH wurde versucht, die Spezifität zu erhöhen. Da diese Parameter jedoch ebenfalls keine 100%ige Herzmuskelspezifität besitzen, war auch hier die

³ Seite 19 des Artikels



gewünschte Organspezifität nicht erfüllt.⁽⁴⁸⁾ Dies gilt auch für das MB-Isoenzym der CK, welches bis dahin die höchste Herzmuskelspezifität hatte, jedoch zwei Nachteile aufweist: Zum einen ist es nicht spezifisch für Herzmuskelschäden und ist so auch bei Skelettmuskel-Läsionen, Traumata oder nach Operationen erhöht. Zum anderen sinkt der messbare Blutspiegel relativ schnell ab, so dass es nicht zur „Spätdiagnostik“ myokardialer Infarkte benutzt werden kann.

Insgesamt erfüllt keiner dieser Parameter alle geforderten Kriterien für den idealen Marker. Vor allem die Kernforderung einer maximalen Kardiospezifität ist nicht erfüllt.

Die Freisetzung nach AMI ist in Abbildung 2 für die wichtigsten routinemäßig eingesetzten Marker graphisch dargestellt:

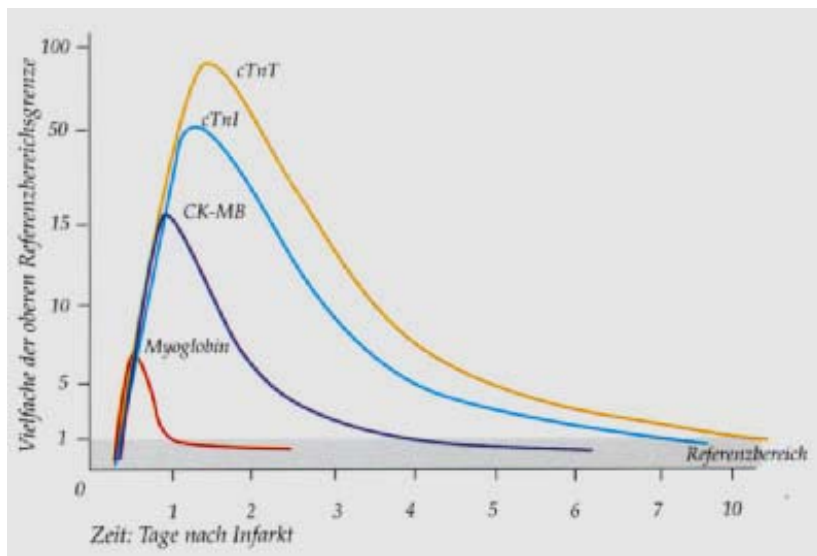


Abbildung 2: Kurvenverlauf der Freisetzung der kardialen Biomarker⁽¹⁰⁾

1.1.3. Kardiale Troponine als neue Marker in der kardialen Diagnostik

Die ungenügende Spezifität der bislang verfügbaren biochemischen Marker zur Diagnose einer Herzmuskelnekrose führte zur Entwicklung neuer, spezifischer Marker und damit zur Entwicklung von spezifischen Assays zur Bestimmung der kardialen Troponine (cTn) T und I. Nach einem Herzinfarkt können erhöhte cTn-Spiegel bereits nach drei bis sechs Stunden (h) nachgewiesen werden, der Gipfel wird nach 14-20 h erreicht. Erst fünf bis zehn Tage nach einem Herzinfarkt unterschreiten die kardialen Troponine wieder die Grenze des Referenzbereichs, was innerhalb der Herzmarker eines der größten diagnostischen Fenster darstellt. Dabei ist die relative Erhöhung des Troponins um das Fünf- bis Zehnfache deutlich größer als beispielsweise diejenige der CK-MB.

Auf Grund der hohen kardialen Spezifität der Troponine wurde von Cummins et al. im Jahr 1987 ein Radio-Immunoassay zur Detektion von cTnI entwickelt, um damit Gewebeschäden des Herzmuskels erkennen zu können.⁽¹⁷⁾ Die Entwicklung von monoklonalen Antikörpern



gegen cTnI und cTnT machte daraufhin die Einführung der Troponine als Herzmarker möglich.^(8, 36) Nach zehn Jahren stetiger Weiterentwicklung stellen die Troponin-Immunoassays das heutzutage beste Instrument zur Risiko-Stratifizierung für Patienten mit ACS dar.^(28, 54)

Nachdem viele Untersuchungen die sehr hohe kardiale Spezifität der cTn bestätigten,^(3, 4, 24, 33, 69, 73) wurde dies in einem gemeinsamen Konsensusprotokoll der European Society of Cardiology und des American College of Cardiology zur Neudefinition des AMI dokumentiert.

Sinngemäß übersetzt formuliert das Konsensusdokument:^{(2)⁴}

„Ein Herzinfarkt wird diagnostiziert, wenn Blutspiegel von sensitiven und spezifischen Biomarkern, wie z.B. der kardialen Troponinen ... in der klinischen Situation einer akuten Ischämie erhöht sind. Der ... bevorzugte Biomarker ist hierbei das kardiale Troponin (I oder T), welches ... einerseits spezifisch für myokardiales Gewebe ist und andererseits sehr sensitiv hierfür ist und dadurch Zonen myokardialer Nekrose widerspiegelt.“ Weitere Vorschläge des Konsensusdokuments gehen dahin, Blutabnahmen sofort bei Einlieferung ins Krankenhaus, 6-9 h nach Auftritt der Symptome sowie nochmals 12-24 h nach Symptombeginn durchzuführen, falls die vorherigen Proben negativ waren und ein hoher Verdacht auf AMI besteht.

Stellen sich Patienten frühzeitig nach Symptombeginn in der Notaufnahme vor, sollen neben den eher später ansteigenden Troponinen auch frühzeitig auftretende Biomarker wie z.B. die CK-MB Konzentration oder Myoglobin herangezogen werden. Die kardiale Spezifität der cTn erlaubt dem Arzt, einen AMI selbst bei unsicheren Symptomen innerhalb von 8-12 h nach Initialbeschwerden auszuschließen oder zu diagnostizieren.

1.2. Kardiales Troponin I - biochemische und physiologische Aspekte

1.2.1. Biochemie des kardialen Troponin I

Das Myokard besteht aus quergestreiften Muskelfasern, die folgende wesentliche Bestandteile besitzen:

- die (herzspezifischen) kontraktilen Proteine Aktin und Myosin
- das muskelspezifische Energieträgerprotein Myoglobin
- die Enzyme Creatinkinase und Laktatdehydrogenase (LDH)
- die regulierenden Proteine **Troponin** und Tropomyosin.

⁴ Sinngemäße Übersetzung von Text der Seiten 961 und 962 des Artikels (2).



Der von Setsuro Ebashi(20) entdeckte Troponinkomplex besteht aus den drei Protein-Untergruppen T, I und C, dargestellt in Abbildung 3. Troponin T, ein 37 kDa Protein interagiert dabei mit dem Tropomyosin. Das Troponin I, ein Protein mit einem Molekulargewicht von 24 kDa interagiert mit dem Aktin und das 18 kDa schwere Troponin C bindet Calciumionen und reguliert somit die Aktivität der Troponine T und I.(14)

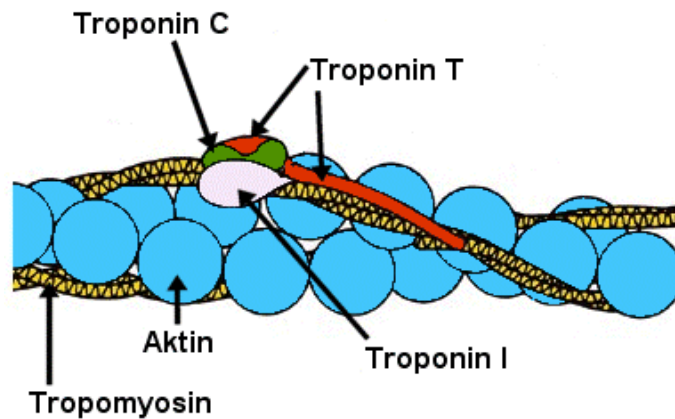


Abbildung 3: Struktur des Troponin-Komplexes(46)

Troponine I und T besitzen im Gegensatz zu Troponin C verschiedene Isoformen im Herz-, beziehungsweise im Skelettmuskel. Während es zwei Isoformen für sogenannte schnelle bzw. langsame Muskelfasern in der Skelettmuskulatur gibt, kann noch eine dritte, für das Herz spezifische Isoform nachgewiesen werden. Diese genetisch unterschiedlichen Isoformen drücken sich in verschiedenen Aminosäure-Sequenzen aus. Auf Grund dieses Unterschieds kann man durch Einsatz von ausschließlich gegen kardiale Isoformen des Troponin I (cTnI) und Troponin T (cTnT) gerichtete Antikörper diese kardialen Isoformen spezifisch messen.(14, 23)

Die gewebsspezifische Expression der Troponine hängt von der Entwicklungsstufe ab. Im Herzmuskelgewebe von Föten wird sowohl kardiales als auch skelettales Troponin exprimiert. Nach der Geburt verstärkt sich jedoch die Produktion von kardialen Isoformen, bis ab ungefähr dem neunten Monat kardiales Tn ausschließlich im Herzmuskelgewebe produziert wird.(23) Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass cTnT bei bestimmten Erkrankungen auch in der Skelettmuskulatur des Erwachsenen exprimiert werden kann.(73, 4) Darüber hinaus gibt es Berichte, dass es bei definierten genetischen Erkrankungen der Skelettmuskulatur zu einer Expression von cTnT und cTnI kommen könnte. Dies wurde zumindest auf RNA-Ebene gezeigt.(50)

Der Gehalt an cTnI im menschlichen Myokard beträgt ca. 4,0-6,0 mg/g Frischgewicht. Hiervon sind 3-6% im Zytosol zu finden. Demgegenüber hat cTnT eine Konzentration von ca. 10,8 mg/g im Myokard mit einem zytosolischen Anteil von ca. 6-8%.(74, 37, 18)

Menschliches cTnI im Herzmuskelgewebe hat, wie bereits erwähnt, ein Molekulargewicht von 24kDa und besteht aus 209 Aminosäuren. cTnI besitzt zwei Serine in den Positionen 23



und 24. Diese können in vivo durch Proteinkinase A und andere Proteine phosphoryliert werden.⁽³⁴⁾

Durch diese Phosphorylierung können bis zu vier Formen entstehen (nicht phosphoryliert, phosphoryliert entweder in Position 22 oder 23 und doppelt phosphoryliert). Die Phosphorylierung verändert die Konformation des Proteins und ist somit auch im Bezug auf Antikörpererkennung wesentlich.⁽⁵³⁾

1.2.2. Pathophysiologie des kardialen Troponin I

Zusammen mit Tropomyosin und unter Calcium-Einfluss reguliert der Troponinkomplex die Muskelkontraktion:

- Troponin I lagert sich an Aktin an
- Troponin T lagert sich an Tropomyosin an
- Troponin C bindet Calciumionen.

Während bei niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen im Zytoplasma keine Kontraktion stattfindet, führen erhöhte Calcium-Konzentrationen zu einer Kontraktion.^(23, 64)

Bei einer Schädigung des Herzmuskelgewebes werden neben anderen Bestandteilen der Herzmuskelzellen auch Troponine freigesetzt. Diese Schädigung kann durch eine Vielzahl von Ätiologien wie z.B. Herzinfarkt, instabile Angina pectoris, Myokarditis, Trauma oder herzchirurgische Eingriffe bedingt sein. Die häufigste Ursache für einen erkennbaren Anstieg des Troponinspiegels ist jedoch ein akutes Koronarsyndrom. Im Verlauf eines akuten Myokardinfarkts können bereits vier Stunden nach Schädigung des Herzmuskelgewebes Troponine im peripheren Blut nachgewiesen werden. Die cTn-Konzentrationen haben ihren Gipfel ca. 14-36 h nach dem kardialen Ereignis erreicht und bleiben für ca. sieben Tage deutlich erhöht.⁽⁷³⁾

Für die schnelle Freisetzung scheint die Ausschüttung zytosolischen Troponins verantwortlich zu sein, während die langsame Ausschüttung durch eine kontinuierliche Freisetzung des myofibrillär gebundenen Anteils der cTn bedingt ist. Da die Serum-Halbwertszeit von cTnT und cTnI ca. 2h beträgt, kann diese lange Nachweisbarkeit nur durch die permanente Freisetzung bis zur Vernarbung des infarzierten Gebietes erklärt werden.⁽⁷⁴⁾ Freigesetztes cTnI im Serum ist keineswegs nur als freie Form zu finden. Der überwältigende Anteil (>97%) wird als sekundärer Komplex entweder mit TnC oder als ternärer Komplex mit sowohl cTnT als auch TnC ausgeschüttet. Nur drei Prozent lassen sich als freies cTnI im Serum nachweisen und haben eine extrem kurze Halbwertszeit von ca. 5 Minuten.^(34, 74)

Zusätzlich zur Phosphorylierung (siehe oben) und Komplexierung des cTnI kann nach Freisetzung auch eine Oxidierung erfolgen. Diese geschieht intramolekular durch Disulfid-Bildung zweier Cystein-Reste.⁽⁷⁴⁾



Sowohl das Carboxy- als auch das aminoternale Ende des Proteins kann durch Proteolyse abgespalten werden. Das Ausmaß der Proteindegradierung könnte dabei mit dem Ausmaß der kardialen Ischämie korrelieren.⁽³⁴⁾

Formiert jedoch das cTnI zusammen mit dem cTnT einen Komplex, so wird das n-terminale Ende (AA 33-110) des cTnI stabil und nicht mehr spaltbar. Dieser Teil des cTnIs wird dann die „stabile Region“ und bietet somit einen idealen Angriffspunkt gegenüber spezifischen Antikörpern.

1.3. Fragestellungen

Wie bereits beschrieben, haben innerhalb der Gruppe der Herzmarker die Troponine verstärkt an Bedeutung gewonnen, weil sie sich als sensitive und spezifische diagnostische Marker einer akuten Schädigung des Myokards erwiesen haben.

Meine Dissertation beschreibt die von mir unter der Betreuung von Oberarzt Privatdozent Dr. Baum am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie durchgeführte Evaluierung eines vor der Markteinführung stehenden Assays zur Detektion von kardialem Troponin I. Diese Studie wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Byk-Sangtec als bizenrische Studie an den klinisch-chemischen Instituten der Technischen Universität München und der Universität Mainz durchgeführt.

Die drei zu prüfenden Hypothesen waren:

1. Der Liaison-cTnI-Assay ist analytisch zuverlässig.
2. Der Liaison-cTnI-Assay ist klinisch zuverlässig.
3. Der Liaison-cTnI-Assay ist mit anderen modernen cTnI/cTnT-Assays vergleichbar.

Um diese Fragen zu beantworten, wurden anhand eines Studienprotokolls entsprechende Experimente geplant und durchgeführt. Zur Beantwortung der zusätzlichen Fragestellung wurde der Assay mit drei weiteren cTnI und einem cTnT-Assay verglichen.



2. Material und Methodik

2.1. Materialien

2.1.1. Versuchsmaterialien

Der hier evaluierte cTnI-Assay wird auf dem Liaison-Analyser durchgeführt. Für die analytische und klinische Evaluierung wurden definierte Patientenseren mit cTnI-Spiegeln aus dem ganzen Spektrum verwendet, im analytischen Teil zusätzlich Kalibratoren sowie Kontrollseren der Firma Byk-Sangtec.

2.1.1.1. Analyser

Der Liaison-Analyser ist ein sogenannter Random Access Analyser zur Durchführung von immunologischen Testungen (siehe auch Abbildung 4). Die Detektion erfolgt luminometrisch. Die Reagenzien zur Durchführung eines Tests sind dabei in einem sog. „Reagenzienintegral“ untergebracht. Der Liaison-Analyser wurde von der Firma Byk-Sangtec in Dietzenbach hergestellt.



Abbildung 4: Liaison-Analyser(76)

Die Proben werden in 12x75 mm Kunststoff-Reagenzgläsern in Zehner-Racks gemessen.



2.1.1.2. Reagenzienintegral

Das Reagenzienintegral Liaison Troponin I besteht aus aneinandergesetzten Behältnissen zur Aufnahme von 2,3 ml magnetischer Suspensionslösung mit Magnetpartikeln, die mit Antikörpern gegen Troponin I beschichtet sind. Das Reagenzienintegral enthält außerdem 23 ml Tracer, bestehend aus einem polyklonalen Ziegen-Anti-Troponin-I Antikörper, der mit Isoluminol markiert ist (siehe Abbildung 5).



Abbildung 5: Beispiel für ein Reagenzienintegral.(76)

Bis auf die Messungen für die Lagerungsstabilität wurden Reagenzienintegrale der Charge A verwendet. Für die Lagerungsstabilität wurde die kommerziell verfügbare Charge B eingesetzt.

Ein einzelnes Reagenzienintegral reicht für insgesamt 100 Einzelmessungen aus.

2.1.1.3. Kalibratoren

Kalibriert wurde das Gerät mit lyophilisierten Liaison Troponin I Cal – Kalibratoren „low“ und „high“ der Firma Byk-Sangtec. Diese Kalibratoren wurden in 1 ml destilliertem Wasser aufgelöst und auf gleiche Weise wie Patientenseren auf dem Analyser getestet. Sie reichen für maximal 8 einzelne Bestimmungen aus. Die rekonstituierten Kalibratoren wurden maximal 2 Wochen bei +4°C gelagert.

2.1.1.4. Kontrollseren zur Qualitätskontrolle

Als Kontrollseren zur Qualitätskontrolle wurden insgesamt acht kommerziell erhältliche Produkte eingesetzt. Dies waren zum einen die von der Firma Byk-Sangtec produzierten Liaison Kontrollseren mit fünf Abstufungen:



- LL (low-low: sehr niedrige Troponin-I-Werte, #9375-LL).
- L (low: niedrige Troponin-I-Werte, #9375-L)
- M (medium: mittlere Troponin-I-Werte, #9375-M)
- H (high: hohe Troponin-I-Werte, #9375-H)
- HH (high-high: sehr hohe Troponin-I-Werte, #9375-HH).

Diese lyophilisierten Kontrollseren wurden bei +4°C aufbewahrt und bei Verwendung mit 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituiert. Die rekonstituierten Kontrollen wurden nicht länger als 1 Woche bei +4°C gelagert.

Der Zielbereich der Liaison Kontrollseren ist in Tabelle 1 zusammengefasst:

Tabelle 1: Zielbereiche der Liaison Kontrollseren

Kontrollserum	LL	L	M	H	HH
Zielbereich (ng/ml)	0,07-0,11	0,14-0,48	0,76-1,14	7,10-10,10	58,90-83,40

Zum anderen wurden auch die von der Firma BioRad, München hergestellten Kontrollmarker Liquicheck® der Abstufungen L1, L2, L3 (#30641, #30642, #30643) als Kontrollseren eingesetzt. Die 3 ml enthaltenden Fläschchen wurden bei -20°C aufbewahrt.

Zielbereiche für die Liquicheck®-Seren werden in Tabelle 2 zusammengefasst:

Tabelle 2: Zielbereiche der Liquicheck® Kontrollseren

Kontrollserum	L1	L2	L3
Zielbereich (ng/ml)	0,37-0,97	5,95-15,74	29,98-57,98

Alle Kontrollseren wurden auf gleiche Weise wie Patientenseren im Analyser gemessen.

2.1.1.5. Sonstiges Versuchsmaterial

Innerhalb des analytischen Versuchsteils wurde ein Liaison Troponin I Diluent verwendet, welches in 10 ml Fläschchen von der Firma Byk-Sangtec zur Verfügung gestellt wurde.

Außerdem wurde in den Bestimmungen zum Einfluss der endogenen Interferenzen ein Liaison Troponin-I-Konzentrat („spike solution“) eingesetzt, welches in lyophilisierter Form von der Firma Byk-Sangtec zur Verfügung gestellt wurde und zum Auflösen mit 300 µl destilliertem Wasser bestimmt war.

2.1.1.6. Mit dem Liaison verglichene Analyser

Zum Methodenvergleich und zur Überprüfung der klinischen Signifikanz des Liaison Troponin I Assays wurden folgende Assays herangezogen:

- Dimension Troponin I der Firma Dade Behring
- Stratus Troponin I der Firma Dade Behring
- Immulite Troponin I der Firma DPC Biermann
- Elecsys Troponin T der Firma Roche Diagnostics.



2.1.2. Analytisches Probenmaterial von Patienten

Die verwendeten Patientenproben wurden entweder im Klinikum rechts der Isar, im Deutschen Herzzentrum oder am Universitätsklinikum Mainz abgenommen und bei -80°C gelagert, falls im Protokoll nicht ausdrücklich frische Seren gefordert wurden. Dabei handelte es sich um für Routineuntersuchungen abgenommene Materialien, die nach Abschluss der Routineuntersuchungen zur Entsorgung bereitstanden.

2.1.2.1. Verdünnungslinearität

Das Testmaterial besteht aus sechs von Patienten abgenommenen Serumproben mit ursprünglichen cTnI-Konzentrationen zwischen 20-80 ng/ml. Jedes Probenvolumen entsprach einer Menge $\geq 1,25$ ml.

Dieser Experiments-Abschnitt wurde nur in München durchgeführt.

2.1.2.2. Funktionelle Sensitivität

Hierfür wurden sechs Serumproben mit cTnI-Konzentration von 2-5 ng/ml und mindestens 3 ml Volumen pro Probe eingesetzt.

2.1.2.3. Einfluss von Probenmaterial

Hierfür wurden verwendet:

- Gepaarte Blutproben als Serum und als Citrat-Plasma (18 in München, 19 in Mainz)
 - Gepaarte Blutproben als Serum und als EDTA-Plasma (18 in München, 27 in Mainz)
 - Gepaarte Blutproben als Serum und als Heparin-Plasma (keine in München, 24 in Mainz).
- Die Troponinwerte dieser Blutproben sollten über dem nach der „In-Haus-Methode“ gemessenen Cut-Off Wert liegen ($\pm 10\%$).

Während die Citrat- und EDTA-Plasmen von Patienten aus dem Krankenhaus rechts der Isar, dem Deutschen Herzzentrum oder der Uniklinik Mainz stammten, kamen die Heparinproben ausschließlich von der Uniklinik Mainz. Ein Teil hiervon wurde zur Messung nach München versandt.

2.1.2.4. Einfluss von Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur

Für den ersten Teil dieser Bestimmung wurden 10 Seren mit breiter Verteilung von cTnI über die ganze Konzentrationsspanne aus der täglichen Routine herausgesucht. Das Mindestvolumen je Probe war 1,6 ml.

Für den zweiten Teil des Experiments wurden 49 willkürlich herausgesuchte klinische Patientenserum mit verschiedensten cTn-Werten herangezogen.



2.1.2.5. Einfluss endogener Störsubstanzen

Es wurden jeweils fünf Serumproben (je >1,5 ml) aus folgenden vier Gruppen verwendet:

- 5 nicht-hämolytische, nicht-lipämische, nicht-ikterische Seren
- 5 hämolytische Seren ($Hb \geq 50 \text{ mg/dl}$)
- 5 lipämische Seren (Triglyceride $\geq 300 \text{ mg/dl}$)
- 5 ikterische Seren (Bilirubin $\geq 3,5 \text{ mg/dl}$).

Zusätzlich wurden vier Seren von Patienten mit Paraproteinen auf Interferenzen untersucht.

2.1.2.6. Referenzbereich

Um für den Liaison cTnI und die Vergleichsassays einen Referenzbereich zu ermitteln, wurde Serum von Personen ohne Hinweis auf das Vorliegen einer Herzerkrankung herangezogen. In der Tabelle 3 sind diese genauer charakterisiert.

Tabelle 3: Materialübersicht „Gesunde Patienten ohne Herzkrankheiten“ für Referenzbereich

Anzahl Patienten	291 herzgesunde Personen, davon 141 in München und 150 in Mainz mit ausgeglichenem Geschlechterverhältnis (insgesamt 148 m/143 w)
Einschlusskriterien	> 40 Jahre, gesund
Ausschlusskriterien	Herzkrankheiten oder Myopathien (Ischämie, Herzversagen, Kardiomyopathie), Niereninsuffizienz
Details	Die 141 Serumproben stammen in München hauptsächlich von Patienten aus der Augenklinik; die 150 in Mainz von Blutspendern.
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter und Geschlecht

2.1.2.7. Analytischer Methodenvergleich

Es wurden die im klinischen Versuchsteil beschriebenen Patientenserumproben verwendet.

2.1.3. Klinisches Probenmaterial

Die bei der klinischen Evaluierung zu messenden Sera wurden im Krankenhaus rechts der Isar und dem Deutschen Herzzentrum der Technischen Universität München, sowie an der Universitätsklinik Mainz gemäß den Anforderungen an die entsprechenden Patientengruppen abgenommen und anschließend bei $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Alle Patientenproben waren bis auf den Versuchsteil „Einfluss des Probenmaterials“ Serumproben. Die Seren wurden mit einer eindeutigen und anonymisierten Identifikationsnummer versehen und aufbewahrt. Der Umgang mit dem klinischen Probenmaterial wurde entsprechend den Richtlinien für wissenschaftliche Studien des Klinikums rechts der Isar sowie der Universitätsklinik Mainz durchgeführt.



Nachfolgende Übersicht stellt die getesteten Patientengruppen dar. Diese wurden in München und Mainz jeweils nach einem analogen Schema eingeteilt. Dabei wurden nicht alle Gruppen an beiden Zentren durchgeführt.

- Patienten mit elektrokardiographisch bestätigtem AMI
- Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK), Angina pectoris oder Non-Q-Wave AMI
 - Patienten mit stabiler Angina pectoris oder asymptomatischer KHK
 - Patienten mit instabiler Angina pectoris oder Non-Q-Wave-Infarkt
- Patienten mit herzchirurgischem Eingriff mit
 - Aortenklappen-OP
 - Koronarer Bypass-Operation mit extrakorporaler Zirkulation
 - Koronarer Bypass-Operation ohne extrakorporale Zirkulation
- Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz
- Patienten mit V. a. Myopathie, darunter auch Patienten mit maligner Hyperthermie
- Patienten mit chronischer Muskeldystrophie Typ Duchenne
- Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis
- Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativem Eingriff.

2.1.3.1. Patienten mit bestätigtem AMI

Tabelle 4: Materialübersicht „Patienten mit AMI“

Anzahl Patienten	22 Patienten
Einschlusskriterien	Patienten mit (nach) akutem Myokardinfarkt (innerhalb von 12 h nach Auftritt der Symptome); WHO-Kriterien für AMI und/oder angiographisch bestätigte Diagnose
Ausschlusskriterien	-
Details	Nur in München durchgeführt 2-4 Proben pro Patient innerhalb 24 h nach Krankenhaus-Aufnahme
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Diagnose, Zeitdauer nach Auftritt der Symptome, Zeitpunkt der Probenentnahme

2.1.3.2. Patienten mit stabiler Angina pectoris, asymptomatischer KHK, instabiler Angina pectoris und Non-Q-Wave Infarkt

Tabelle 5: Materialübersicht „Patienten mit Angina pectoris, KHK oder Non-Q-Wave AMI“

Anzahl Patienten	115 Patienten, davon <ul style="list-style-type: none"> • 32 Patienten mit stabiler Angina pectoris • 19 Patienten mit asymptomatischer KHK sowie <ul style="list-style-type: none"> • 45 Patienten mit instabiler Angina pectoris • 19 Patienten mit non-Q-wave Infarkt
Einschlusskriterien	Angiographisch bestätigte Stenose/Verschluss zusammen mit korrespondierenden klinischen Befunden (EKG, Ergometrie, Anamnese)



Ausschlusskriterien	2-4 Proben pro Patient innerhalb von 24 h nach Aufnahme ins Krankenhaus (vor Erweiterung/Öffnung des Verschlusses; 4, 12 und 24 h nach Öffnung)
Details	Auswertbare Patienten, davon Stabile Angina pectoris: 20 aus Mainz, 12 aus München <ul style="list-style-type: none"> • Asymptomatische KHK: 19 aus München • Instabile Angina pectoris: 20 aus Mainz, 25 aus München • Non-Q-Wave-Infarkt: 19 aus Mainz
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Diagnose, Zeitdauer nach Auftritt der Symptome, Zeitpunkt der Probenentnahme

2.1.3.3. Patienten mit herzchirurgischem Eingriff

Tabelle 6: Materialübersicht „Patienten mit herzchirurgischem Eingriff“

Anzahl Patienten	24 Patienten, davon <ul style="list-style-type: none"> • 9 nach Aortenklappen-OP • 10 nach koronarer Bypass-Operation mit extrakorp. Zirkulation • 5 nach koronarer Bypass-Operation ohne extrakorp. Zirkulation
Einschlusskriterien	-
Ausschlusskriterien	Angina pectoris oder AMI innerhalb der vorhergehenden 6 Monate
Details	Nur in Mainz durchgeführt. Probenentnahme vor Anästhesie, vor Abklemmen der Aorta; anschließend 6, 12, 24 und 48 h nach Abklemmen der Aorta
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Diagnose, Zeitpunkt der Probenentnahme, Art des operativen Eingriffs

2.1.3.4. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz

Tabelle 7: Materialübersicht „Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz“

Anzahl Patienten	35 Patienten
Einschlusskriterien	Langzeit-Dialyse
Ausschlusskriterien	Begleitende Herzerkrankungen oder Myopathien
Details	20 aus München, 15 aus Mainz
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht

2.1.3.5. Patienten mit V. a. Myopathie und maligner Hyperthermie

Tabelle 8: Materialübersicht „Patienten mit V. a. Myopathie und maligner Hyperthermie“

Anzahl Patienten	18 Patienten, davon 5 Patienten mit maligner Hyperthermie
Einschlusskriterien	-



Ausschlusskriterien	Begleitende Herzerkrankungen
Details	Nur in München durchgeführt
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht

2.1.3.6. Patienten mit chronischer Muskeldystrophie Typ Duchenne

Tabelle 9: Materialübersicht „Patienten mit chronischer Myopathie“

Anzahl Patienten	10 Patienten mit chronischer Muskeldystrophie Typ Duchenne
Einschlusskriterien	CK-Aktivität > 1.000 U/l; keine begleitenden Herzerkrankungen
Ausschlusskriterien	-
Details	Nur in Mainz durchgeführt
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Diagnose

2.1.3.7. Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis

Tabelle 10: Materialübersicht „Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis“

Anzahl Patienten	12 Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis
Einschlusskriterien	Histologisch gesicherte Diagnose
Ausschlusskriterien	Keine begleitenden Herzerkrankungen
Details	Nur in München durchgeführt
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Diagnose

2.1.3.8. Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativem Eingriff

Tabelle 11: Materialübersicht „Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativen Eingriff“

Anzahl Patienten	20 Patienten
Einschlusskriterien	Eingriff am gleichen Tag
Ausschlusskriterien	-
Details	Nur in München durchgeführt. Probenabnahme präoperativ und 6-8 h postoperativ
Methoden	Liaison Troponin I und „In-Haus-Methode“
Klinische Daten	Alter, Geschlecht, Zeitpunkt der Probenabnahme



2.2. Methodik

2.2.1. Grundlegende Methodik

2.2.1.1. Prinzipielle Funktionsweise des Assays

Der Liaison Troponin I Assay ist ein Immunolumineszenz-Assay, der nach dem sogenannten Sandwich-Prinzip funktioniert.⁽³⁹⁾

Die solide Phase (Magnetpartikel) ist mit einem monoklonalen Maus-Antikörper gegen cTnI beschichtet. Der Nachweisstoff (Tracer) ist an einen polyklonalen anti-cTnI Ziegenantikörper gebunden. Während der Inkubation binden beide Antikörper gleichzeitig an das in der Serumprobe vorhandene cTnI. Dabei werden 100 µl Probenvolumen mit 200 µl Tracer und 20 µl Magnetpartikeln versetzt. Nach der zehn Minuten dauernden Inkubationsphase wird ein Magnetfeld angelegt und der nicht gebundene Tracer gewaschen. Anschließend wird die Starter-Reagenz hinzugefügt, um die Chemilumineszenz-Reaktion zu starten. Das Lichtsignal wird in relativen Lichteinheiten gemessen und ist zum cTnI-Gehalt der Serumprobe direkt proportional. Die Zeitdauer bis zum ersten Messergebnis beträgt ca. 17 Minuten, die eigentliche Messung dauert dabei nur 3 Sekunden. Aufeinanderfolgende Messungen werden im Abstand von 20 Sekunden durchgeführt und das Ergebnis anschließend am Bildschirm ausgegeben und bei Bedarf ausgedruckt.

Die verwendeten Antikörper sind gegen Epitope in der stabilen Region des cTnI gerichtet. Diese befinden sich zwischen den Aminosäuren 33 und 110.⁽³⁹⁾

Der als Tracer verwendete polyklonale Ziegen-Antikörper bindet an die AS 27-39. Der für die feste Phase benutzte monoklonale Maus-Antikörper ist gegen den C-terminalen Abschnitt der stabilen Region des cTnI gerichtet (AS 80-110).

Pro cTnI-Bestimmung wird ein Probenvolumen von 100 µl benötigt. Ein zusätzliches Totvolumen von 100 µl, sowie ein Toleranzvolumen von weiteren 100 µl ergeben das empfohlene Minimalvolumen von 300 µl pro Patientenserum.

2.2.1.2. Ablauf einer Versuchsreihe

Für jedes neu verwendete cTnI-Reagenzienintegral muss eine Kalibration erfolgen. Die Kalibration des Assays erfolgte mit den beiden vorhandenen Kalibratoren L und H in jeweils dreifacher Bestimmung. Um während der Studie eine standardisierte Qualitätskontrolle zu gewährleisten, wurde bei der Verwendung jedes Integrals eine Qualitätskontrolle mit allen fünf Kontrollseren durchgeführt, wobei diese Bestimmungen jeweils im Duplikat durchgeführt wurden.



Anschließend konnten 40 Proben jeweils im Duplikat bestimmt werden, gefolgt von zwei im Duplikat gemessenen Qualitätskontroll-Seren (K-L und K-H). Diese letzten beiden Qualitätskontrollen dienen der Erkennung einer eventuellen Drift innerhalb einer Messreihe. Eine typische Messreihe sieht dann wie in der Tabelle 12 aufgezeichnet aus:

Tabelle 12: Übersicht typische Messreihe auf Liaison Troponin I
Abkürzungen:

Kal 0: Kalibrator low (niedriger Spiegel)

Kal 1: Kalibrator high (hoher Spiegel)

K-L: Kontrollserum low (#9375-L)

K-H: Kontrollserum high (#9375-H)

K-HH: Kontrollserum very high (#9375-HH)

K-M: Kontrollserum medium (#9375-M)

K-LL: Kontrollserum very low (#9375-LL)

Liaison Troponin I									
Kal 0	Kal 1	K-L	K-H	K-HH	K-M	K-LL	40 Proben	K-L	K-H
Je dreifach 1-6		Duplikate 7-16				Duplikate 17-96		Duplikate 97-100	
Qualitätskontrolle								Qualitätskontrolle	

Wurden in manchen Teilen der Studie weniger als 40 Proben innerhalb einer Reihe bestimmt, so wurden die freien Plätze mit Leerproben aufgefüllt, um die Serienlänge konstant zu halten. Die Ergebnisse wurden sofort nach Vervollständigung der Messreihe auf Diskette gespeichert. Zusätzlich wurden sie auf Papier ausgedruckt.

Die Ergebnisse des klinischen Teils wurden zusätzlich auch in einer aggregierten Excel-Form gespeichert.

2.2.2. Analytische Evaluierung

Ziel der analytischen Evaluation des Liaison cTnI Assays war das Testen der Hypothese, dass der Assay analytisch zuverlässig ist. Die Evaluation bestand aus folgenden Teilen.

- Präzisionsbestimmung (intra- und inter-assay) – München und Mainz
- Verdünnungslinearität – nur München
- High-Dose-Hook Effekt – nur München
- Funktionelle Sensitivität – München und Mainz
- Einfluss von Probenmaterial – München und Mainz
- Lagerungsdauer und -temperatur – München und Mainz
- Einfluss endogener Störsubstanzen – nur München.

2.2.2.1. Intra-Assay Präzisionsbestimmung

Prinzipiell unterscheidet man zwei Arten der Präzision: die *intra*- und die *inter*-assay Präzision. Bei der **intra-assay Präzision** wird der Variationskoeffizient bei aufeinanderfolgenden Messungen des gleichen Serums *innerhalb* einer Versuchsreihe gemessen.



Die bereits beschriebenen lyophilisierten Qualitätskontrollseren (LL, L, M, H, HH und L1, L2, L3) mit verschiedenen Troponinkonzentrationen wurden hierzu mit je 3 ml destilliertem Wasser aufgelöst und nach dem in Tabelle 13 dargestellten Ladeschema als Einzelwerte gemessen:

Tabelle 13: Ladeschema für die Intra-Assay-Präzisionsbestimmung

Rack → Nr	1			2			3			...	10		
	Pos. in Rack	Probe	Ergebn. Nr.	Pos. in Rack	Probe	Ergebn. Nr.	Pos. in Rack	Probe	Ergebn. Nr.	Pos. in Rack	Probe	Ergebn. Nr.	
	1	L1	7	1	L1	15	1	L1	23		1	L1	86
	2	L2	8	2	L2	16	2	L2	24		2	L2	87
	3	L3	9	3	L3	17	3	L3	25		3	L3	88
	4	LL	10	4	LL	18	4	LL	26		4	LL	89
	5	L	11	5	L	19	5	L	27	...	5	L	90
	6	M	12	6	M	20	6	M	28		6	M	91
	7	H	13	7	H	21	7	H	29		7	H	92
	8	HH	14	8	HH	22	8	HH	30		8	HH	93
	9			9			9				9		
	10			10			10				10		

Somit wurde innerhalb einer Versuchsreihe zehn Mal der Wert von acht identischen Kontrollsera gemessen.

2.2.2.2. Inter-Assay-Präzision

Um die **Inter-Assay Präzision** zu ermitteln, wird ein Kontrollserum in mehreren unabhängigen Versuchsreihen gemessen. Hieraus wird dann der Variationskoeffizient der Messwertstreuung berechnet.

Um die inter-assay Präzision des Liaison cTnI-Assay zu bestimmen, wurden die Wertabweichungen der nach Protokollvorgabe gemessenen Kontrollseren der verschiedenen Messläufe zwischen dem 20.11.2001 und 2.2.2002 analysiert.

2.2.2.3. Verdünnungslinearität

Beim Testen dieser Eigenschaft geht es darum, eine Serumprobe mit relativ hoher cTnI-Konzentration in definierten Schritten zu verdünnen um dann bestimmen zu können, ob die gemessenen Werte den Gesetzen der Linearität folgen.



Die Verdünnung von sechs Patientenproben wurde (wie in Tabelle 14 beschrieben) mit Liaison Troponin I Diluent durchgeführt:

Tabelle 14: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Verdünnungslinearität“

Probennummer X (von 1 bis 6)						
Konzentrationsstufe	1	2	3	4	5	6
Relative Konzentration des Patientenserums	1	0,8	0,4	0,2	0,1	0
Serumvolumen (µl)	400	320	160	80	40	-
Zusatz von Diluent in µl	-	80	240	320	360	400

Diese sechs mal sechs Proben wurden anschließend in einer Versuchsreihe gemessen.

2.2.2.4. Funktionelle Sensitivität

Um die funktionelle Sensitivität zu bestimmen, wurden Patientenproben verdünnt und die cTnI-Konzentration in jeder Verdünnung bestimmt. Diejenige cTnI-Konzentration, die in der Inter-Assay-Variabilität einen Variationskoeffizient von 20% hat, wird als funktionelle Sensitivität bezeichnet. Man kann sie auch als funktionelle Nachweisgrenze bezeichnen.

Die fünf Patientenproben wurden entsprechend folgendem Protokoll (Tabelle 15) mit dem Liaison Troponin I Diluent versetzt:

Tabelle 15: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Funktionelle Sensitivität“

Probennummer X (von 1 bis 5)						
Konzentrationsstufe	1	2	3	4	5	6
Verdünnungsquotient	1	1:3	1:9	1:27	1:81	0
Serumvolumen (ml)	3	1	1	1	1	-
+ ... Verdünner (ml)	-	2	2	2	2	2
Volumen für nächste Verdünnung. (ml)	1	1	1	1	-	-
Probenvolumen (ml)	2	2	2	2	2	2
Aliquotierung des Probenvolumens in	5x0,4 ml	5x0,4 ml	5x0,4 ml	5x0,4 ml	5x0,4 ml	5x0,4 ml

Die sechs verschiedenen Konzentrationen der fünf Proben wurden wiederum in jeweils fünf 0,4 ml Aliquote A, B, C, D und E geteilt. Die fünf mal 30 Aliquote wurden bei -20°C eingefroren. Daraufhin wurden die Aliquote an fünf unterschiedlichen Tagen (Tag A bis Tag E) gemessen. Auf diese Weise konnte die Präzision der verschiedenen Konzentrationen anhand von jeweils fünf Ergebnissen gemessen an fünf unterschiedlichen Tagen berechnet werden.



2.2.2.5. Einfluss von Probenmaterial

Zur Bestimmung von cTnI können verschiedene Probenmaterialien (Serum, EDTA-Plasma, Citrat-Plasma, Heparin-Plasma, usw.) verwendet werden. Dabei kann das Probenmaterial Auswirkungen auf die Messergebnisse haben. Es wurde untersucht, ob Serum im Vergleich zu EDTA-Plasma, Citrat-Plasma oder Heparin-Plasma unterschiedliche Ergebnisse liefert. Dazu wurden in München und Mainz Serum/EDTA-Plasma und Serum/Citrat-Plasma analysiert. Zusätzlich wurde in Mainz ein Vergleich Serum/Heparin-Plasma durchgeführt.

2.2.2.6. Einfluss von Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur

Ein wesentliches Qualitätsmerkmal in der labormedizinischen Diagnostik ist die Kenntnis über den Einfluss von Lagerungsbedingungen auf den Analyten.

Der erste Teil dieses Experiments bestand daraus, jede Serumprobe in jeweils vier Portionen zu 0,4 ml zu aliquotieren (Aliquot A, B, C, und D) und folgenden unterschiedlichen Lagerungsbedingungen zu unterwerfen:

- Aliquot A: Lagerung für 8 h bei 2-8°C, anschließend Aufbewahrung bei -20°C
- Aliquot B: Lagerung für 1 d bei Raumtemperatur, anschließend Aufbewahrung bei -20°C
- Aliquot C: Lagerung für 2 d bei -20°C, einstündiges Auftauen bei Raumtemperatur, anschließend Aufbewahrung bei -20°C
- Aliquot D: Lagerung für 7 d bei 2-8°C, anschließend Aufbewahrung bei -20°C.

Nachdem alle Proben mindestens einen Tag bei -20°C gelagert waren, wurden sie aufgetaut und in einer Versuchsreihe gemessen.

Der zweite Teil des Experiments bestand darin, die Langzeitstabilität des klinischen Probenmaterials zu untersuchen. Dazu wurden Patientenserum mit verschiedensten cTnI-Werten nach > 24 Monaten Lagerung bei -20 °C aufgetaut und auf dem Liaison cTnI noch einmal gemessen. Die gemessenen Werte wurden dann mit den im frischen Material gemessenen Werten verglichen.

2.2.2.7. Einfluss endogener Störsubstanzen

Finden sich in einer Serumprobe extrem hohe Werte von möglichen Interferenzmaterialien wie zum Beispiel Triglyceride oder Bilirubin, kann dies die Messergebnisse eines Assays beeinflussen bzw. stören.

Die hier untersuchten vier Gruppen beinhalteten jeweils fünf hämolytische, lipämische und ikterische Seren. Zum Vergleich wurden fünf Serumproben ohne potenzielle Störsubstanzen untersucht. Dieser Versuchsteil wurde nur in München durchgeführt.



Die Seren wurden nach dem in Tabelle 16 dargestelltem Schema mittels Liaison Troponin-I-Konzentrat („spike solution“) mit cTnI angereichert und dann gegebenenfalls mit dem Liaison Diluent verdünnt.

Tabelle 16: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Einfluss endogener Störsubstanzen“

Probe:	ohne cTnI	angereichert	angereichert, 1:2	angereichert, 1:4
Probenvolumen	1500 µl	1000 µl	500 µl	500 µl
Zusatz von Verdünner	-	-	500 µl	500 µl
Zusatz von cTnI-Konzentrat	-	10 µl	-	-
Volumen für nächsten Schritt	1000µl	500 µl	500 µl	-
Restvolumen für Messung	500 µl	510 µl	500 µl	1000µl

Somit erhielten wir für jede der vier verschiedenen Gruppen (hämolytisch, lipämisch, ikterisch, normal):

- Fünf Seren ohne cTnI jedoch mit hohem Gehalt an Interferenzmaterial
- Fünf Seren mit cTnI und hohem Gehalt an Interferenzmaterial
- Fünf Seren mit sowohl cTnI als auch Interferenzmaterial in Verdünnung 1:2
- Fünf Seren mit sowohl cTnI als auch Interferenzmaterial in Verdünnung 1:4.

Diese vier mal 20 Proben wurden in zwei Versuchsserien gemessen.

2.2.2.8. Referenzwerte gesunder Personen ohne Herzkrankheiten

Die Proben der gesunden Personen wurden analog dem allgemeinen Schema auf dem Liaison Assay gemessen. Zusätzlich wurden die Proben mit den „In-Haus-Methoden“ in München und Mainz gemessen und gegenübergestellt.

2.2.2.9. Analytischer Methodenvergleich

Die während des klinischen Teils mittels mehrerer Assays gemessenen Seren wurden retrospektiv ausgewertet. Ziel war es, Korrelationen zwischen den einzelnen Assays zu finden. Um Korrelationen im wichtigeren, niedrigen Messbereich zu finden, wurden die Berechnungen auch für den niedrigen Messbereich (< 0,5 ng/ml) durchgeführt.

Es wurden für Elecsys und Dimension je 85 Zwillingsproben, für den Immulite insgesamt 120 Parallelmessungen ausgewertet.



2.2.3. Klinische Evaluierung

Die verschiedenen klinischen Patientengruppen wurden unter Einhaltung der unter „2.2.1.2 Ablauf einer Versuchsreihe“ beschriebenen Vorgaben gemessen. Es wurde versucht, Proben aus einer Patientengruppe soweit wie möglich auf dem gleichen Integral zu messen. Soweit genug Probenmaterial vorhanden war, wurden auch Messungen auf den Vergleichsgeräten (Dimension Troponin I, Stratus Troponin I, Immulite Troponin I und Elecsys Troponin T) durchgeführt.

2.3. Statistische Methodik

Zur statistischen Auswertung wurde Microsoft Excel 2000® und Analyse-It® für Microsoft Excel verwendet. Um das Liaison cTnI mit den anderen Methoden zu vergleichen, wurde die Methode nach Passing und Bablok verwendet. Trendgraden wurden je nach Darstellungsart linear, logarithmisch oder potenziell berechnet und dargestellt. Zur Erkennung der diagnostischen Effizienz im Vergleich zu anderen Assays wurden Vier-Felder-Tafeln verwendet. Zur Berechnung der Korrelationen zwischen den Streuungen der Modellparameter und der Ergebnisstreuung wurde der Bravais-Pearson Koeffizient (kurz Pearson-Koeffizient) in Verbindung mit Konfidenzintervallen eingesetzt.



3. Ergebnisse

3.1. Analytische Evaluierung

3.1.1. Intra-Assay-Präzision

In Tabelle 17 sind die Ergebnisse der Intra-Assay Präzisionsuntersuchungen aufgelistet.

Tabelle 17: München und Mainz; Intra-Assay-Präzision gemessen an acht Kontrollseren L1-L3 und LL-HH.
(* nd = nicht durchgeführt)

	Kontrollsera							
München	LL	L	L1	M	L2	H	L3	HH
N	10	10	10	10	10	10	10	10
Mittelwert (ng/ml)	0,10	0,32	0,61	0,88	11,99	4,73	46,90	67,87
SD (ng/ml)	0,01	0,01	0,04	0,02	0,51	0,08	0,98	2,17
CV (%)	7,11	3,40	5,96	2,13	4,26	1,64	2,09	3,19
Mainz	LL	L	L1	M	L2	H	L3	HH
N	9	nd*	10	9	10	10	10	10
Mittelwert (ng/ml)	0,12	nd	0,49	1,09	9,49	9,48	39,63	78,41
SD (ng/ml)	0,01	nd	0,01	0,04	0,46	0,22	2,40	2,71
CV (%)	4,34	nd	13,55	3,45	4,82	2,30	6,07	3,50
Zielbereich (ng/ml)	0,07- 0,11	0,14- 0,48	0,37- 0,97	0,76- 1,14	5,95- 15,74	7,10- 10,10	29,98- 57,98	58,90- 83,40

Bis auf den Variationskoeffizienten (CV) von L1 aus Mainz liegen alle CVs unter 10%. Das arithmetische Mittel der Münchner CVs für die Intra-Assay-Präzision liegt bei 3,73% (Bereich von 1,64%-7,11%), der Durchschnitt der CVs aus Mainz beträgt 5,43% (Bereich von 2,30%-13,55%). Dabei ist die Präzision im tiefen Bereich ungünstiger als im hohen Messbereich.

Positionsabhängige Driftanalyse

Um festzustellen, ob eine positionsabhängige Drift vorliegt, wurde berechnet, ob es etwaige – mit der Messreihenfolge zusammenhängende – Trends innerhalb der zehn Messungen einer Versuchsreihe gibt (steigend oder fallend). Anschließend wurde die Steigung und die Korrelation zwischen den einzelnen Messergebnissen sowie der jeweiligen Messposition errechnet und in Tabelle 18 dargestellt.



Tabelle 18: Ergebnisse zur Analyse einer evtl. vorhandenen positionsabhängigen Drift

München	L1	L2	L3	LL	L	M	H	HH
Steigung	0,74	0,86	0,27	0,55	0,88	-0,03	-0,11	-0,25
Korrelation	0,38	0,61	0,40	0,23	0,78	-0,03	-0,20	-0,23
Mainz	L1	L2	L3	LL	L	M	H	HH
Steigung	1,15	0,88	1,13	-4,88	1,79	5,92	0,55	0,26
Korrelation	0,25	0,56	0,56	-0,46	0,52	0,56	0,73	0,23

Es ist keine Korrelation zwischen Position und Messwert erkennbar. Somit ist auch keine positionsabhängige Drift vorhanden.

3.1.2. Inter-Assay-Präzision

In München wurden die fünf identischen Kontrollseren in zehn Messungen an acht unterschiedlichen Messtagen zwischen dem 20.11.2001 und dem 16.1.2002 gemessen. Die 16 in Mainz durchgeführten Messungen an elf Messtagen fanden zwischen dem 27.11.2001 und dem 2.2.2002 statt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

Tabelle 19: Inter-Assay-Präzision des Liaison Troponin I Assays in München und Mainz

* nd = nicht durchgeführt

	Kontrollsera				
München	LL	L	M	H	HH
N	10	8	10	10	10
Mittelw. (ng/ml)	0,09	0,27	0,86	4,6	67,5
SD (ng/ml)	0,009	0,028	0,038	0,289	5,04
CV (%)	10,45	10,06	4,36	6,30	7,47
Mainz	LL	L	M	H	HH
N	16	nd*	16	16	16
Mittelw. (ng/ml)	0,11	nd*	0,96	8,5	70,3
SD (ng/ml)	0,015	nd*	0,053	0,441	4,94
CV (%)	13,85	nd*	5,50	5,17	7,03
Zielbereich (ng/ml)	0,07-0,11	0,14-0,48	0,76-1,14	7,1-10,1	58,9-83,4

In München lagen die Variationskoeffizienten (CVs) zwischen 4,36% und 10,45% mit einem Durchschnitt von 7,73%. Der Durchschnitt der Mainzer CVs lag bei 7,88%, die einzelnen Werte umfassen einen Bereich von 5,17% bis 13,85%. Eine gemeinsame Auswertung war nicht möglich, da an beiden Studienzentren unterschiedliche Kontrollchargen verwendet wurden.



3.1.3. Verdünnungslinearität

In Tabelle 20 sind die Messwerte der sechs Serumproben (S1-S6) nach linearer Verdünnung aufgetragen. Die jeweiligen relativen Abweichungen des gemessenen zum kalkulierten Messwert sind in Prozent dargestellt.

Außerdem ist die durchschnittliche prozentuale Abweichung je Serum angegeben.

Tabelle 20: Werte München – Verdünnungslinearität
gemessen an sechs mit cTnI hochangereicherten Patientenseren.

Probe	Relative Verdünnung	Gemessene Konzentrat.	Konz. CV	Erwarteter Wert	Recovery (%)	Rel. Abwchg. zu 100%	Durchschn. % Abwchg.
S1	1	625.1	2.6	625.10	100.0		7.2
	0.8	482.2	1.4	500.12	96.4	3.6	
	0.4	230.6	3.8	250.17	92.2	7.8	
	0.2	114.6	0.4	125.20	91.5	8.5	
	0.1	57.05	0.5	62.71	91.0	9.0	
	0	0.22	77.1	-	-		
S2	1	296.5	0.1	296.50	100.0		2.9
	0.8	256.4	1	237.23	108.1	8.1	
	0.4	121.5	0.8	118.70	102.4	2.4	
	0.2	59.35	2.8	59.44	99.9	0.1	
	0.1	30.06	1.4	29.80	100.9	0.9	
	0	0.17	81.4	-	-		
S3	1	588.4	0.3	588.40	100.0		9.2
	0.8	445.8	3.2	470.74	94.7	5.3	
	0.4	218.1	3.9	235.42	92.6	7.4	
	0.2	102.4	1.3	117.76	87.0	13.0	
	0.1	52.36	4.5	58.93	88.9	11.1	
	0	0.1	69.1	-	-		
S4	1	704.5	3.4	704.50	100.0		3.4
	0.8	605.6	4.4	563.62	107.4	7.4	
	0.4	275.6	1.9	281.87	97.8	2.2	
	0.2	138.7	0.3	140.99	98.4	1.6	
	0.1	72.25	2	70.55	102.4	2.4	
	0	0.11	15.1	-	-		
S5	1	1027	0	1027.00	100.0		6.1
	0.8	976.1	0.3	821.63	118.8	18.8	
	0.4	416.8	0.8	410.90	101.4	1.4	
	0.2	202.1	2.5	205.54	98.3	1.7	
	0.1	105.4	1.1	102.85	102.5	2.5	
	0	0.17	30.9	-	-		
S6	1	230.3	3.6	230.30	100.0		20.6
	0.8	196.3	4.6	184.28	106.5	6.5	
	0.4	113.9	0.7	92.25	123.5	23.5	
	0.2	57.22	0.8	46.24	123.8	23.8	
	0.1	29.84	2.2	23.23	128.5	28.5	
	0	0.22	78.9	-	-		

Der Gesamtdurchschnitt der prozentualen Abweichungen bei der Untersuchung der Verdünnungslinearität beträgt 8,2%.



3.1.4. Funktionelle Sensitivität

Die Messungen der funktionellen Sensitivität lieferten folgende Ergebnisse (Tabelle 21). Dargestellt ist dabei, getrennt nach Zentrum, der Mittelwert aus fünf Messungen.

Tabelle 21: Werte München und Mainz – Funktionelle Sensitivität

MÜNCHEN					MAINZ				
Probe	Verdünnungs-quotient	Mittelwert in ng/ml	SD	CV%	Probe	Verdünnungs-quotient	Mittelwert in ng/ml	SD	CV%
1	1	1,454	0,08	5,4	1	1	1,250	0,036	2,8
	3	0,493	0,04	7,8		3	0,394	0,006	1,6
	9	0,146	0,01	9,1		9	0,125	0,003	2,3
	27	0,052	0,00	9,3		27	0,050	0,009	18,7
	81	0,025	0,01	25,0		81	0,015	0,006	37,7
	0	0,010	0,01	71,3		0	0,007	0,002	36,6
2	1	1,027	0,07	6,8	2	1	1,533	0,049	3,2
	3	0,338	0,03	8,9		3	0,582	0,014	2,4
	9	0,101	0,01	10,1		9	0,170	0,004	2,5
	27	0,044	0,00	7,1		27	0,058	0,003	5,1
	81	0,016	0,01	38,2		81	0,027	0,004	14,2
	0	0,009	0,01	58,3		0	0,006	0,003	40,0
3	1	0,637	0,04	6,1	3	1	1,368	0,048	3,5
	3	0,151	0,01	9,5		3	0,440	0,037	8,5
	9	0,054	0,00	8,7		9	0,139	0,009	6,6
	27	0,021	0,00	16,5		27	0,052	0,007	13,0
	81	0,023	0,01	52,0		81	0,021	0,003	12,6
	0	0,012	0,01	57,8		0	0,008	0,005	63,7
4	1	0,063	0,01	10,1	4	1	0,287	0,008	2,9
	3	0,037	0,01	32,6		3	0,123	0,012	9,4
	9	0,019	0,01	64,9		9	0,055	0,004	6,7
	27	0,014	0,01	68,2		27	0,032	0,011	32,8
	81	0,011	0,01	47,7		81	0,013	0,008	66,2
	0	0,006	0,00	16,0		0	0,007	0,003	48,5
5	1	0,180	0,02	12,0	5	1	0,326	0,015	4,7
	3	0,068	0,01	10,5		3	0,147	0,010	6,8
	9	0,030	0,01	31,7		9	0,070	0,004	5,0
	27	0,014	0,01	38,1		27	0,030	0,006	19,5
	81	0,008	0,00	43,3		81	0,014	0,004	31,9
	0	0,005	0,00	16,6		0	0,008	0,004	49,8
6	1	0,193	0,02	12,8	6	1	0,298	0,014	4,8
	3	0,076	0,01	14,1		3	0,097	0,003	3,0
	9	0,030	0,01	18,1		9	0,043	0,005	11,7
	27	0,015	0,01	39,8		27	0,018	0,008	41,5
	81	0,008	0,00	49,8		81	0,012	0,007	59,0
	0	0,006	0,00	28,9		0	0,008	0,006	73,3

Die Messwerte sind in Abbildung 6 bis Abbildung 8 graphisch dargestellt, wobei in Abbildung 6 und Abbildung 7 nur die tiefen Bereiche, getrennt in die Ergebnisse aus München und Mainz, und in der Abbildung 8 die Münchner und Mainzer Ergebnisse kombiniert aufgetragen sind. Dabei ist für jede Fünffachbestimmung der Variationskoeffizient gegenüber der gemessenen mittleren Konzentration dieser fünf Bestimmungen dargestellt.



Funktionelle Sensitivität Liaison-cTnI - München

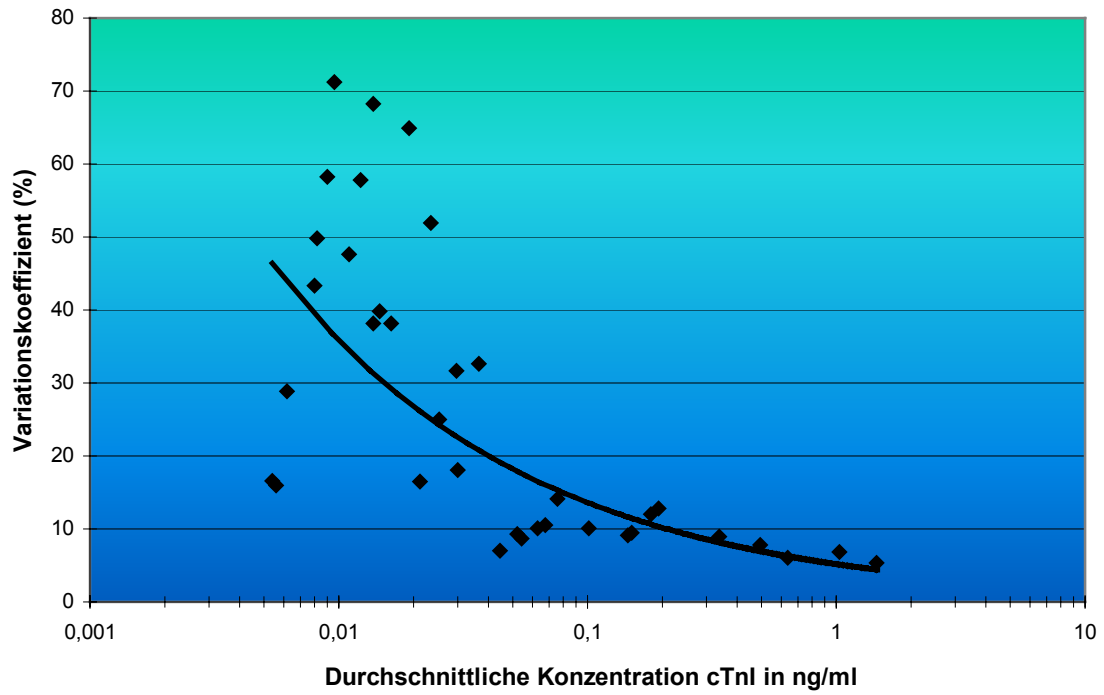


Abbildung 6: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in München

Funktionelle Sensitivität Liaison-cTnI - Mainz

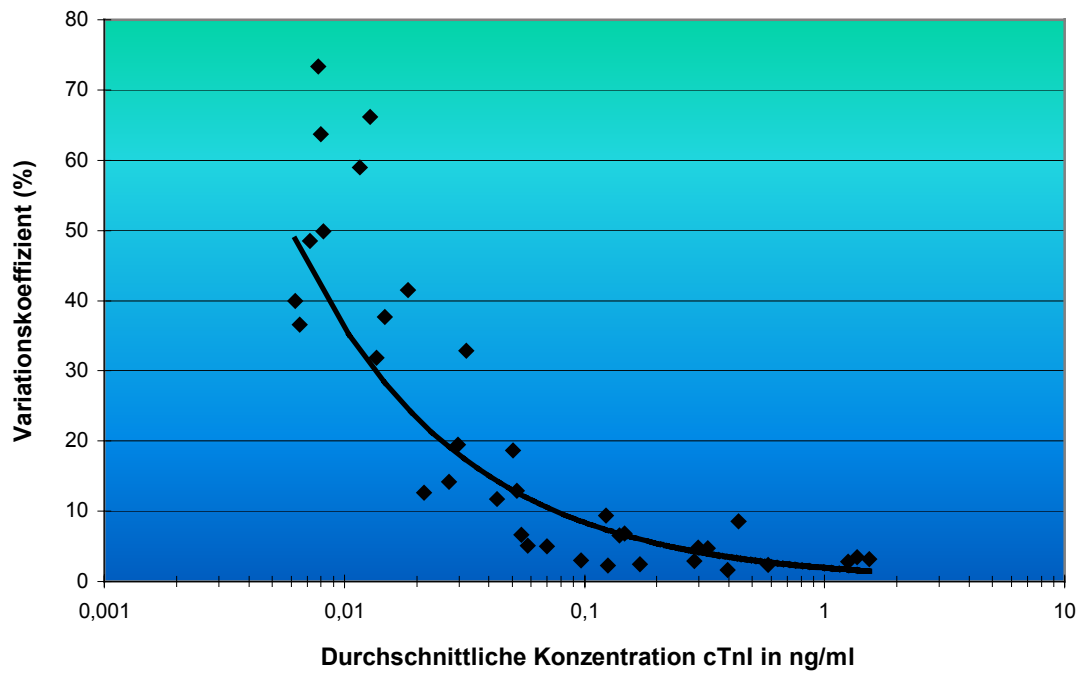


Abbildung 7: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in Mainz



Funktionelle Sensitivität Liaison-cTnI - München und Mainz

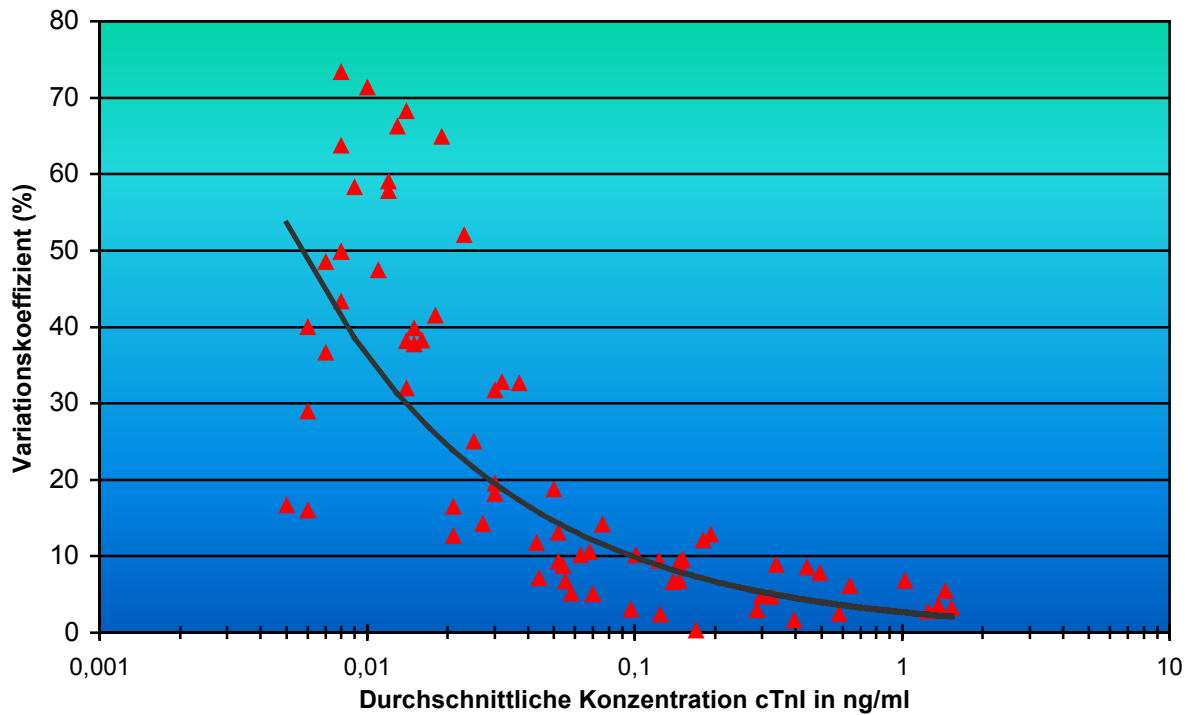


Abbildung 8: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in München und Mainz.
Aggregierte Darstellung

Die Trendkurve schneidet einen Variationskoeffizienten von 20% bei einem Wert von $< 0,03$ ng/ml. Demnach liegt definitionsgemäß die funktionelle Sensitivität des Liaison TnI Assays bei 0,03 ng/ml.



3.1.5. Einfluss des Probenmaterials

In Tabelle 22 sowie in Abbildung 9 sind die Passing-Bablok-Gleichungen der jeweiligen Serum-Plasma-paare für die Plasmen EDTA, Citrat und Heparin dargestellt.⁽⁵⁸⁾ Alle Ergebnisse sind ohne Beschränkung auf einen Maximalwert berücksichtigt. Dabei werden die Ergebnisse für jedes Studienzentrum separat und dann zusammen dargestellt.

Um eine genauere Aussage für den entscheidenden tiefen Messbereich zu treffen, wurden in einer zweiten Auswertung ausschließlich solche Werte herangezogen, in denen die Serumkonzentration unter 5 ng/ml liegt.

Tabelle 22: Übersicht der Ergebnisse „Einfluss des Probenmaterials“ für alle Werte. Gezeigt sind die Passing-Bablok-Gleichungen und die Pearson-Korrelation der Probenpaare Serum vs. EDTA, Serum vs. Citrat und Serum vs. Heparin für München bzw. Mainz und dann zusammen. x entspricht dem cTnI Serumwert; y entspricht dem jeweiligen cTnI Plasmawert.

Plasma zu Serum für alle Werte x-Wert ist immer cTnI Serum					
Ort	y-Wert cTnI	Gleichung nach Passing-Bablok	n	r Pearson	95% Konfidenz- intervall
München	EDTA	$y = 0,944x + 0,036$	18	0,99	1,00 – 1,00
Mainz	EDTA	$y = 0,728x + 0,028$	19	0,99	0,98 – 1,00
München und Mainz	EDTA	$Y = 0,880x + 0,018$	37	0,99	0,99 – 1,00
München	Citrat	$y = 0,790x + 0,053$	18	1,00	1,00 – 1,00
Mainz	Citrat	$y = 0,956x + 0,004$	27	0,99	0,98 – 1,00
München und Mainz	Citrat	$y = 0,904x + 0,007$	45	0,99	0,99 – 1,00
München	Heparin	nicht durchgeführt	0	-	-
Mainz	Heparin	$y = 0,764x - 0,007$	24	0,99	0,98 – 1,00
München und Mainz	Heparin	$y = 0,764x - 0,007$	24	0,99	0,98 – 1,00



Tabelle 23: Übersicht der Ergebnisse „Einfluss des Probenmaterials“ für Serumwerte < 5 ng/ml
Gezeigt sind die Passing-Bablok-Gleichungen und die Pearson-Korrelation der Probenpaare Serum vs. EDTA;
Serum vs. Citrat und Serum vs. Heparin für München bzw. Mainz und dann zusammen für Werte < 5 ng/ml.
x entspricht dem cTnI Serumwert; *y* entspricht dem jeweiligen cTnI Plasmawert.

Plasma zu Serum für Werte < 5ng/ml x-Wert ist immer cTnI Serum					
Ort	y-Wert cTnI	Gleichung nach Passing-Bablok.	n	r Pearson	95% Konfidenz- intervall
München	EDTA	$y = 0,999x + 0,013$	13	0,99	0,97 – 1,00
Mainz	EDTA	$y = 0,714x + 0,023$	16	0,98	0,95 – 0,99
München und Mainz	EDTA	$y = 0,967x + 0,004$	29	0,98	0,96 – 0,99
München	Citrat	$y = 0,923x - 0,014$	13	1,00	0,99 – 1,00
Mainz	Citrat	$y = 0,959x + 0,003$	24	0,99	0,97 – 0,99
München und Mainz	Citrat	$y = 0,926x + 0,004$	37	1,00	0,99 – 1,00
München	Heparin	nicht durchgeführt	0	-	-
Mainz	Heparin	$y = 0,710x - 0,006$	21	0,98	0,96 – 0,99
München und Mainz	Heparin	$y = 0,710x - 0,006$	21	0,98	0,96 – 0,99

Die Ergebnisse sowohl der Münchner als auch der Mainzer Messungen zeigen, dass cTnI in EDTA-Plasma und Citrat-Plasma eine ca. 7% tiefere Konzentration als in Serum zeigt. Die Heparinproben waren ca. 26% niedriger als die Serum Zwillings-Proben.

Wenn man sich auf die Serumwerte < 5 ng/ml beschränkt, sind die EDTA-Werte ca. 3% niedriger, die Citrat-Werte 6% niedriger und Heparin ca. 27% niedriger. Im Vergleich aller Messwerte zu jenen < 5 ng/ml finden sich also keine großen relativen Unterschiede.

Die Abbildung 9 zeigt alle Plasmawerte aus München und Mainz im Verhältnis zu den Serumwerten und die entsprechenden linearen Trendlinien und deren Gleichungen für EDTA-Plasma, Citrat-Plasma und Heparin-Plasma. In der Abbildung 10 sind hingegen nur die Proben mit einer cTnI-Serumkonzentration < 5 ng/ml gegeneinander aufgetragen.



Übersicht Ergebnisse Liaison-cTnI Probeneinfluss (Serum im Vergleich EDTA, Citrat bzw. Heparin)

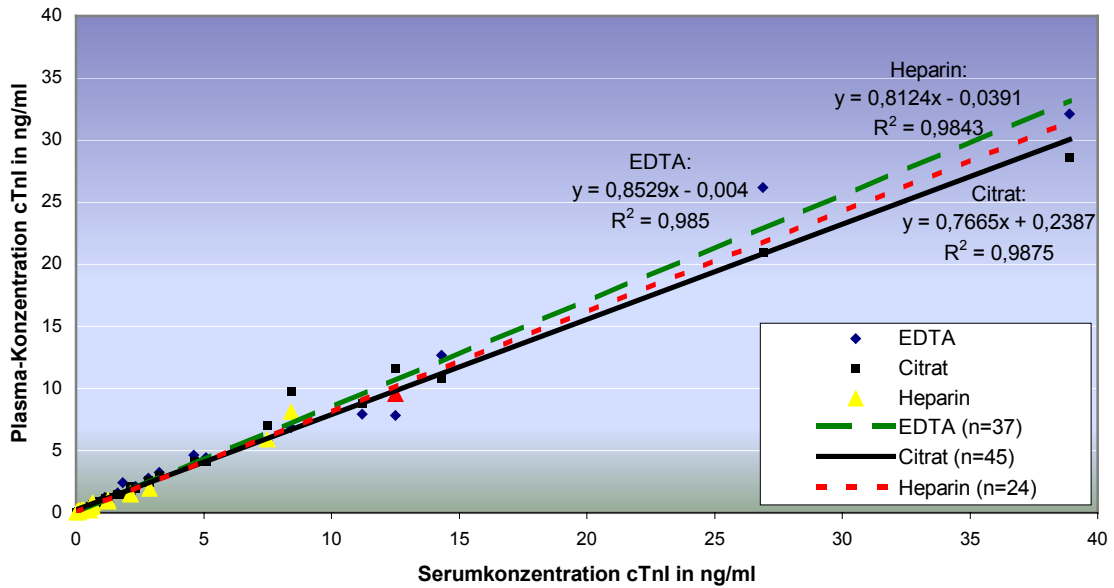


Abbildung 9: Plasma vs. Serum (alle Werte): EDTA, Citrat und Heparin im Vergleich zu Serumproben cTnI-Messungen in München und Mainz; Vergleich der EDTA-, Citrat- und Heparin-Plasmaproben zu Serumwerten mit Trendlinien.

Übersicht Ergebnisse Liaison-cTnI Probeneinfluss (Serum im Vergleich EDTA, Citrat bzw. Heparin) für Serumwerte < 5 ng/ml

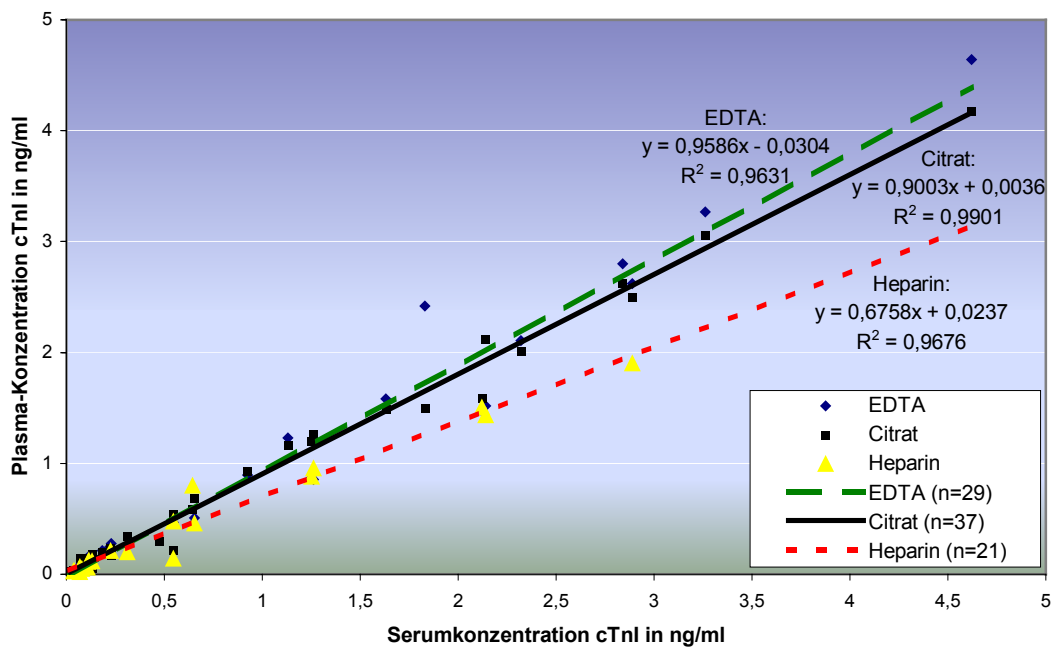


Abbildung 10: Plasma vs. Serum (<5 ng/ml): EDTA, Citrat und Heparin im Vergleich zu Serumproben cTnI-Messungen in München und Mainz; Vergleich der EDTA-, Citrat- und Heparin-Plasmaproben zu Serumwerten mit Trendlinien.



3.1.6. Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur

München

Die zehn Proben, gemessen mit zwei verschiedene Chargen des Reagenzienmaterials, ergeben die in Tabelle 24 dargestellten Messwerte:

Tabelle 24: Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur auf die Proben; Werte München
Charge 1

Alle Konz. in ng/ml		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.
Probe	1	(%)	2	(%)	3	(%)	4	(%)	5	(%)
2-8°C, 8 h	14,80	100,0	2,81	100,0	1,41	100,0	1,19	100,0	1,65	100,0
20°C, 24 h	13,60	91,9	2,98	106,0	1,25	88,7	nd*	nd*	1,48	89,7
aufgetaut u. wieder eingefroren	15,20	102,7	2,65	94,3	1,39	98,6	1,21	101,7	1,65	100,0
2-8°C, 7 d	14,20	95,9	2,84	101,1	1,25	88,7	1,06	89,1	1,39	84,2
Mittelwert:	14,45		2,82		1,33		1,15		1,54	
CV in %:	4,8		4,8		6,6		7,1		8,4	

Charge 2

Alle Konz. in ng/ml		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.
Probe	6	(%)	7	(%)	8	(%)	9	(%)	10	(%)
2-8°C, 8 h	0,28	100,0	0,43	100,0	1,16	100,0	1,03	100,0	0,49	100,0
20°C, 24 h	0,24	85,9	0,41	95,8	1,08	93,1	1,07	103,9	0,51	103,7
aufgetaut u. wieder eingefroren	0,28	101,1	0,47	110,5	1,18	101,7	1,05	101,9	0,52	106,7
2-8°C, 7 d	0,26	92,8	0,39	91,3	1,03	88,8	1,01	98,1	0,50	102,6
Mittelwert:	0,26		0,42		1,11		1,04		0,51	
CV in %:	7,4		8,3		6,3		2,5		2,7	

(* nd = nicht durchgeführt)

Die durchschnittliche Abweichung beträgt 5,88%. Eine Kurzzeitlagerung ist somit für die Bestimmung von cTnI unkritisch. In den Diagrammen der Abbildung 11 und Abbildung 12 sind die relativen Abweichungen der zehn Proben, gemessen mit zwei verschiedenen Chargen, nochmals graphisch dargestellt.

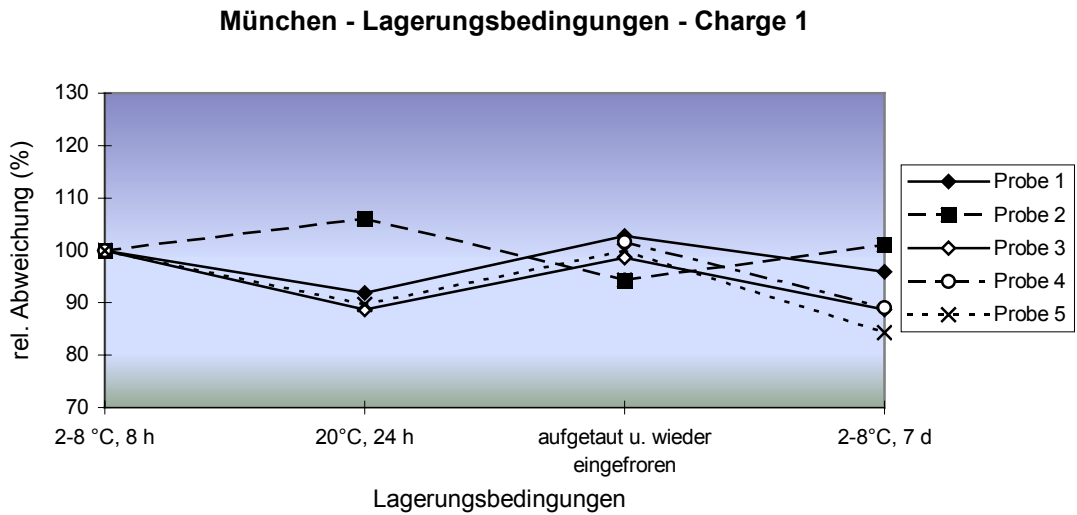


Abbildung 11: Werte München; Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 1

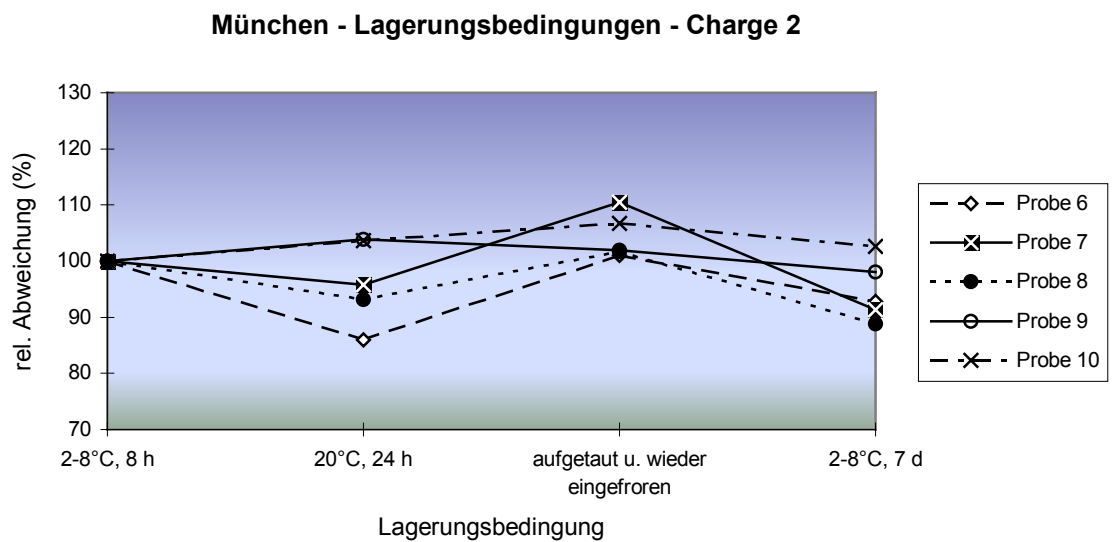


Abbildung 12: Werte München; Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 2

**Mainz**

Die Ergebnisse der zehn Mainzer Proben, die ebenfalls mit zwei unterschiedlichen Chargen Reagenzienmaterial gemessen wurden, sind in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 25: Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur auf die Proben; Werte Mainz
(*: zu Probe 7: siehe Kommentar im Text)

Charge 1

Alle Konz. in ng/ml		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.
Probe	1	(%)	2	(%)	3	(%)	4	(%)	5	(%)
2-8°C, 8 h	0,83	100,0	0,18	100,0	0,33	100,0	1,47	100,0	0,18	100,0
20°C, 24 h	0,82	98,6	0,19	107,2	0,34	101,8	1,22	83,0	0,16	87,8
aufgetaut u. wieder eingefroren	0,81	97,6	0,19	105,6	0,35	106,1	1,19	81,0	0,18	101,1
2-8°C, 7 d	0,91	108,6	0,16	87,8	0,31	94,5	1,28	87,1	0,16	88,3
Mittelwert:	0,84		0,18		0,33		1,29		0,17	
CV in %:	5,0		8,8		4,8		9,7		7,7	

Charge 2

Alle Konz. in ng/ml		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.		rel. Abw.
Probe	6	(%)	7	(%)	8	(%)	9	(%)	10	(%)
2-8°C, 8 h	0,11	100,0	0,03*	100,0	0,06	100,0	0,15	100,0	0,22	100,0
20°C, 24 h	0,10	87,1	0,02*	86,0	0,06	102,4	0,13	89,7	0,24	104,9
aufgetaut u. wieder eingefroren	0,09	79,6	0,02*	60,0	0,07	118,7	0,14	96,6	0,24	105,4
2-8°C, 7 d	0,09	81,8	0,02*	60,0	0,06	99,2	0,15	106,2	0,21	95,1
Mittelwert:	0,10		0,02*		0,06		0,14		0,23	
CV in %:	10,5		26,0*		8,7		7,0		4,8	

Der Durchschnitt des Variationskoeffizienten beträgt bei den in Mainz gemessenen Proben 9,30%, wobei die Probe Nr. 7 einen starken Konzentrationsabfall aufweist. Auch hier zeigt sich im Mittel kein Einfluss einer Kurzzeitzlagerung auf den Analyten. Die relativen Abweichungen von Charge 1 bzw. Charge 2 sind in Abbildung 13 bzw. Abbildung 14 graphisch aufgezeichnet.

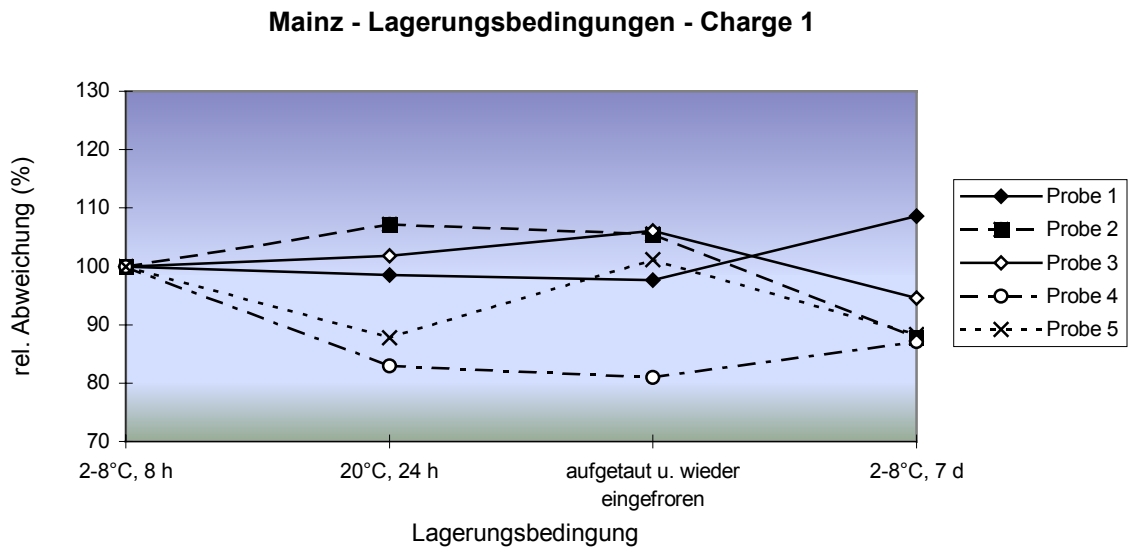


Abbildung 13: Werte Mainz, Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 1

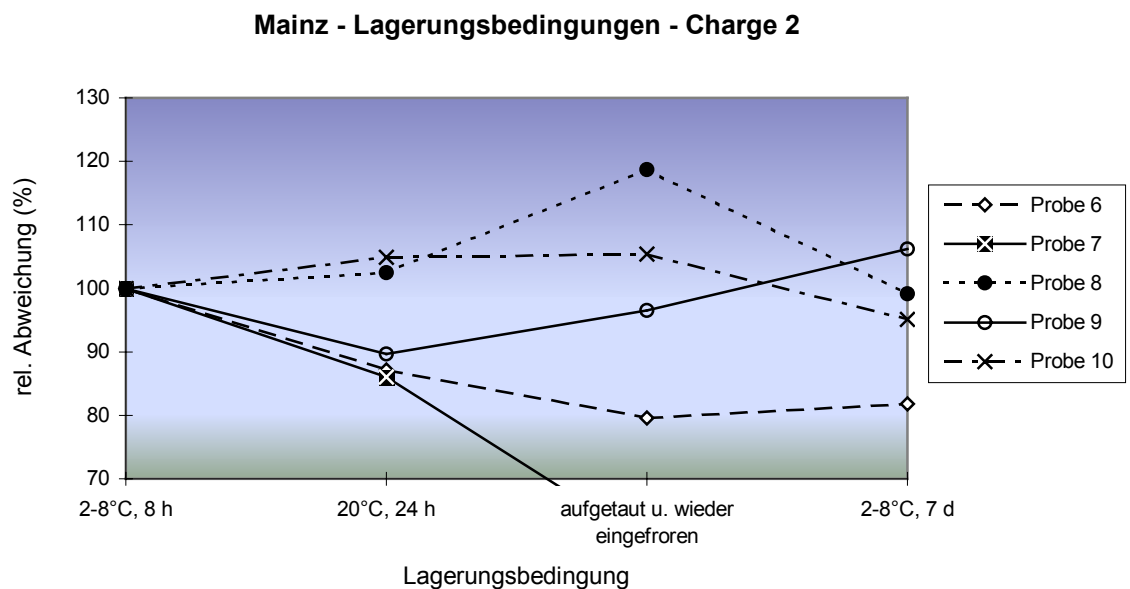


Abbildung 14: Werte Mainz, Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 2

München und Mainz

Der Gesamtdurchschnitt der Variationskoeffizienten aus München und Mainz beträgt 7,59%, was einer sehr guten mittleren Kurzzeitstabilität des Analyten entspricht.

Langzeit-Stabilitätsmessung

Stellt man die wiederholten Messungen auf dem Liaison-cTnl im Vergleich zum Ursprungswert graphisch dar, erhält man Abbildung 15. Hier wurde die relative Mess-Differenz nach zwei Jahren gegen den absoluten ursprünglichen Wert aufgetragen.



Langzeitstabilität von Liaison cTnI

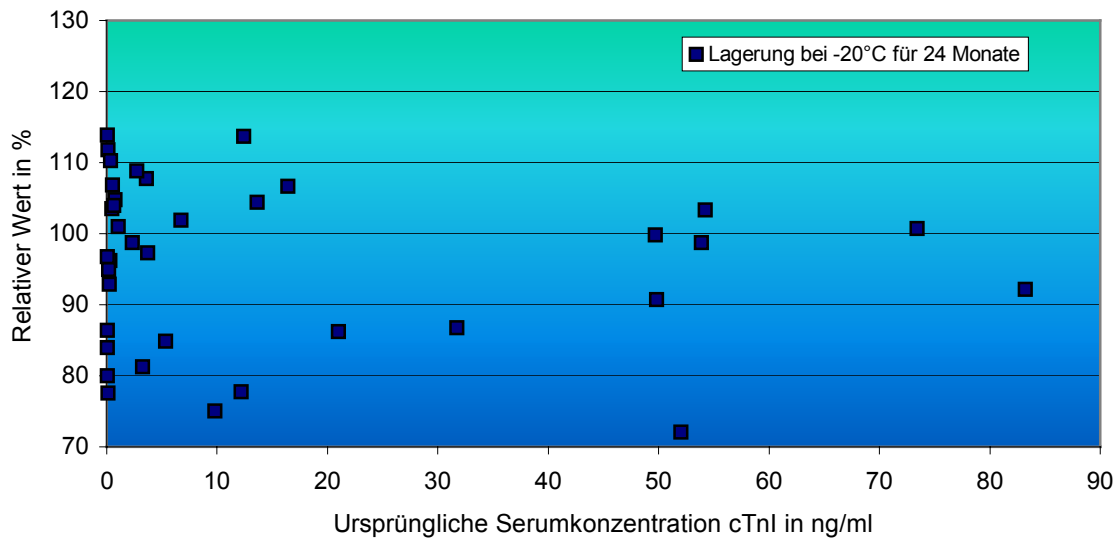


Abbildung 15: Zweijahresstabilität; relative Differenz zu absoluter Ursprungskonzentration

Der Mittelwert der 49 relativen Differenzen ergab nach zwei Jahren ca. 15% niedrigere Werte, mit einer Standardabweichung von 28,37% und einem CV von 33,45%. Die relativen Zweijahresergebnisse umfassten eine Spanne von 20 bis 156%.

Insgesamt ergibt sich eine recht gute Wiederfindung nach > 24 Monaten Lagerung bei -20°C, wobei tendenziell niedrigere Werte gefunden wurden.

Betrachtet man lediglich die 27 tiefen Werte im Bereich der Entscheidungsgrenze (bis ca. 1 ng/ml), so zeigt sich wie in Abbildung 16 dargestellt, ebenfalls eine relativ gute Wiederfindung mit fünf, nach über zwei Jahren „falsch-negativen“ Werten.

Langzeitstabilität von Liaison cTnI für Werte <1ng/l

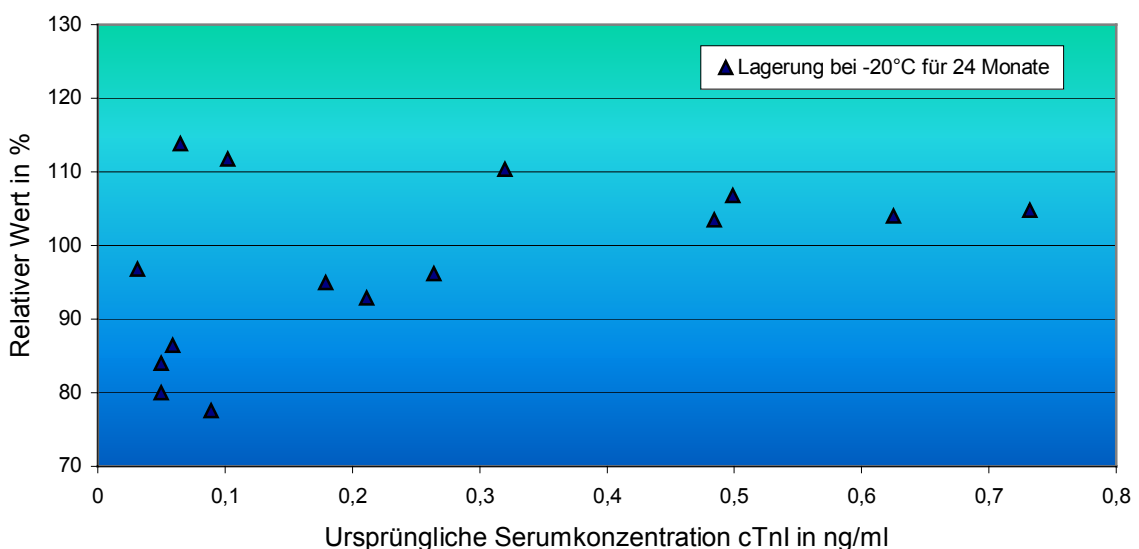


Abbildung 16: Zweijahresstabilität; Rel. Differenz zu absoluter Ursprungskonzentration; Werte < 1 ng/ml



3.1.7. Einfluss endogener Störsubstanzen

Tabelle 26 bis Tabelle 28 zeigen den Einfluss endogener Störsubstanzen wie Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride. Dargestellt sind jeweils die Messergebnisse des die Störsubstanz enthaltenden Serums („Störinterferenz“), des an cTnI reichen Serums („Stör+Spiked“) sowie der zwei Verdünnungsstufen. Zum Vergleich wurden die erwarteten cTnI Werte angegeben und deren Wiederfindung berechnet.

Tabelle 26: Endogene Interferenzen – Normales Serum

Störinterferenz = Normales Serum				
Probe Nr. 1	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,005	1,2		
Stör+Spiked	10,5	0,2		
Stör+Spiked;1:2	5,33	3,2	5,25	101,5
Stör+Spiked;1:4	2,58	1,3	2,63	98,3
Probe Nr. 2	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,009	70		
Stör+Spiked	8,02	4,4		
Stör+Spiked;1:2	4,48	1,5	4,01	111,7
Stör+Spiked;1:4	2,24	2,5	2,01	111,7
Probe Nr. 3	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,01	31		
Stör+Spiked	7,28	3,3		
Stör+Spiked;1:2	3,65	2,3	3,64	100,3
Stör+Spiked;1:4	2,04	1,5	1,82	112,1
Probe Nr. 4	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,005	0		
Stör+Spiked	8,38	1,8		
Stör+Spiked;1:2	4,29	5	4,19	102,4
Stör+Spiked;1:4	2,22	4,3	2,10	106,0
Probe Nr. 5	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,005	30		
Stör+Spiked	8,46	3,9		
Stör+Spiked;1:2	4,41	1,6	4,23	104,3
Stör+Spiked;1:4	2,17	2,7	2,12	102,6

Tabelle 27: Endogene Interferenzen – Hämolytisches Serum

Störinterferenz = Hämolytisches Serum				
Probe Nr. 1	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,006	35		
Stör+Spiked	6,34	0,1		
Stör+Spiked;1:2	3,42	0,7	3,17	107,9
Stör+Spiked;1:4	1,7	4,3	1,59	107,3
Probe Nr. 2	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,005	0		
Stör+Spiked	7,01	2,4		
Stör+Spiked;1:2	3,53	2,2	3,51	100,7
Stör+Spiked;1:4	1,84	0,8	1,75	105,0
Probe Nr. 3	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,006	14		
Stör+Spiked	7,72	1,8		
Stör+Spiked;1:2	4,09	1,7	3,86	106,0
Stör+Spiked;1:4	1,97	1	1,93	102,1
Probe Nr. 4	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,005	0		
Stör+Spiked	7,97	0,4		
Stör+Spiked;1:2	4,15	2	3,99	104,1
Stör+Spiked;1:4	2,07	1,3	1,99	103,9
Probe Nr. 5	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,011	32		
Stör+Spiked	7,54	2,6		
Stör+Spiked;1:2	4,07	3,9	3,77	108,0
Stör+Spiked;1:4	2,08	0,4	1,89	110,3



Tabelle 28: Endogene Interferenzen – Lipämisches Serum

Störinterferenz = Lipämisches Serum				
Probe Nr. 1	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,026	0,7		
Stör+Spiked	7,6	0,3		
Stör+Spiked;1:2	3,96	6,9	3,80	104,2
Stör+Spiked;1:4	2,04	8,4	1,90	107,4
Probe Nr. 2	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,174	26		
Stör+Spiked	8,87	3,3		
Stör+Spiked;1:2	4,47	0,5	4,44	100,8
Stör+Spiked;1:4	2,49	4,8	2,22	112,3
Probe Nr. 3	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,092	4,2		
Stör+Spiked	8,42	3,5		
Stör+Spiked;1:2	4,69	8,5	4,21	111,4
Stör+Spiked;1:4	2,49	4,2	2,11	118,3
Probe Nr. 4	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,344	58		
Stör+Spiked	7,14	8,4		
Stör+Spiked;1:2	3,59	1,1	3,57	100,6
Stör+Spiked;1:4	2,21	4,5	1,79	123,8
Probe Nr. 5	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,346	99		
Stör+Spiked	8,15	0,1		
Stör+Spiked;1:2	4,24	6,4	4,08	104,0
Stör+Spiked;1:4	2,02	6,4	2,04	99,1

Tabelle 29: Endogene Interferenzen – Ikterisches Serum

Störinterferenz = Ikterisches Serum				
Probe Nr. 1	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,046	46		
Stör+Spiked	7,32	1,4		
Stör+Spiked;1:2	3,03	9	3,66	82,8
Stör+Spiked;1:4	1,5	23	1,83	82,0
Probe Nr. 2	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,076	6,2		
Stör+Spiked	6,4	2,7		
Stör+Spiked;1:2	3,32	5,4	3,20	103,8
Stör+Spiked;1:4	1,64	15	1,60	102,5
Probe Nr. 3	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,08	29		
Stör+Spiked	4,79	8,8		
Stör+Spiked;1:2	1,71	1,6	2,40	71,4
Stör+Spiked;1:4	1,24	41	1,20	103,5
Probe Nr. 4	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,026	19		
Stör+Spiked	5,48	2		
Stör+Spiked;1:2	2,76	2,2	2,74	100,7
Stör+Spiked;1:4	1,63	0,8	1,37	119,0
Probe Nr. 5	Konz. in ng/ml	CV (%)	erwarteter Wert	Wiederfindung (%)
Störinterferenz	0,02	31		
Stör+Spiked	5,22	0,4		
Stör+Spiked;1:2	2,7	1,2	2,61	103,4
Stör+Spiked;1:4	1,5	3,7	1,31	114,9

Insgesamt zeigen diese Versuche, dass die Methode kaum durch endogene Störfaktoren beeinflusst wird. Die mittlere Abweichung beträgt 7,43%.

Auch die vier getesteten Seren mit Paraproteinen zeigten keine falsch-positiven Resultate.



3.1.8. Referenzwerte gesunder Personen ohne Herzkrankheiten

In folgender Tabelle 30 ist die Verteilung der cTnI-Konzentrationen von klinisch herzgesunden Personen dargestellt, so wie sie in beiden Zentren gemessen wurde. Um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu haben, werden die gemessenen Werte für die Referenzbereiche der zu vergleichenden Assays ebenfalls in Tabelle 30 aufgeführt.

*Tabelle 30: München und Mainz; Verteilung der Normalwerte gesunder Individuen
Normalwerte bei gesunden Individuen für die Assays Liaison TnI, Immulite TnI (beide Mainz), sowie Liaison TnI, Dimension TnI und Elecsys TnT (alle vier München).*

	Mainz	Mainz	München	München	München
Werte in ng/ml	Liaison TnI, gesund	Immolute TnI, gesund	Liaison TnI, gesund	Dimension TnI, gesund	Elecsys TnT, gesund
99%-ile	0,021	1,43	0,034	0,228	0,033
97,5%-ile	0,018	1,00	0,029	0,144	0,023
95%-ile	0,010	0,50	0,027	0,080	0,011
90%-ile	0,005	0,29	0,024	0,050	0,010
Median	0,005	0,13	0,015	0,000	0,010
5%-ile	0,005	0,08	0,005	0,000	0,010
2,5%-ile	0,005	0,08	0,005	0,000	0,010
1%-ile	0,005	0,08	0,005	0,000	0,010
Mittelwert	0,006	0,19	0,015	0,017	0,011
SD	0,003	0,24	0,007	0,042	0,009
Minimum	0,005	0,07	0,005	0,000	0,010
Maximum	0,034	1,71	0,038	0,280	0,107
n	147	150	140	137	135
	<i>Blutspender</i>	<i>Blutspender</i>	<i>Nicht-kardiale Khs.-Patienten</i>	<i>Nicht-kardiale Khs.-Patienten</i>	<i>Nicht-kardiale Khs.-Patienten</i>

Trägt man sowohl die Münchner als auch die Mainzer Werte für den Liaison-TnI-Assay in ein Histogramm ein, zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Verteilung. Während Blutspender eine linksschiefe Verteilung (Abbildung 17) zeigen, ähnelt diese bei Krankenhauspatienten eher der Gauß'schen Normalverteilung (Abbildung 18). In beiden Populationen zusammen beträgt das bestimmte arithmetisch gewichtete Mittel der 99. Perzentile auf dem Liaison-Assay 0,027 ng/ml.

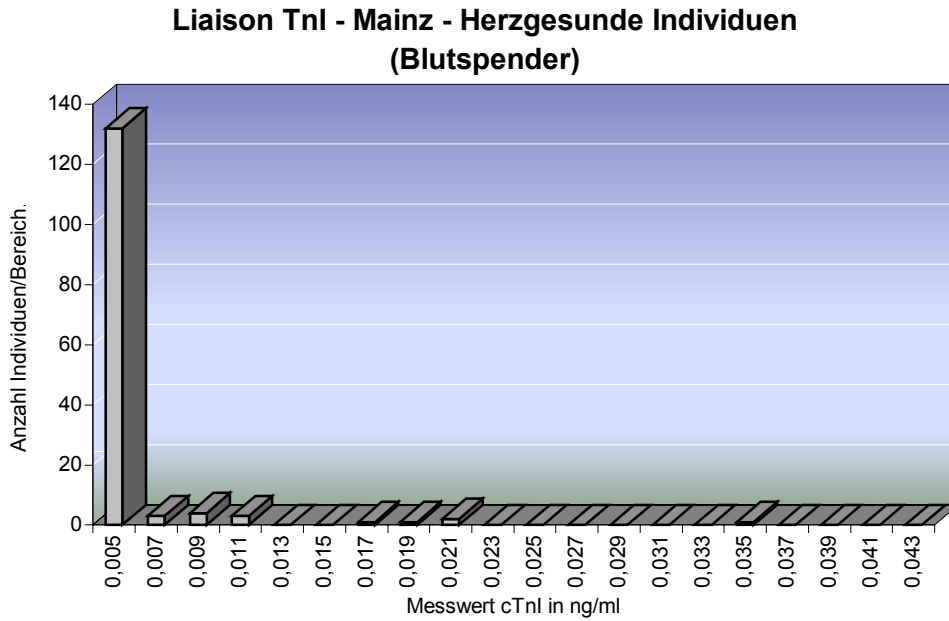


Abbildung 17: Histogramm - Verteilung der cTnI-Werte bei herzgesunden Individuen Mainz (Liaison) Individuen waren Blutspender.

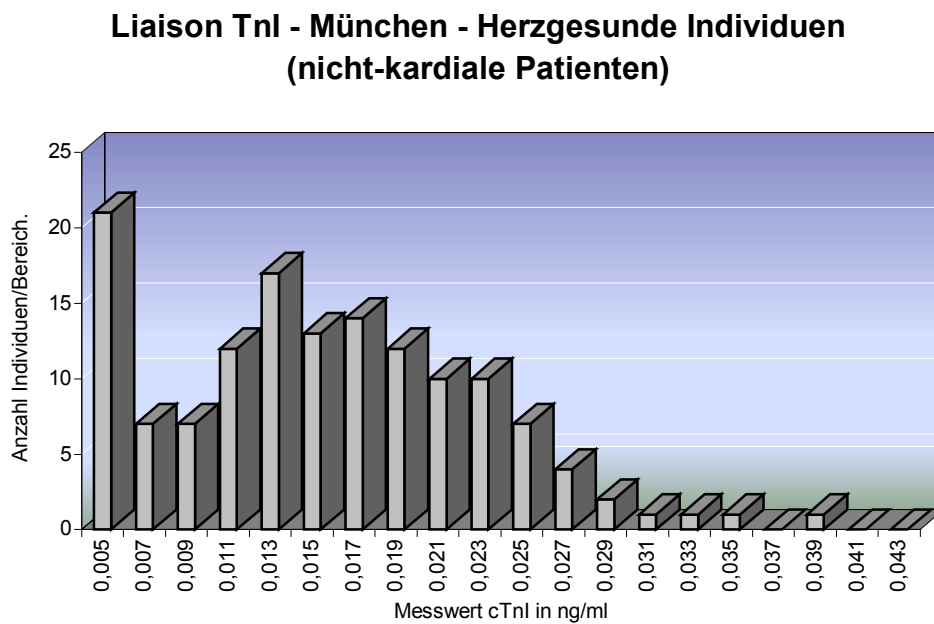


Abbildung 18: Histogramm - Verteilung der cTnI-Werte bei herzgesunden Individuen München (Liaison) Individuen waren Krankenhauspatienten, die wegen nicht-kardialer Ursachen aufgenommen wurden.



3.1.9. Analytischer Methodenvergleich

In der Tabelle 31 sind die Vergleiche des Liaison Troponin I Assays mit zwei anderen routinemäßig eingesetzten cTnI-Assays und einem cTnT-Assay dargestellt.

*Tabelle 31: Werte München und Mainz, Vergleich zwischen verschiedenen Methoden
Vergleich zwischen Liaison-cTnI und verschiedenen Methoden
(y = Liaison Troponin I; x = entsprechender Vergleichsassay)*

X	Gleichung	Bereich y, ng/ml	R	N
Elecsys TnT	$y = 4,47x + 0,53$	0-83,2	0,906	85
	$y = 0,918x + 0,02$	0-0,5	0,875	48
Dimension TnI	$y = 0,301x + 0,59$	0-83,2	0,930	85
	$y = 0,102x + 0,02$	0-0,5	0,967	46
Immulate TnI	$y = 0,133x - 0,009$	0-9,1	0,979	120
	$y = 0,119x + 0,012$	0-0,5	0,925	106

Die mit dem Liaison TnI Assay gefundenen Messwerte korrelieren gut mit den Vergleichsassays ($0,875 < r < 0,979$), allerdings sind die absoluten Messwerte deutlich voneinander verschieden, was sich in den Steigungskoeffizienten widerspiegelt.



3.2. Klinische Evaluierung

3.2.1. Patienten mit AMI

In Abbildung 19 ist der Liaison cTnI Assay im Vergleich mit zwei anderen Assays zur Diagnose eines AMI dargestellt. Dabei sind die Messwerte als Vielfaches des Cut-Off Werts dargestellt.

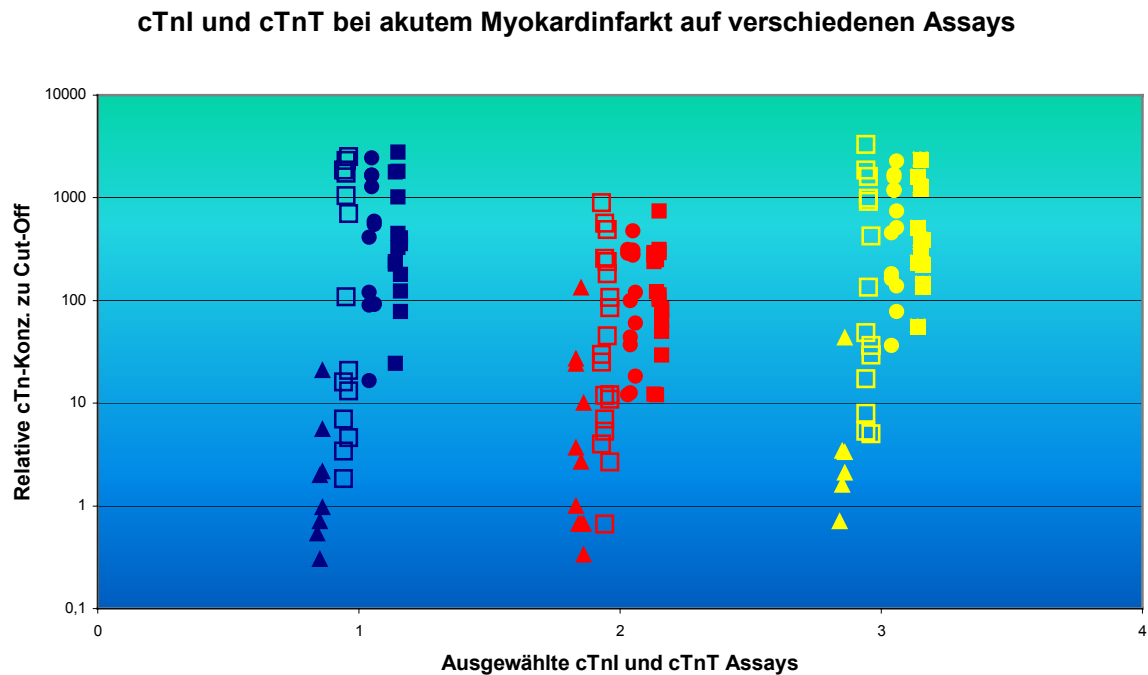


Abbildung 19: München, Übersicht Diagnosestellung AMI auf verschiedenen Assays

X-Achse: verschiedene Assays 1-3;

Y-Achse: Relativ zum Cut-Off-Index eingetragene Messwerte cTnI oder cTnT

1 ■ = AMI-Patienten auf Liaison Troponin I (Cut-Off 0,03 ng/ml)

2 ■ = AMI-Patienten auf Elecsys Troponin T (Cut-Off 0,03 ng/ml)

3 ■ = AMI-Patienten auf Dimension Troponin I (Cut-Off 0,1 ng/ml)

wobei ▲ = 0-4 h; □ = 4-8 h; ● = 8-12 h; ■ = 12-24 h (Blutabnahme nach Aufnahme ins Krankenhaus).

Man ersieht, dass der Liaison TnI Assay im Vergleich zu den beiden anderen Assays ebenfalls eine gute Erkennung der Patienten mit Herzinfarkt hat.

Für den Dimension Troponin I Assay wurde der vom Hersteller empfohlene Cut-Off Wert von 0,1 ng/ml herangezogen, für den Elecsys gemäß den neuesten Anforderungen der ESC/ACC(2) jener Wert als Cut-Off genommen, der nahe bei der 99. Perzentile einer gesunden Referenzgruppe liegt (0,03 ng/ml). Dieser vom Hersteller abweichende Cut-Off-Wert wird auch in den weiteren Berechnungen und Abbildungen verwendet.



3.2.2. Patienten mit Angina pectoris, KHK, und Non-Q-Wave Infarkt

Diese Patientengruppe wurde in zwei Untergruppen eingeteilt:

Die erste Gruppe besteht aus Patienten mit stabiler Angina pectoris oder asymptomatischer koronarangiographisch nachgewiesener KHK.

Die zweite Gruppe setzte sich aus Patienten mit instabiler Angina pectoris (UAP) oder Non-Q-Wave Infarkt zusammen.

In der ersten Patientengruppe (stabile AP oder KHK) konnte mit dem Liaison Troponin I Assay in mehr Fällen ein erhöhter cTnI Wert nachgewiesen werden, als dies mit den anderen Assays der Fall war. Der Vergleich ist in Tabelle 32 dargestellt.

*Tabelle 32: Werte München und Mainz; AP und KHK
Vergleich von Liaison TnI mit Dimension TnI und Elecsys TnT in Patienten mit stabiler Angina pectoris und angiographisch bestätigter KHK aber ohne Zeichen einer instabilen Angina Pectoris; n=51.*

n = 29	Dimension cTnI		Elecsys cTnT	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Liaison				
Positiv	13,8%	37,9%	17,2%	34,5%
Negativ	0%	48,3%	0%	48,3%

Die kumulierte Übereinstimmung des Liaison/Dimension-Vergleichs beträgt hier 61,3% und die des Liaison/Elecsys-Vergleichs 65,5%. Die Rate positiver Messwerte beträgt für den Liaison TnI in beiden Vergleichen 51,7%. Für den Dimension bzw. Elecsys liegt die Rate positiver Messwerte bei 13,8% bzw. 17,2%.

Auch in der zweiten Patientengruppe (UAP oder Non-Q-Wave Infarkt) zeigte sich, dass mit dem Liaison Troponin I Assay wesentlich mehr Patienten Werte oberhalb der diagnostischen Entscheidungsgrenzen haben als mit den anderen Troponin-Assays (siehe Tabelle 33).

*Tabelle 33: Werte München und Mainz; UAP und Non-Q-Wave AMI
Vergleich von Liaison TnI mit Dimension TnI und Elecsys TnT bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und Non-Q-wave Infarkt; n=64*

n = 30	Dimension TnI		Elecsys TnT	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Liaison				
Positiv	30%	23,3%	20,0%	30,0%
Negativ	3,3%	43,3%	10,0%	40,0%



Die kumulierte Übereinstimmung des Liaison/Dimension-Vergleichs beträgt 73,3% und die des Liaison/Elecsys-Vergleichs 60%. Der Liaison TnI zeigt bei 53,3% bzw. 50% der Patienten positive Messwerte an, während Dimension TnI und Elecsys TnT nur bei 33,3% bzw. 30% der UAP-Patienten positive Werte aufzeigen.

Insgesamt ist die Empfindlichkeit des Liaison Assays deutlich höher als die zum Vergleich herangezogenen anderen Troponin Assays.

3.2.3. Patienten mit herzchirurgischem Eingriff

Alle Patienten mit herzchirurgischen Eingriffen unter Einsatz eines extrakorporalen Kreislaufs zeigten zu allen Abnahmezeitpunkten nach OP-Beginn im Vergleich zum Vor-OP-Wert deutlich erhöhte cTnI Werte auf dem Liaison. Dies war dabei unabhängig von der Art der herzchirurgischen OP. Eine gleiche Dynamik konnte mit der „In-Haus-Methode“ (Immulate Troponin I) gezeigt werden, während mit dem Stratus Assay deutlich weniger erhöhte cTnI-Werte nachweisbar waren. Auch ist die Signalhöhe beim Liaison Assay deutlich höher als bei den Vergleichsassays. Gleiches kann auch bei Einsatz der minimal invasiven chirurgischen Methode ohne extrakorporalen Kreislauf gefunden werden. Der Liaison Assay zeigt ein deutlich höheres Signal und ist häufiger positiv als die beiden Vergleichsmethoden. In den Diagrammen in Abbildung 20 bis Abbildung 22, sowie in Tabelle 34 sind die Ergebnisse nochmals zusammenfassend dargestellt.

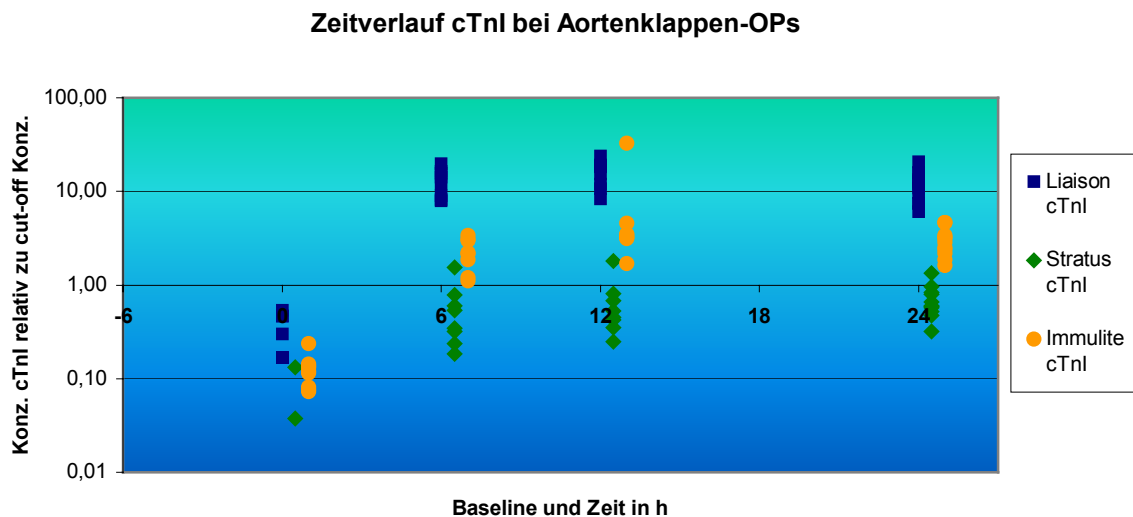


Abbildung 20: Übersicht Aortenklappenersatz-Operationen im Zeitverlauf; n=9



Zeitverlauf cTnI bei CABG mit extrakorporalem Kreislauf

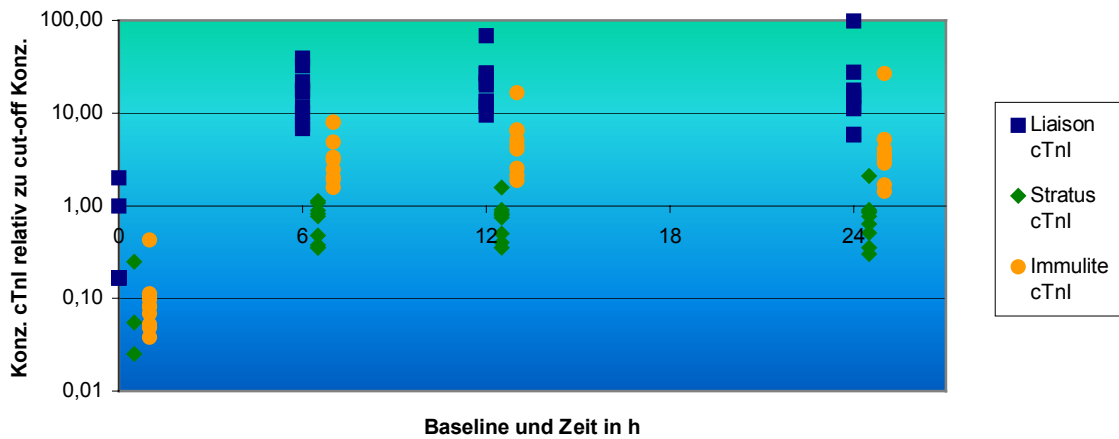


Abbildung 21: Übersicht CABG mit extrakorporalem Kreislauf im Zeitverlauf; n=10

Zeitverlauf cTnI bei CABG ohne extrakorporalen Kreislauf

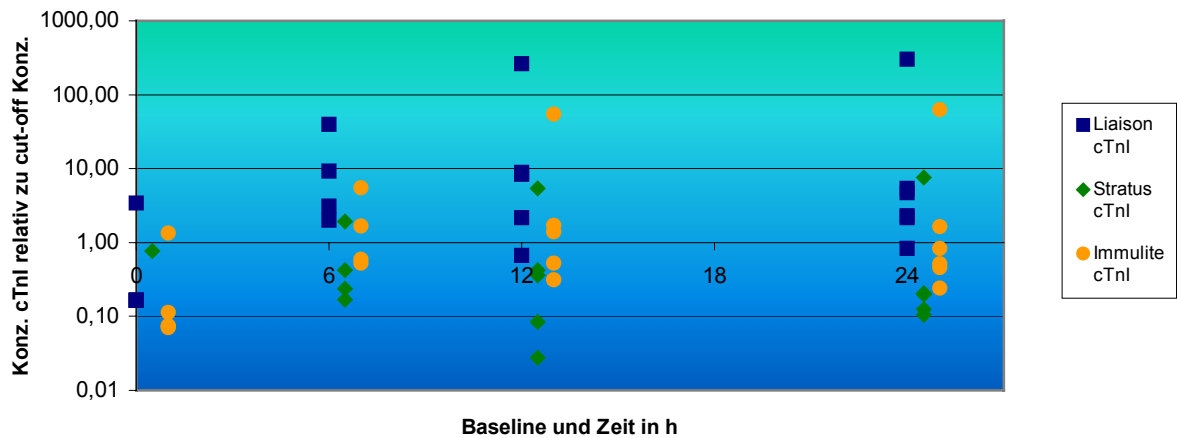


Abbildung 22: Übersicht CABG ohne extrakorporalem Kreislauf im Zeitverlauf; n=5

Tabelle 34: Patienten mit herzchirurgischem Eingriff - Zusammenfassung

(*: po = präoperativ; Mittel = Mittelwert der relativen Konzentration bezogen auf den Cut-Off-Index; Ant. % ist der prozentuale Anteil aller als positiv diagnostizierten Patienten.)

Zeit*	Meßgröße	Aortenklappen-Ersatzoperation			CABG mit extrakorporalem KI.			CABG ohne extrakorporalen Kol.		
		Liaison	Stratus	Immulite	Liaison	Stratus	Immulite	Liaison	Stratus	Immulite
po	Mittel	0,29	0,02	0,12	0,43	0,03	0,11	0,82	0,15	0,34
po	Ant. %	0%	0%	0%	20%	0%	0%	20%	0%	20%
6 h	Mittel	12,81	0,57	2,26	18,29	0,69	3,90	13,52	0,69	2,09
6 h	Ant. %	100%	13%	100%	100%	22%	100%	100%	25%	50%
12 h	Mittel	15,79	0,66	6,93	23,51	0,77	5,53	56,77	1,26	11,61
12 h	Ant. %	100%	13%	100%	100%	11%	100%	80%	20%	60%
24 h	Mittel	12,00	0,70	2,95	23,12	0,81	5,81	53,13	1,36	11,10
24 h	Ant. %	100%	9%	100%	100%	11%	100%	83%	17%	33%



Man erkennt, dass die cTnI-Spiegel im Zeitverlauf deutlich über den Cut-Off steigen. Auffällig ist jedoch, dass die Werte auf dem Stratus im Vergleich zu Liaison und Immulite kaum ansteigen. Betrachtet man den Mittelwert des cTnI-Anstiegs, so steigt bei CABG-Operationen ohne extrakorporalen Kreislauf das TnI am höchsten, gefolgt von den CABG mit extrakorporalem Kreislauf und den Aortenklappen-Operationen.

3.2.4. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz

Die Ergebnisse der cTnI-Messungen bei niereninsuffizienten Patienten auf verschiedenen Assays sind in Abbildung 23 zusammengefasst.

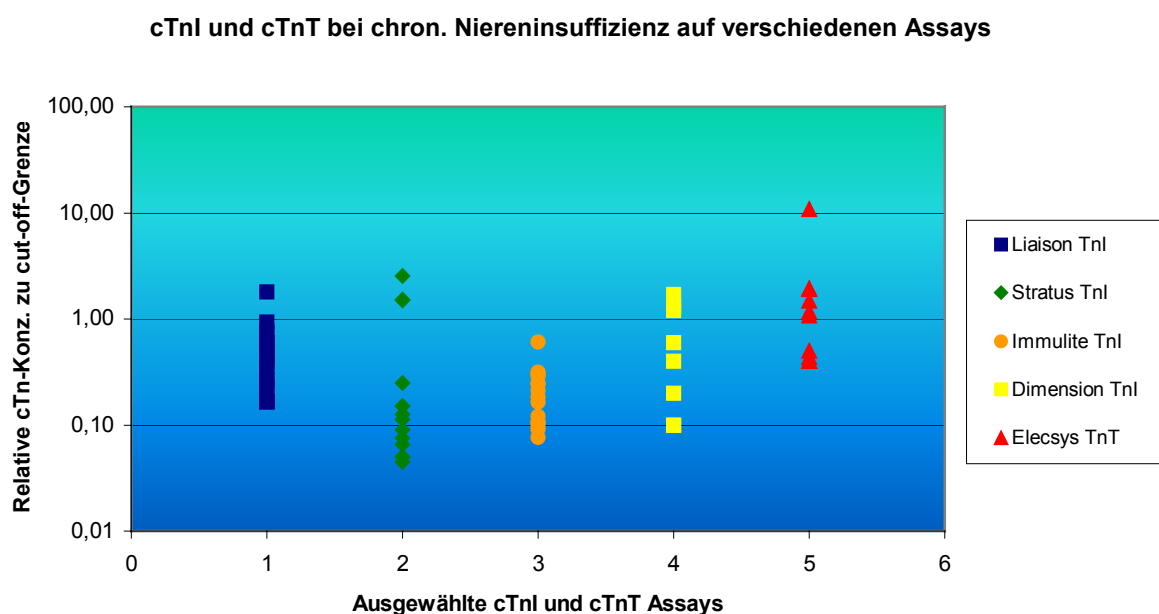


Abbildung 23: Übersicht Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz auf verschiedenen Assays; n=35

Insgesamt zeigt der Liaison Assay eine ähnliche Verteilung mit sehr wenigen Werten oberhalb des Cut-Offs wie die zum Vergleich untersuchten cTnI Assays. Der cTnT Assay dagegen zeigt deutlich mehr Werte oberhalb des Cut-Offs an.



3.2.5. Patienten mit Verdacht auf Myopathie und maligner Hyperthermie

In den insgesamt 18 Seren von Patienten mit Verdacht auf Myopathie, darunter fünf Patienten mit maligner Hyperthermie, konnte in keinem Fall ein Wert oberhalb des Cut-Offs gefunden werden. Auch die zum Vergleich durchgeführten cTnI und cTnT Assays ergaben keine erhöhten Werte (Abbildung 24).

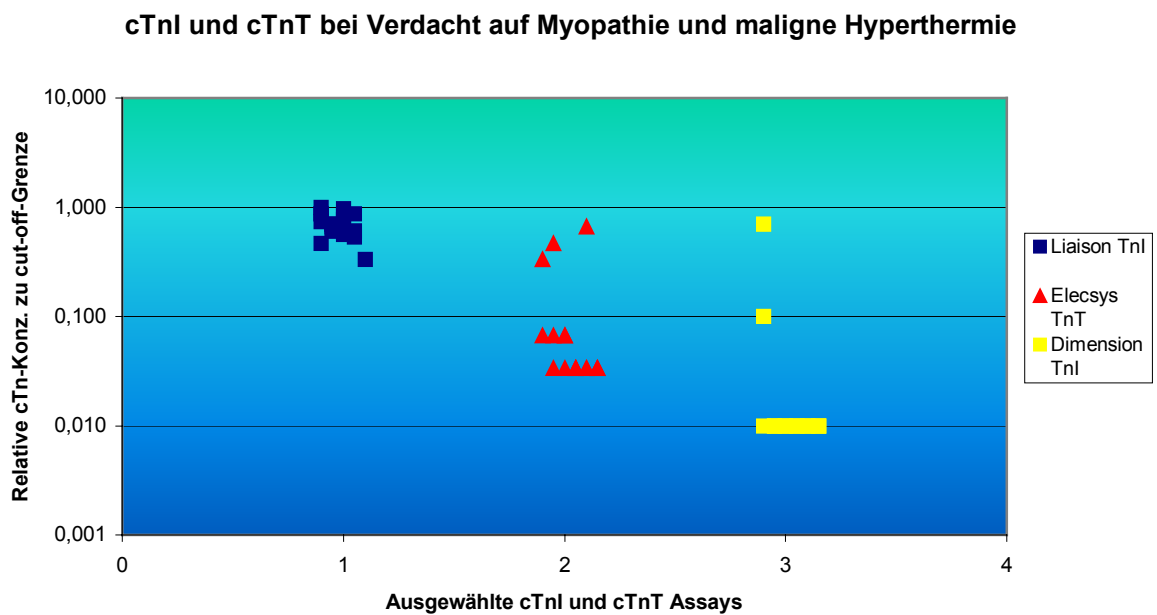


Abbildung 24: Übersicht – Patienten mit Muskelbiopsien/maligner Hyperthermie; n=18



3.2.6. Patienten mit chronischer Muskeldystrophie

Die Ergebnisse der Patienten mit Muskeldystrophie Typ Duchenne werden in Abbildung 25 graphisch dargestellt.

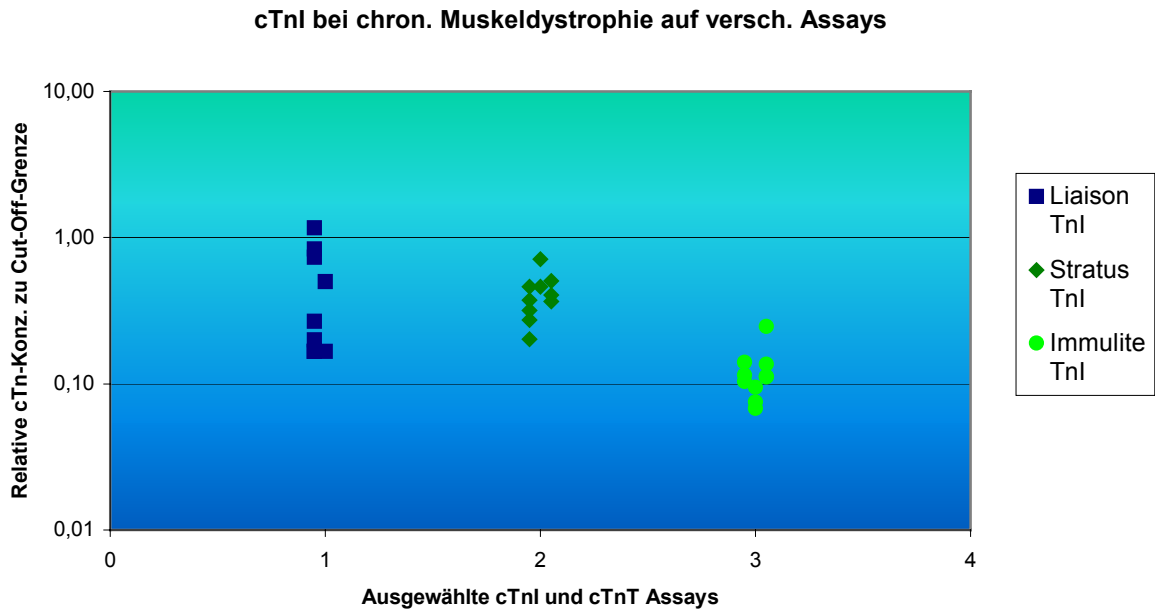


Abbildung 25: Übersicht Patienten mit chronischer Muskeldystrophie Typ Duchenne; n=10

Im Gegensatz zu den beiden anderen cTnI Assays zeigte der Liaison Assay bei einem Patienten leicht erhöhte cTnI Werte.



3.2.7. Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis

Die Ergebnisse der Patienten mit nachgewiesener Polymyositis/Dermatomyositis werden in Abbildung 26 graphisch dargestellt. Alle untersuchten Proben waren mit dem Dimension cTnI-Assay negativ. Dagegen konnten sowohl mit dem Liaison Assay als auch mit dem Elecsys cTnT Assay zwei Patienten mit erhöhten Troponin-Werten gefunden werden.

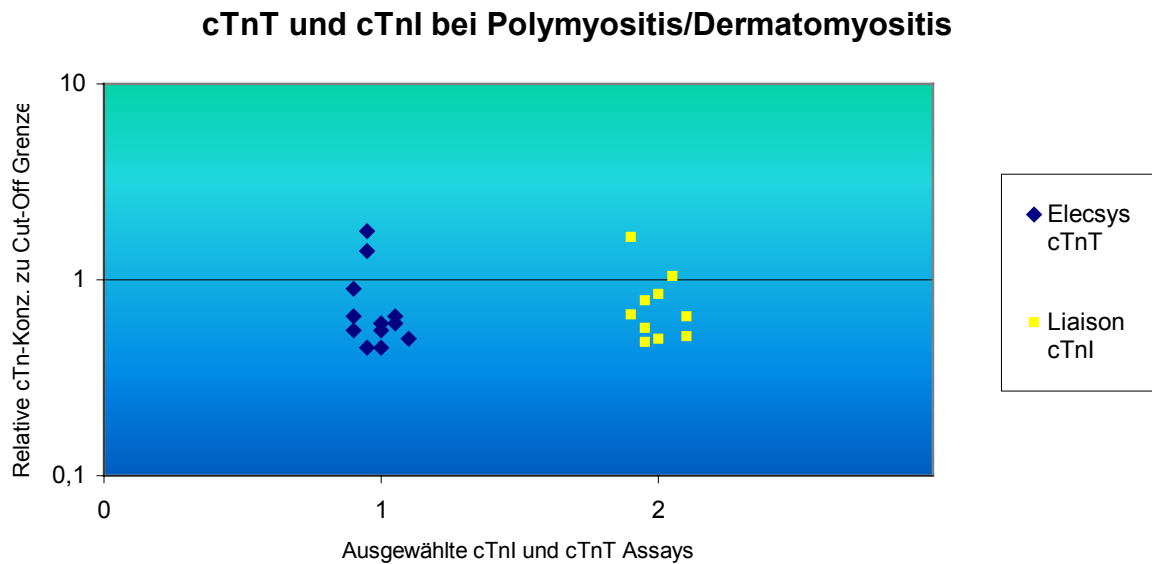


Abbildung 26: Übersicht Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis; n=12

Einer dieser Patienten zeigte zusätzlich erhöhte Werte für CK, CK-MB und Myoglobin.

3.2.8. Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativen Eingriff

Die Abbildung 27 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen bei Patienten mit nicht-herzchirurgischen Eingriffen. Die Daten wurden so dargestellt, dass zum einen nach Assays und zum anderen nach Abnahme vor bzw. nach der Operation unterschieden werden kann.

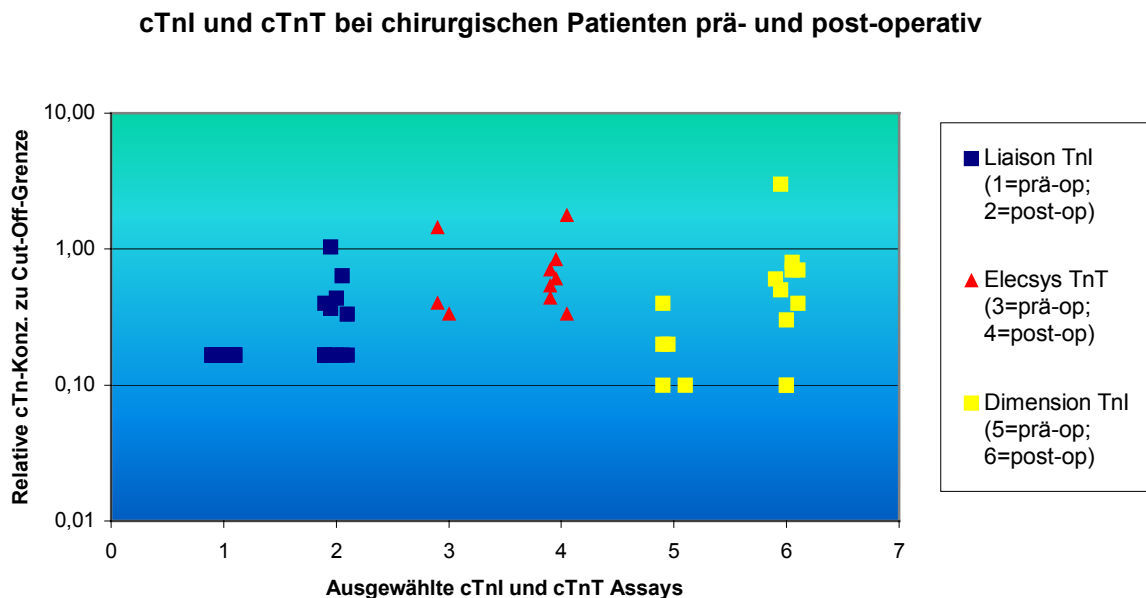


Abbildung 27: Übersicht chirurgische Patienten; n=20

Liaison TnI: 1 ist präoperativ, 2 ist postoperativ;

Elecsys TnT: 3 ist präoperativ, 4 ist postoperativ;

Dimension TnI: 5 ist präoperativ, 6 ist postoperativ.

Bei allen drei Assays ist zu erkennen, dass es einen gewissen Anstieg zwischen prä- und postoperativen Werten gibt. Ein Patient hatte bereits vor der Operation einen leicht erhöhten cTnT Wert. Dieser Patient hatte eine chronische Niereninsuffizienz vor Nierentransplantation. Die postoperativ leicht erhöhten Troponinwerte waren nur bei jenen Patienten nachzuweisen, bei denen eine herznahe Operation durchgeführt wurde.

3.2.9. Vergleich zwischen verschiedenen cTn-Assays

In den folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen nochmals zusammenfassend dargestellt. In erster Linie soll dabei die diagnostische Empfindlichkeit der einzelnen Assays herausgearbeitet werden.

Um die Unterschiede zwischen den einzelnen Assays bei den verschiedenen Krankheitsbildern besser darstellen zu können, wurden für die Vergleiche Vier-Felder-Tafeln (Abbildung 28 bis Abbildung 30) erstellt. In diesen sind die Messwerte des jeweiligen Vergleichsassays auf der x-Achse und die Messwerte des Liaison-TnI-Assays auf der y-Achse aufgetragen. Die Messwerte werden hierbei relativ zum Cut-Off-Index aufgetragen. Aus den folgenden Vierfeldertafeln kann man ersehen, ob die entsprechenden Messwerte für die jeweiligen Patientenkollektive ober- oder unterhalb des Cut-Off-Indexes des jeweiligen Assays liegen.

Folgende Assays wurden auf diese Weise mit dem Liaison Assay verglichen:

- Immulite Troponin I
- Elecsys Troponin T
- Dimension Troponin I.

3.2.9.1. Immulite cTnI versus Liaison cTnI

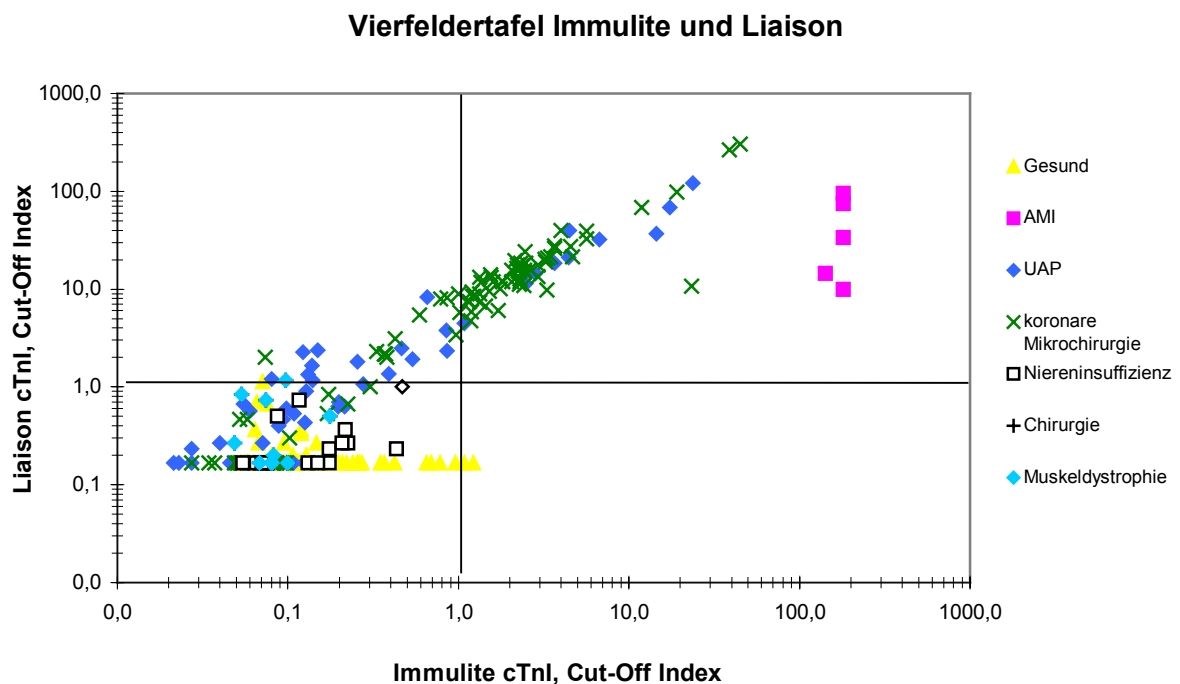


Abbildung 28: Vierfeldertafel Immulite und Liaison
Vergleich der Messwerte verschiedener Patientengruppen in einer Vier-Felder-Tafel für Immulite cTnI (x-Achse) versus Liaison cTnI (y-Achse).



Vergleicht man den in Abbildung 28 dargestellten Immulite-Assay mit dem Liaison, ist eine gewisse Linksverschiebung darstellbar. Die gesunden Patienten befinden sich größtenteils im diagnostisch negativen Bereich, wobei einige beim Immulite den Cut-Off überschreiten. Außerdem ist klar ersichtlich, dass für UAP die Sensitivität des Liaison höher als beim Vergleichsassay ist. Vor allem bei diesen Patienten (mit UAP) sind deutlich mehr cTn-Werte mit dem Liaison positiv, während sie mit dem Immulite Assay noch innerhalb der Referenzbereiche liegen (Zeichen im linken oberen Quadranten).

3.2.9.2. Elecsys cTnT versus Liaison cTnI

Vierfeldertafel Elecsys und Liaison

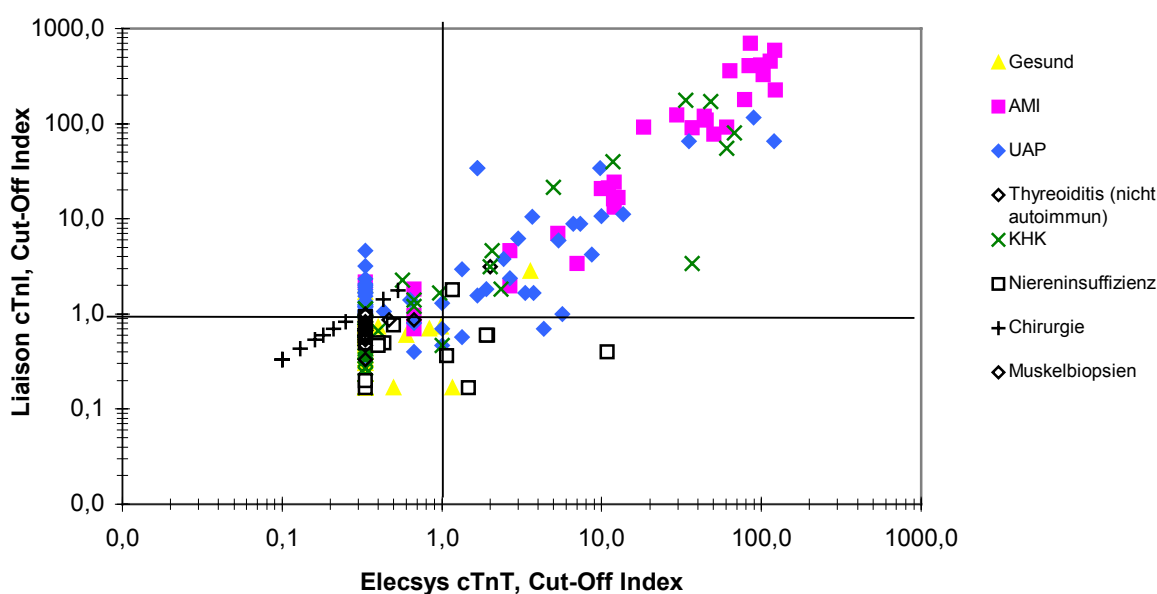


Abbildung 29: Vierfeldertafel Elecsys TnT und Liaison

Vergleich der Messwerte verschiedener Patientengruppen in einer Vier-Felder-Tafel für Elecsys Troponin T (x-Achse) versus Liaison cTnI (y-Achse).

Im Vergleich des Liaison Assays mit dem cTnT Assay ergibt sich eine insgesamt gute Vergleichbarkeit beider Assays (Abbildung 29). Auffällig ist jedoch die etwas höhere Nachweisempfindlichkeit bei Patienten mit UAP und die größere Anzahl an cTnT-positiven Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz.

3.2.9.3. Dimension cTnI versus Liaison cTnI

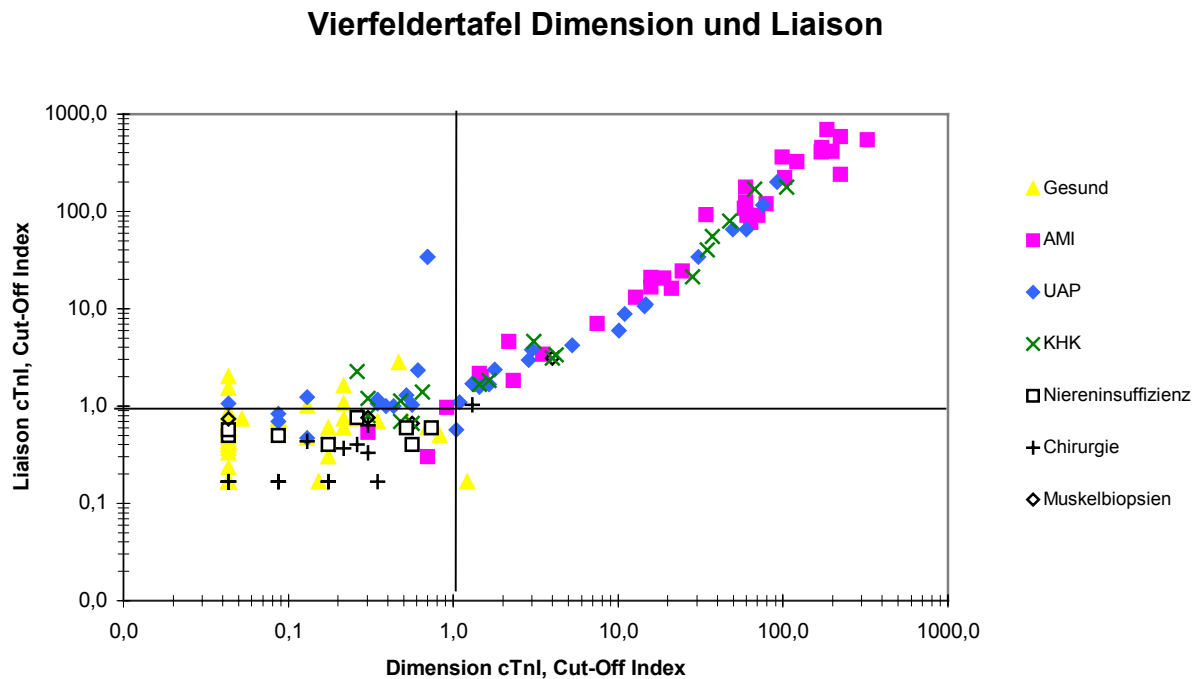


Abbildung 30: Vierfelder-Tafel Dimension und Liaison

München; Vergleich der Messwerte verschiedener Patientengruppen in einer Vier-Felder-Tafel für Dimension cTnI (x-Achse) versus Liaison cTnI (y-Achse).

Betrachtet man in der Abbildung 30 das Verhältnis der zutreffenden Diagnosen zwischen Dimension und Liaison, so ist auch hier eine gute Vergleichbarkeit ersichtlich. Auffällig ist jedoch, dass deutlich mehr UAP-Patienten vom Liaison positiv erkannt werden, während sie mit dem Dimension noch negativ gemessen werden.

Insgesamt zeigt der Liaison Troponin I Assay eine gute Vergleichbarkeit in der diagnostischen Effizienz mit bereits etablierten Assays zur Bestimmung von kardialen Troponinen. Bei der Empfindlichkeit in der Erkennung minimaler Myokardnekrosen bei Patienten mit UAP scheint der Liaison Assay jedoch Vorteile gegenüber den anderen Assays zu besitzen.



4. Diskussion

4.1. Kardiale Troponine in der Diagnostik akuter Koronarsyndrome

Akuter Myokardinfarkt

Da im Blutstrom gesunder Individuen kardiale Troponine nur in sehr geringen Konzentrationen ($0,0002 \text{ ng/ml} \pm 0,0001 \text{ ng/ml}$) nachweisbar sind⁽⁵¹⁾, haben sie eine sehr hohe diagnostische Sensitivität für minimale Verletzungen des Herzmuskels. Eine Erhöhung der Troponinspiegel kann daher auch bei solchen Patienten mit Brustschmerz dokumentiert werden, bei denen die bisher eingesetzten Marker einer Herzmuskelnekrose keine Erhöhung aufgewiesen haben.

Dieser Sachverhalt führte zu einer grundlegend neuen Definition „Akuter Myokardinfarkt“ innerhalb der klinischen Kardiologie. Die Neudefinition des Myokardinfarkts basiert auf den Empfehlungen der European Society of Cardiology und des American College of Cardiology, die im September 2000 veröffentlicht wurden.⁽²⁾ Die bisherige WHO-Definition beinhaltete die Mischung aus mindestens zwei von drei Charakteristika von erstens typischen klinischen Symptomen, zweitens Enzymerhöhungen und drittens EKG-Veränderungen. Grund für die Überarbeitung dieser Definition war die extrem hohe Sensitivität und Spezifität von kardialen Troponinen.

Bereits minimale Myokardnekrosen ($< 1,0 \text{ g}$) können durch eine Erhöhung der im peripheren Blut gemessenen Troponine zuverlässig erkannt werden. Deswegen wurde die laborchemische Bestimmung der kardialen Troponine T und I als ein neuer Eckpfeiler in der Herzinfarkt Diagnostik implementiert.⁽²⁾ Durch die hohe Sensitivität werden allerdings mehr Patienten als früher die Diagnose Herzinfarkt erhalten. Die Diskrepanz zwischen der Anzahl der Herzinfarktpatienten mit der früheren Definition verglichen mit der aktualisierten Definition wird von folgenden Patienten ausgemacht: Es liegen bei ihnen zwar keine CK-MB-Erhöhungen vor, sie zeigen aber bei der cTn-Bestimmung Werte oberhalb der diagnostischen Entscheidungsgrenze. Somit werden diese Patienten definitionsgemäß mit einem (kleinen) Myokardinfarkt diagnostiziert. Die neuen Empfehlungen gehen davon aus, dass jede – auch noch so kleine – Herzmuskelnekrose als Infarkt bezeichnet werden kann und werden soll.

Es stellt sich nun jedoch die Frage, ob es überhaupt sinnvoll ist, die Definition von Herzinfarkt so auszuweiten und Millionen von zusätzlichen Menschen mit der doch recht „drastischen“ Diagnose Myokardinfarkt zu konfrontieren und auf diese Weise ihr Leben zu verändern.



Sinn bekommt diese faktische Erweiterung des Begriffs Myokardinfarkt, weil gezeigt wurde, dass mit Hilfe von kardialen Troponinen diagnostizierte Myokardschäden jeglicher Art und Größe eine schlechtere langfristige Prognose für den Patienten bedeuten.(2)

Es gibt einen fließenden Übergang zwischen der neu definierten minimalen Myokardläsion oder auch „minor myocardial damage“ (MMD) genannt bis hin zum „klassischen“ Herzinfarkt. Als MMD werden solche „Mini-Infarkte“ definiert, die eine Erhöhung der Tn-Werte ohne Erhöhung anderer Biomarker aufweisen. Sie werden in der Redefinition als Minimalform des Herzinfarkts angesehen, der in seiner Maximalform als „klassischer Herzinfarkt“ oft einen kardiogenen Schock, eine Herzinsuffizienz oder auch lebensbedrohliche Arrhythmien mit sich bringt.

Da es trotz des gleichen Begriffs offensichtlich eine große Spanne gibt, fordert das erwähnte Konsensusdokument, dass die Herzmuskelläsion eines Patienten durch zusätzliche Parameter wie zum Beispiel linksventrikuläre Funktion, Ausmaß der koronaren Herzerkrankung, Entwicklung der Krankheit in den vergangenen Monaten, etc. beschrieben wird.

Zusammenfassend verlangt die neue Definition, dass folgende zwei Bedingungen erfüllt sein müssen, um einen akuten, sich entwickelnden oder kürzlich abgelaufenen Myokardinfarkt zu diagnostizieren:

1. Typische Erhöhung und allmählicher Abfall der kardialen Troponine oder schneller Anstieg und Abfall anderer biochemischer Marker einer Herzmuskelnekrose kombiniert mit -
2. Einem der folgenden Befunde:
 - 2a) Ischämische Symptome,
 - 2b) Entwicklung von pathologischen Q-Zacken im EKG,
 - 2c) Für Ischämie typische EKG-Veränderungen (ST-Hebung/Senkung), oder
 - 2d) Koronarangiographische Intervention (z.B. PTCA).

Diese neue Definition wird zu einem Anstieg der dokumentierten Herzinfarktfälle aber auch dank frühzeitiger Diagnose zu einer Verbesserung der Therapie und Prognose der Patienten führen.

Auf Grund dieser neuen Definition stellt sich allerdings folgende Frage: Wo liegt die Grenze für die Definition einer myokardialen Nekrose? Bezüglich des Troponins wird die Grenze als das 99ste Perzentil einer Referenz-Kontroll-Gruppe definiert. Zusätzlich wird jedoch gefordert, dass in diesem Messbereich ein maximaler CV von 10% liegt, um eine statistisch präzise Aussagekraft in diesem kritischen Entscheidungsbereich zu gewährleisten. Allerdings gibt es bisher keinen cTn-Assay, der diese geforderte Präzision aufbringt. Als Entscheidungsgrenze wird deshalb die 99. Perzentile eines Kontrollkollektivs oder der Bereich der funktionellen Sensitivität (CV von 20%) herangezogen. Teilweise werden auch andere Grenzwerte benutzt, die in klinischen Studien definiert wurden.



Um eine möglichst gute Vergleichbarkeit innerhalb dieser Studie zu gewährleisten, wurde - wenn möglich - die 99ste Perzentile eines potenziell gesunden Referenzkollektivs für den jeweiligen Assay als Cut-Off definiert. Die einzigen im Konsensus neben den kardialen Troponinen noch empfohlenen Marker sind CK-MB (als Massenkonzentration), die Gesamt-CK sowie Myoglobin. Von den früher eingesetzten Herzenzymen wie ASAT, LDH oder LDH-Isoformen wird nunmehr gänzlich abgeraten.

Bezüglich des Zeitrahmens wird gefordert, dass Blutabnahmen zur Bestimmung der cTn-Spiegel bei Aufnahme, 6-9h danach und schließlich 12-24 h nach vermutetem Erstauftreten der Symptome, bzw. nach erster Abnahme bei Aufnahme ins Krankenhaus durchgeführt werden. Von einigen Autoren werden zur Diagnosesicherung Kombinationen von schnellen Markern (z.B. Myoglobin) und langsameren Markern (z.B. cTn) empfohlen.⁽²⁾

Zur Übersicht wird in Abbildung 31 nochmals der Zeitverlauf der verschiedenen Biomarker mit Unterscheidung Oberes Referenzlimit bzw. AMI Entscheidungslimit dargestellt.

Zeitverlauf der Freisetzung verschiedener Biomarker

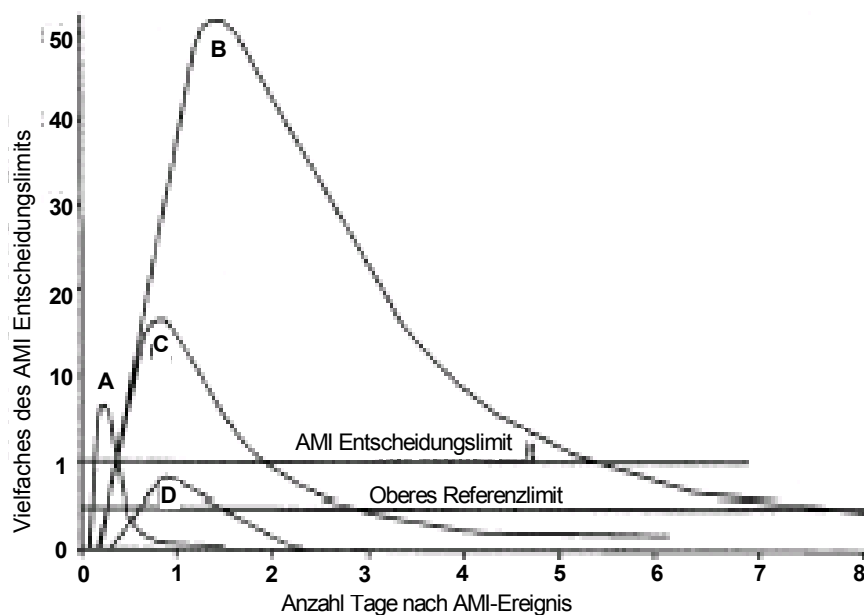


Abbildung 31: Zeitverlauf der Freisetzung verschiedener Biomarker

Zeitverlauf der Freisetzung verschiedener Biomarker in Folge von akutem, ischämischen Myokardinfarkt, wie von der ESC/ACC im Konsensusdokument vorgeschlagen

Gipfel „A“: Frühe Freisetzung von Myoglobin oder CK-MB Isoformen nach AMI;

Gipfel „B“: Kardiales Troponin nach AMI;

Gipfel „C“: CK-MB nach AMI;

Gipfel „D“: Kardiales Troponin bei instabiler Angina pectoris.

Die Werte auf der y-Achse wurden auf einer relativen Skala aufgetragen, wobei 1,0 als AMI Cut-Off-Konzentration definiert ist.^{(2)⁵}

⁵ Zu finden auf Seite 965 des Originalartikels



Instabile Angina pectoris

Die klinische Diagnose „Instabile Angina pectoris (UAP)“ ist eine Ausprägung der koronaren Herzkrankheit (KHK) und wird auch als Vorstufe des AMI bzw. des plötzlichen Herztods betrachtet.^(13, 11) Mehrere Studien zeigten, dass die 30-Tage-Progressionsrate von einer instabilen Angina zu einem Herzinfarkt bis zu 20% betragen kann.^(80, 77, 78, 67) Mit Hilfe kardialer Troponine können Patienten mit UAP in zwei Gruppen eingeteilt werden.⁽⁴⁹⁾ Patienten mit UAP und gleichzeitig erhöhten cTn Werten haben im Vergleich zu UAP-Patienten mit normalem cTn ein fünffach erhöhtes Risiko, innerhalb von 4-6 Wochen einen AMI oder plötzlichen Herztod zu erleiden.^(54, 3)

Erhöhte cTn-Spiegel bei Patienten mit ACS können als Ausdruck einer Ischämie durch Thrombozytenaktivierung und -aggregation betrachtet werden, die in einer anschließenden Nekrose durch distale Embolisierung mit Thrombi resultiert. Die Hypothese, dass kardiale Troponine als Marker für Thrombus-Formierung gelten, wird durch angiographische Studien unterstützt.⁽³¹⁾

In der PRISM-Studie wurden 2.222 Patienten mit KHK und mit innerhalb der letzten 24 h aufgetretenem Brustschmerz diagnostisch und therapeutisch evaluiert. Für cTnI-positive Patienten lag die Rate eines Herzinfarkts bzw. plötzlichen Herztods innerhalb der ersten 30 Tage bei 13,0%. Die Vergleichsrate für die cTnI-negative Gruppe war bei 4,9% ($p < 0,001$). Die randomisierte Studie untersuchte ebenfalls den therapeutischen Effekt von Tirofiban, einem Glykoprotein-IIb/IIIa-Inhibitor der Thrombozyten, im Vergleich zu Heparin. Während in der cTnI-positiven Gruppe Tirofiban ein niedrigeres Herzinfarkt- bzw. plötzliches Herztod-Risiko bewirkte ($p = 0,004$, bzw. $p = 0,01$), zeigte es bei der cTnI-negativen Gruppe keinen statistisch signifikanten Effekt. Ähnliche Risiko-Stratifizierungen wurden auch bei cTnT-Messungen beobachtet. Diese Ergebnisse bestätigten die Hypothese, dass erhöhte cTnI- und cTnT-Werte zuverlässig diejenigen Patienten mit ACS identifizieren können, die von einer zusätzlichen Tirofiban-Behandlung profitieren können.⁽³⁰⁾ Diese Resultate wurden in anderen Studien zur Evaluierung von Glykoprotein IIb/IIIa-Hemmern wie Abciximab (ReoPro®)⁽³¹⁾ und Eptifibatide (Integrillin®)⁽⁹⁾ bestätigt.

Auch in den TIMI-II-Substudien⁽⁵²⁾, sowie in der FRISC-Studie⁽⁴⁷⁾ wurden erhöhte cTnI-Werte während der ersten 24 h mit signifikant erhöhter Morbidität und Mortalität assoziiert. Erhöhte cTn-Werte waren bei diesen Studien auch bei fehlenden ST-Strecken-Hebungen sowie bei normaler CK-MB prognostisch aussagekräftig.

Analysen der obigen und weiterer Studien konnten bestätigen, dass ein erhöhter cTnI-Spiegel zuverlässig Patienten mit erhöhtem Risiko für kardiale Folgeereignisse wie z.B. schwere rekurrende Ischämie identifiziert.^(3, 24)



Thrombolytische Therapie („Lyse“), PTCA und Stenting

Neben der Diagnostik können kardiale Troponine auch zur Verlaufskontrolle nach invasiver Therapie einer KHK wie auch bei anderen Erkrankungen des Myokards eingesetzt werden. So können kardiale Troponine zur Erfolgskontrolle einer medikamentösen thrombolytischen Therapie (i. v. Thrombolyse) oder einer Akut-PTCA bei einem Koronararterienverschluss eingesetzt werden. Wird ein frisch verschlossenes Gefäß wieder geöffnet, werden große Mengen an kardialen Enzymen und Proteinen durch die wiedereröffneten Koronargefäße venös ausgeschwemmt.(42) Dies wird als „Washout-Phänomen“ bezeichnet. Findet man z.B. bei einer i. v. Thrombolyse 90 Minuten nach Therapiebeginn eine massive Erhöhung der Troponin-Werte im Vergleich zur Messung vor der Intervention, so kann man davon ausgehen, dass die thrombolytische Therapie erfolgreich war.(82, 81) Diese nicht-invasive Form der Erfolgskontrolle ist mit der (invasiven) Standardkontrolle durch Angiographie jedoch nur dann vergleichbar, wenn zu Beginn eine komplette Okklusion vorlag.(75, 5, 16)

Eine diagnostische Herausforderung stellen auch jene Fälle dar, in welchen nach *elektiver* PTCA oder Stent-Implantation ein erhöhter Tn-Spiegel im Blut nachweisbar ist. Nach den neuen Kriterien sollte diese Tn-Erhöhung als Anzeichen einer Nekrose mit dem Begriff „Myokardinfarkt“ bezeichnet werden. Diese „Mini-Infarkte“ sind wahrscheinlich durch Mikroemboli aus der während PTCA therapierten atherosklerotischen Läsion bedingt. Laut Konsensusdokument ist es wichtig, diese Troponinschwankungen vor und nach der Intervention durch serielle Blutanalysen zu erfassen. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass das Risiko für Folgeereignisse wie z.B. Herztod oder manifesten Myokardinfarkt auch bei nur leicht erhöhten Tn-Spiegeln nach Interventionen im Vergleich zu Interventionspatienten ohne Markerauffälligkeiten deutlich erhöht ist.(2)

Koronare Bypässe (Coronary Artery Bypass Grafting – CABG)

Swaanenburg et al. veröffentlichten 2001 eine Studie, in welcher die Muster der Freisetzung von Herzmarkern bei verschiedenen, komplikationslos verlaufenden herzchirurgischen Operationen untersucht wurden.(65, 64) Sie konnten zeigen, dass die Muster in Abhängigkeit von der durchgeführten Operation verschieden sind. Die höchsten Troponinspiegel resultierten aus Klappen-Ersatz-OPs, während koronare Bypässe (CABG) mit Herz-Lungen-Kreislaufumgehung niedrigere Werte zeigten. CABG ohne Herz-Lungen-Kreislaufumgehung zeigten dagegen keine signifikanten Steigerungen der Troponinspiegel.

Der Mechanismus der Herzmuskelschädigung kann bei Herzoperationen vielseitig sein (chirurgische Nahten, chirurgischer Schaden, globale Ischämie durch inadäquate Perfusion, etc.). Allerdings ist noch kein Biomarker in der Lage, eine ischämisch ausgelöste Herzmuskelnekrose (Herzinfarkt) von intraoperativ beschädigtem Herzmuskel zu unterscheiden. Trotzdem kann das Ausmaß der Markererhöhung zur Quantitätsbeurteilung des Schadens herangezogen werden.(2)



Herz-Transplantationen

Nach Herztransplantationen zeigt sich dagegen ein etwas anderes Bild. So kommt es bei allen Patienten nach der OP zu einem Anstieg der kardialen Troponine.⁽⁴⁴⁾ Auch ein Jahr nach Transplantation zeigten laut einer Studie 56% dieser Patienten konstant erhöhte cTnI-Spiegel. Diese cTnI-Erhöhung war mit vermehrten Fibrinablagerungen in Gefäßen und Kardiomyozyten assoziiert. Gleichzeitig hatten diese Patienten ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von KHK, sowie ein erhöhtes Risiko für ein Versagen des Herztransplantats. Gleiches konnte auch für das cTnT gezeigt werden.⁽¹⁹⁾

Weitere Herzerkrankungen

Da die kardialen Troponine nicht spezifisch für ein ACS sind, sondern nur anzeigen, ob Herzmuskelzellen nekrotisch werden, können auch alle anderen Zustände, die mit einem Untergang von Herzmuskelzellen assoziiert sind, zu einem Anstieg der cTn führen. Dies gilt in erster Linie für Entzündungen des Myokards,⁽⁴⁵⁾ Traumata⁽⁶⁶⁾ oder auch akute Druckbelastungen, wie z.B. bei Patienten mit Lungenembolie⁽²⁶⁾.

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die kardialen Troponine spezifische und sensitive Parameter in der Diagnostik von Herzmuskelläsionen darstellen. In erster Linie können sie in der Diagnostik, Risikostratifizierung, Therapieentscheidung⁽¹⁵⁾ und in der Verlaufskontrolle bei Patienten mit ACS eingesetzt werden. Weitere Anwendungsmöglichkeiten sind auch die Diagnostik bei anderen Erkrankungen, die mit dem Untergang von Herzmuskelzellen einhergehen.



4.2. Analytische Evaluierung

Heute wird cTn von Klinikern als einer der spezifischsten biochemischen Marker für Schädigungen des Herzgewebes angesehen.⁽⁶⁹⁾ Durch Verbesserungen der diagnostischen Möglichkeiten für Patienten mit dem Leitsymptom Brustschmerz konnten mit Hilfe der kardialen Troponine einerseits Todesfälle vermieden werden und andererseits die mit einer unnötigen, teuren weiterführenden Diagnostik und Behandlung verbundenen Kosten gesenkt werden. Die Bedeutung der kardialen Troponine wurde durch die Aufnahme in die Protokolle der National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice⁽⁷³⁾, des American College of Cardiology/American Heart Association Guidelines for Unstable Angina⁽¹²⁾, der Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction⁽²⁾ sowie durch die alltägliche Anwendung in der klinischen Praxis klar hervorgehoben. Da nun jedoch mehr und mehr kommerziell verfügbare Troponin-Immunoassays auf den Markt strömen, ist es notwendig, Qualitätsanforderungen und Standardisierungen bei diesen Assays zu definieren und durchzusetzen. Um dieser Aufgabe gerecht zu werden, haben europäische und amerikanische Fachgesellschaften das „IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage“ gegründet und 1999 entsprechende Empfehlungen herausgegeben. Darin werden die notwendigen Qualitätsanforderungen und Standardisierungsmethoden definiert. Schlüsseleigenschaften für die zuverlässige klinische Anwendung dieser idealerweise automatisierten Assays sind:

- Hohe Sensitivität und Spezifität
- Analytische Genauigkeit
- Schnelligkeit und einfache Durchführbarkeit.

Die von der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine angesprochenen Anforderungen bei der Diagnostik mittels Herzmarkern beinhalten folgende Punkte:^{(57)⁶}

- Analytische Herausforderungen
 - Standardisierung des Tests
 - Präzision des Tests
 - Präanalytische Variabilität
- Zeitdauer bis zum Eintreffen des Messergebnisses
 - Schnelligkeit des Assays
 - Verfügbarkeit des Assays nahe der Behandlungseinheit
- Wirtschaftliche Aspekte (Kosten-Nutzen-Verhältnis)
- Richtlinien (diagnostische Gold-Standards)
- Prognostische Implikationen.

⁶ Seite 20, Tabelle 1 des angegebenen Artikels



4.2.1. Standardisierung des Tests

Eine ideale Standardisierung der cTnI-Tests würde bedeuten, dass die gleiche Probe mit jedem cTnI-Assay annähernd identische Ergebnisse der cTnI-Konzentration liefert. Die verfügbaren Immunoassays zur Bestimmung der cTnI-Spiegel benutzen jedoch Antikörper, die verschiedene Epitope des cTnI-Antigens erkennen. Auch sind die Assays alle gegen unterschiedliche Standards kalibriert (z.B. freies cTnI, cTnI-cTnC-Komplex, rekombinantes cTnI, rekombinanter cTnI-cTnC-Komplex, etc.). Aus diesem Grund ergeben die verschiedenen cTnI Assays teilweise sehr weit auseinanderliegende Ergebnisse, die einen direkten Vergleich der Messwerte beinahe unmöglich machen.

Beispielsweise wird im Vergleich zwischen dem Opus® cTnI-Assay und dem Sanofi Pasteur® cTnI-Assay zwar eine relativ gute Korrelation festgestellt, jedoch waren die absoluten Opus® cTnI-Werte durchschnittlich zehn Mal so hoch wie die absoluten Sanofi® cTnI-Werte. Auch in einem ähnlichen Vergleich zwischen Opus® cTnI und dem Access® cTnI-Assay wurden trotz einigermaßen guter Korrelation signifikante absolute Unterschiede zwischen beiden Messmethoden gefunden.

Um diese Probleme zu lösen, wurden folgende Forderungen aufgestellt:(57)

Forderungen an die Hersteller

- Antikörper sollten sowohl gereinigtes isoliertes cTnI als auch den cTnI-cTnT und cTnI-cTnC-Komplex äquimolar erkennen
- Auch oxidierte und reduzierte Formen des cTnI sollten erkannt werden
- Ebenfalls sollten phosphorylierte Formen des cTnI durch die verwendeten Antikörper erkannt werden.

Die internationalen Verbände und Organisationen arbeiten derzeit weiter an einem Konsensus zur Standardisierung der cTnI-Assays.

Die Antikörper des hier evaluierten Assays sind gegen das stabile Epitop in cTnI gerichtet und erkennen sowohl gereinigtes, isoliertes cTnI als auch die Komplexe (cTnI-cTnT oder cTnI-cTnC). Zudem werden auch die phosphorylierten Formen des cTnI erkannt.(39)

Die Kalibration und Standardisierung des Liaison Troponin I Assays erfolgte seitens des Herstellers mit einem neuen Antigen als Standardmaterial, welches einen rekombinanten Troponin-I-Troponin-C-Komplex darstellt.(39) Dieser Komplex wurde in einer Referenzmaterialien untersuchenden Studie verglichen und mit anderen Referenzmaterialien als Kalibrator empfohlen.(15)



Analytischer Methodenvergleich

Wie erwartet, gab es keine direkten Vergleichsmöglichkeiten der absoluten Werte zwischen den verschiedenen Assays. Die unterschiedlichen Assays sollten auf statistische Korrelationen geprüft werden. Es konnte für kein Methodenpaar eine lineare Regression über den gesamten Messbereich festgestellt werden.

Trotzdem war die Korrelation zwischen den Methoden mit r-Werten zwischen 0,91 und 0,98 über den gesamten Messbereich befriedigend. Auch der verkleinerte Messbereich von 0 bis 0,5 ng/ml zeigte zufriedenstellende Korrelationskoeffizienten mit Werten von r zwischen 0,88 und 0,97. Die schlechteste Korrelation ergab sich dabei mit dem Elecsys TnT im niedrigen Messbereich.

4.2.2. Präzision des Assays

Intra-Assay-Präzisionsbestimmung

Die Intra-Assay-Präzision liegt für die Münchner Untersuchungen im Durchschnitt bei einem CV von 3,73%, bei den Untersuchungen in Mainz bei 5,43%. Erwartungsgemäß zeigten die niedrigen Werte eine höhere Impräzision als die hohen Werte.

Außerdem konnte keine positionsabhängige Drift gefunden werden, da keine Korrelation zwischen Messposition und Messwert nachgewiesen werden konnte.

Inter-Assay-Präzision

Auch die Werte der Inter-Assay-Präzision zeigten sich mit 4,36% bis 13,85% relativ niedrig, wobei der durchschnittliche CV bei den Untersuchungen in München und Mainz mit einem Wert von 7,73% bzw. 7,88% ähnlich lag.

Im Gegensatz zu den schon seit längerer Zeit etablierten Markern einer myokardialen Schädigung wie Myoglobin oder CK-MB gibt es bisher für die kardialen Troponine keine definierten Richtwerte für ihre Präzision.⁽⁵⁷⁾ Trotzdem sollte in Analogie ein möglichst niedriger Variationskoeffizient (CV) angestrebt werden. Panteghini fand bei Untersuchungen zur Präzision der Troponinmessungen eine interessante inverse Korrelation zwischen Testdauer und CV: Je länger der Assay dauert, desto besser (geringer) ist der CV. Scheinbar ist also ein sinnvoller CV eine Art Kompromiss zwischen schnellem Assay mit geringer Genauigkeit und langsamem, dafür jedoch genauem Test.

Wie bereits oben erwähnt, ist die neue diagnostische Entscheidungsgrenze als das 99. Perzentil einer gesunden Referenzpopulation definiert, sofern bei diesem Wert im Rahmen der totalen Präzisionsbestimmung ein $CV < 10\%$ vorhanden ist.⁽²⁾ Da es bisher jedoch keinen Hersteller gibt, der diesen Anforderungen gerecht wird, soll der Cut-Off Wert dort liegen, wo ein $CV = 10\%$ so nah wie möglich bei der 99. Perzentile besteht.



In unserer Studie hatte der Assay eine 10%ige Präzision bei ca. 0,06 ng/ml. Dieser Wert liegt relativ dicht bei der 99. Perzentile, wie sie hier experimentell bestimmt wurde und kommt den Anforderungen relativ nahe.

Verdünnungslinearität

Die Testung der Verdünnungslinearität führte insgesamt zu einem guten Ergebnis. Selbst die Verdünnung eines Serums mit einer cTnI-Konzentration von 1027 ng/ml zeigte eine gute Linearität mit einer durchschnittlichen Abweichung von 6,1%. In einem Versuch ergab sich jedoch eine durchschnittliche Abweichung von 20,6%. Da jedoch in den letzten drei von vier Verdünnungsstufen immer eine prozentuale Abweichung zwischen 24% und 29% auftrat, wird ein Pipettierungsfehler beim zweiten Verdünnungsschritt vermutet, der sich anschließend fortgesetzt hat. Dieser Versuch wurde somit von der weiteren Interpretation ausgeschlossen.

Die Verdünnungslinearität spielt bei cTnI, wie bei fast allen Laborparametern, eine wichtige Rolle, da in der Klinik häufig die Dynamik der Konzentrationsänderung betrachtet wird. Je nach cTnI-Anstieg bzw. cTnI-Abfall ist es möglich, eine diagnostische Aussage zu treffen. Auch die absolute Höhe der maximalen cTnI-Konzentration wird von Klinikern teilweise als wesentlich zur Beurteilung des morphologischen Schadensmaßes angesehen.^(2, 65) Somit ist es wichtig, auch Konzentrationen eindeutig zu bestimmen, die im Bereich der oberen Messgrenze des Assays liegen. Durch die Verdünnungsversuche konnte festgestellt werden, dass auch bei cTnI-Konzentrationen oberhalb der Messgrenze des Verfahrens nach Verdünnung eine korrekte Messwertermittlung möglich ist.

Funktionelle Sensitivität und 10% CV

Die in der Versuchsanordnung experimentell bestimmte funktionelle Sensitivität des Assays liegt - definiert durch einen CV von 20% - bei 0,03 ng/ml. Dieser Wert entspricht der oberen Referenzbereichsgrenze des Parameters (siehe unten). Die inzwischen wichtigere Entscheidungsgrenze ist jedoch die Analytkonzentration, bei welcher der CV bei 10% liegt. Diese Analytkonzentration liegt bei 0,06 ng/ml und somit nicht deutlich oberhalb der Referenzbereichsgrenze. Venge et al.⁽⁷⁰⁾ fanden in eigenen Untersuchungen einen sogar noch günstigeren Wert mit einer funktionellen Sensitivität bei 0,015 ng/ml und einem 10% CV bei 0,027 ng/ml. Allerdings wurden diese Untersuchungen an nur einem Zentrum durchgeführt. Berücksichtigt man jedoch diese Ergebnisse, so ist die diagnostische Aussagekraft eines nur minimal erhöhten cTnI-Werts nicht wesentlich eingeschränkt und ein Wert knapp oberhalb der Referenzbereichsgrenze von ca. 0,03 ng/ml deutet auf eine Freisetzung aus dem Herzen hin.

Referenzwerte gesunder Personen ohne Herzkrankheiten



Zur Ermittlung des Referenzbereichs wurden zwei verschiedene Populationen verwendet. Dabei zeigte sich, dass die in Mainz gemessenen Blutspender eine linksschiefe Verteilung aufwiesen und die in München untersuchten Krankenhauspatienten, die wegen nicht-kardialer Ursachen aufgenommen wurden (z.B. Augen-Operationen), eine der Gauß-Verteilung ähnliche Kurve ergaben. Auch ist beachtlich, dass der Unterschied zwischen München und Mainz auf der 99. Perzentile doch erheblich ist (München 0,034 ng/ml und Mainz 0,021 ng/ml). Dies kann zwar einerseits an Systemfehlern liegen, wahrscheinlicher jedoch durch die Patientenzusammensetzung bedingt sein. So konnten Kratz et al. ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit des Referenzbereichs vom ausgewählten Kollektiv zeigen, wobei auch hier Blutspender deutlich niedrigere Troponinkonzentrationen als hospitalisierte Patienten aufwiesen.⁽⁴¹⁾

4.2.3. Präanalytische Variabilität

Die präanalytische Variabilität bezeichnet die Unterschiede in den Messergebnissen, die durch folgende Faktoren bedingt sein können:⁽⁵⁷⁾

- Lagerungsdauer der Proben
- Temperaturunterschiede während der Probenlagerung
- Vorkommen, bzw. Anzahl von Gefrier-Auftau-Zyklen der Proben
- Einfluss verschiedener Probenmaterialien (Serum, EDTA-Plasma, Citrat-Plasma, Heparin-Plasma, etc.)
- Störinterferenzen durch Lipidämie, Bilirubinämie oder Hämolyse.

Durchgeführte Studien zeigten, dass im Vergleich der verschiedenen Assays erhebliche Unterschiede in der präanalytischen Variabilität bestehen.⁽⁵⁷⁾ Klar ist jedoch, dass diese präanalytische Variabilität für jeden Assay verschieden ist und somit untersucht und dokumentiert werden muss.

Einfluss von Probenmaterial

Die Vergleiche zwischen Serum und Plasmaproben (EDTA, Citrat und Heparin) zeigten eine insgesamt gute Korrelation. Die Werte in EDTA- und Citrat-Plasma sind ca. 7% niedriger als im Serum, bei Heparin finden sich dagegen 26% tiefere Werte als im Serum. Auf Grund dessen ist es notwendig, für jedes Material einen eigenen Referenzbereich und Cut-Off zu definieren. Dies ist v.a. in der US-amerikanischen klinischen Umgebung wichtig, da dort Heparin-Plasma als Material zur Troponin-Diagnostik benutzt wird.

Die mit dem Liaison dargestellte Korrelation zwischen Heparin und Serum stimmt gut mit den Ergebnissen von Gerhardt et al. überein, die 15% niedrigere Werte bei Verwendung von Heparin-Plasma fanden. Die von ihnen vorgeschlagene Erklärung ist, dass das Heparin an



Troponin bindet und dadurch die Immunreaktivität senkt, dies jedoch stark vom verwendeten TnI-Antikörper abhängt.(25)

Wu hingegen zeigte, dass das EDTA die Troponinkomplexe in individuelle Untereinheiten aufbricht, während Heparin keine solchen Effekte aufweist.(74) Dies könnte auch die niedrigeren gemessenen cTnI-Konzentrationen im EDTA-Plasma im Vergleich zu Serum erklären.

Einfluss von Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur

Die Stabilitätsmessungen demonstrierten unter den verschiedenen Lagerungsbedingungen gute Ergebnisse. Der Gesamtdurchschnitt der CV in den Untersuchungen in München und Mainz beträgt 7,59%, was ein Indiz für eine gute Stabilität ist.

Im Vergleich zur Kurzzeitlagerung ist die Wiederfindung nach einer Lagerungsdauer von 2 Jahren bei -20°C etwas niedriger. Durchschnittlich waren ca. 15% niedrigere Werte nachweisbar.

Diese relativ gute Langzeitstabilität nach zwei Jahren Lagerung zeigt deutlich, dass die Epitope auch nach sehr langer Lagerung immer noch vorhanden sind und von den eingesetzten Antikörpern erkannt werden. Wäre der Antikörper gegen instabilere Epitope gerichtet gewesen, hätte die Wiederfindung – vor allem in der Langzeitlagerung - deutlich tiefere Werte ergeben müssen.

Einfluss endogener Störsubstanzen

Dieser Teil der Evaluierung erbrachte, dass der Assay nicht durch endogene Störinterferenzen wie z.B. Hämoglobin, Triglyceride oder Bilirubin gestört wird. Der Assay ist auch nicht anfällig gegenüber Paraproteinen, was seine diagnostische Zuverlässigkeit erhöht. Untersuchungen von Panteghini et al. konnten gleiche Resultate zeigen, wobei auch in Seren mit HAMAs keine falsch positiven Ergebnisse nachweisbar waren.(56)

4.2.4. Zeitdauer bis zum Eintreffen des Messergebnisses

In der klinischen Diagnostik eines möglichen Herzinfarkts oder akuten Koronarsyndroms ist Zeit einer der wichtigsten Faktoren, da nur innerhalb eines gewissen Zeitraums eine entsprechende Therapie wie PTCA, Stenting oder Lyse erfolgversprechend eingeleitet werden kann. Daher wird gefordert, dass von der Blutabnahme bis zum Eintreffen des cTnI-Messergebnisses möglichst wenig Zeit vergeht. Hierfür ist zum einen der infrastrukturelle Aufbau Notaufnahme – Messeinheit essentiell, zum anderen natürlich die totale „Turnaround-Time“ von der Blutentnahme bis zur Übermittlung des Ergebnisses an den behandelnden Arzt wichtig. Damit geht der Trend in zwei Richtungen: Zum einen sollen die



cTnI-Assays der neuen Generation immer schneller werden ohne auf eine qualitativ hochwertige und empfindliche Analytik zu verzichten. Zum anderen können an exponierten Stellen wie z.B. Notaufnahmen sogenannte „Point-of-Care“ Geräte installiert werden, die den Versand in ein Zentrallabor erübrigen.⁽⁵⁷⁾ Vorteil der Point-of-Care Lösung ist, dass der Probentransport zum Labor und die Befundrückführung entfallen können. Allerdings ist die diagnostische Empfindlichkeit dieser Assays geringer als die quantitativen Assays im Labor. Das Liaison Testverfahren ist einfach zu bedienen und braucht bis zum ersten Ergebnis nur 17 Minuten. Die weiteren Ergebnisse werden in 20-Sekunden-Intervallen ausgegeben. Damit liegt der Liaison in einer vergleichbaren Größenordnung wie andere zur cTnI-Bestimmung verwendete Analyser.⁽⁶⁾ Die Gesamtzeit bis zum Eintreffen des Ergebnisses, definiert als Zeitdauer von Blutabnahme bis Ergebnisanzeige, ist auch in einem Zentrallabor deutlich unter 60 Minuten und entspricht somit den Empfehlungen der National Association of Clinical Biochemistry (NACB).⁽⁷³⁾

4.2.5. Wirtschaftliche Aspekte

Die stetig steigenden Kosten des Gesundheitswesens stellen für unsere alternde Gesellschaft eine wichtige Herausforderung dar. Deswegen werden wirtschaftliche Aspekte innerhalb der medizinischen Diagnostik und Therapie immer wesentlicher. Bisher wurden die kardialen Troponine und ihr wirtschaftlicher Einfluss auf Kosten, bzw. Nutzen nicht ausreichend evaluiert, so dass in Zukunft Studien zur genauen Einschätzung des Kosten-Nutzen-Verhältnisses speziell auch für den Liaison cTnI-Assay notwendig werden könnten. Dieser Aspekt wurde im Rahmen unserer Evaluierung außer Acht gelassen, so dass hierzu keine weiteren Ausführungen gemacht werden können.

4.3. Klinische Evaluierung

Patienten mit AMI

Die in der Studie verwendeten Herzinfarkt-Patientenproben stammten von Patienten, die von der jeweiligen Klinik eindeutig als Herzinfarkt klassifiziert wurden. Dies geschah nach WHO-Richtlinien mittels einer Kombination von infarkt-typischen EKG-Veränderungen, typischer Klinik, infarkttypischen Enzymveränderungen, sowie einem koronarangiographischen Nachweis. Wie unter *Ergebnisse* dargestellt, ist die diagnostische Empfindlichkeit des Liaison Assays zur Erkennung eines akuten Myokardinfarkts mit anderen cTnI und cTnT Assays vergleichbar, signifikante Unterschiede sind dabei nicht festzustellen.

Auf Grund seiner höheren Messempfindlichkeit scheint der Liaison Assay jedoch gerade während der ersten Stunden nach akutem Schmerzereignis tendenziell häufiger positive



Ergebnisse zu erzielen und somit die Diagnose zu einem früheren Zeitpunkt verifizierbar zu machen.

Patienten mit Angina pectoris/Non-Q-Wave AMI

Die Patienten dieser heterogenen Gruppe profitieren am ehesten von einem sensitiven Assay zur Bestimmung der kardialen Troponine, da die klinische Symptomatik häufig nicht mit der Prognose der Patienten korreliert. Dies wurde auch schon in ersten Arbeiten von Ravkilde et al. 1993 nachgewiesen.⁽⁶⁰⁾ Patienten mit UAP und Positivität von cTnT haben eine gleich schlechte Prognose wie solche mit bereits manifestem AMI. Somit kommt der sicheren und empfindlichen Erkennung dieser Patienten mit einem hohen Risiko eine besondere Bedeutung zu. Wie unter *Ergebnisse* beschrieben, sind mit dem hier evaluierten Liaison cTnI Assay in mehr Patienten positive Werte nachweisbar, als mit den zum Vergleich herangezogenen Assays. Dies gilt sowohl für die Patienten mit instabiler Angina pectoris, als auch für die Patienten mit koronarangiographisch bestätigter KHK, jedoch ohne ACS-typische Beschwerden. Eine nachweisbare Troponinerhöhung auch bei Patienten mit stabiler AP wurde bisher nicht beschrieben. Inwieweit sich diese Positivität allerdings in einer schlechteren Prognose für die Patienten widerspiegelt, muss in weiteren Untersuchungen gezeigt werden.

Zusammengefasst zeigt dies, dass der Assay vor allem in dem diagnostisch wichtigen Entscheidungsbereich eine hohe Sensitivität hat. Wie bereits ausführlichst weiter oben beschrieben, ist ein erhöhter Troponinspiegel bei Patienten mit UAP Ausdruck einer myokardialen Nekrose und korreliert mit einer schlechteren Prognose.⁽³⁰⁾ Auf Grund der Tatsache, dass eine Therapie mit z.B. Thrombozyten hemmenden Mitteln jedoch zu einer Verminderung von Komplikationen wie plötzlichem Herztod führt, hat dies positive Konsequenzen für die Patienten.⁽³⁰⁾

Man könnte postulieren, dass durch noch sensitivere cTnI-Assays wie beispielsweise den Liaison, mehr Risikopatienten identifiziert werden könnten und somit von einer Therapie mit modernen Thrombozytenaggregationshemmern profitieren könnten. Trotzdem ist es wichtig, dass diese vorläufigen, mit nur wenigen Patienten gewonnen Erkenntnisse in größeren klinischen Studien gesichert werden.

Patienten mit herzchirurgischem Eingriff

Bei diesem Patientenkollektiv zeigte sich bei allen Behandelten, bedingt durch die operative Manipulation, ein Anstieg des cTnI. Dabei war der Anstieg bei Patienten mit CABG ohne extrakorporalen Kreislauf ausgeprägter als bei jenen mit extrakorporalem Kreislauf. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Untersuchungen von Swaanenburg⁽⁶⁵⁾, die höhere Werte bei jenen Patienten fanden, die mit Hilfe des extrakorporalen Kreislaufs operiert wurden. Auf Grund der multifaktoriellen Genese der Freisetzung von kardialen



Markern bei Operationen am Herzen ist ein direkter Vergleich beider Untersuchungen sicher schwierig. Zudem ist die Fallzahl in beiden Untersuchungen gering, so dass die gefundene Diskrepanz am ehesten durch die geringe Patientenzahl bedingt zu sein scheint.

Es sind sicher weiterführende Untersuchungen an einem größeren Patientenkollektiv notwendig, um genauere Aussagen zur Myokardläsion mit konsekutiver Freisetzung kardialer Marker bei Patienten mit Herzoperationen zu treffen.

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz

Bei dieser Patientengruppe zeigte vor allem der Elecsys Troponinwerte oberhalb der Entscheidungsgrenze. Während die cTnI-Assays Stratus und Dimension ebenfalls bei wenigen Patienten Werte über dem Cut-Off lieferten, war beim Liaison nur ein Wert über der diagnostischen Entscheidungsgrenze.

Das Problem der Diskrepanz der gefundenen Werte von Troponin T und I bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ist vielfach beschrieben und ausführlich diskutiert. Zur Erklärung dieser cTn-Erhöhungen werden mehrere mögliche Gründe angeführt: Dies sind z.B. eine ungenügende Sensitivität des cTnI-Assays im unteren Messbereich, eine Eliminierung der vorhandenen geringen Konzentration durch die Dialyse an sich oder auch eine Maskierung der Bindungsstellen der eingesetzten Antikörper durch Heparin. Die diagnostische Empfindlichkeit des Liaison Assays scheint, wie oben beschrieben, sogar besser zu sein als die des cTnT Assays. Eine Eliminierung durch die Dialyse erscheint unwahrscheinlich, da das cTnI sowohl als Einzelprotein als auch im Komplex die Dialysemembran nicht überwinden kann.⁽⁷¹⁾ Da cTnI jedoch einen sehr hohen isoelektrischen Punkt hat, kann es durch das bei der Dialyse zur Gerinnungshemmung verwendete Heparin komplexiert werden und ist somit dem Nachweis entzogen.^(25, 35)

Auf der anderen Seite ist eine koronare Herzerkrankung bei niereninsuffizienten Patienten sehr häufig und zugleich Todesursache Nummer eins. Das bedeutet, dass in Analogie zu Patienten mit KHK aber ohne Niereninsuffizienz theoretisch in gleicher Häufigkeit erhöhte Werte beobachtet werden müssen. Außerdem wird die Troponinerhöhung auch als mögliches Anzeichen für eine linksventrikuläre Schädigung durch eine linksventrikuläre Hypertrophie angesehen.⁽³²⁾ Wayand et al. zeigten zudem, dass nach Dialyse die Konzentration von cTnT erhöht sein kann, wobei dies aber eher einer relativen Erhöhung durch Volumenentzug nach Dialyse entspricht.⁽⁷¹⁾

Insgesamt bestätigen die hier ermittelten Daten jedoch die bislang gefundenen Ergebnisse, dass cTnI bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz weitaus seltener erhöht nachgewiesen werden kann als cTnT. Dabei dürfte der seltenere Nachweis von cTnI auf Grund der beschriebenen Komplexbildung mit Heparin oder Bindung an die Dialysemembran zustande kommen, was natürlich seine diagnostische Effizienz in diesem Patientenkollektiv einschränkt.



Patienten mit V. a. Myopathie und maligner Hyperthermie sowie chronischer Muskeldystrophie

Die Ergebnisse zeigen, dass – wie erwartet – bei Patienten mit V.a. bzw. gesicherter Myopathie der Skelettmuskulatur keine erhöhten Werte von cTnI nachweisbar sind.

Anders verhält es sich jedoch mit Patienten, die an einer chronischen Myopathie vom Typ Duchenne leiden: Die chronische Myopathie Typ Duchenne ist eine X-chromosomale, rezessive Erkrankung, wobei das Dystrophiegen mutiert ist. Die Patienten leiden an einer progressiven Myopathie mit Untergang von Skelettmuskulatur und sterben in der Regel im jungen Erwachsenenalter. Es wurde beschrieben, dass bei diesen Patienten im Serum cTnT nachweisbar ist,⁽⁷⁾ während cTnI nicht nachweisbar ist⁽²⁹⁾. Allerdings konnte auf RNA-Ebene die Expression von RNA für cTnT und cTnI in Biopsieproben dieser Patienten gefunden werden,⁽⁵⁰⁾ wobei jedoch keine Expression des cTnT-Proteins erfolgen soll.⁽²⁹⁾ Mit dem hier evaluierten hochsensitiven Liaison cTnI Assay war in einem von 21 Patienten mit Duchenne'scher Myopathie ein Wert oberhalb der Entscheidungsgrenze nachweisbar. Leider wurden keine Vergleichsuntersuchungen mit dem cTnT Assay durchgeführt. Da jedoch im Vergleich zu den beiden anderen cTnI Assays tendenziell höhere Werte auch innerhalb des jeweiligen Referenzintervalls mit dem Liaison Assay gefunden wurden, könnte die gesteigerte Empfindlichkeit des Liaison Assays zu einem häufigeren Nachweis bei diesen Patienten führen und die von Messner et al.⁽⁵⁰⁾ gefundene RNA-Expression bestätigen. Das war mit den bislang verfügbaren, weniger sensitiven cTnI-Assays noch nicht möglich.

Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis

Die Ergebnisse zeigen, dass zwei Patienten (17%) sowohl im Liaison cTnI als auch im Elecsys cTnT Assay erhöhte Werte aufweisen. Der mitgeführte Dimension cTnI Assay zeigte dagegen in allen untersuchten Proben keine erhöhten Werte. Einer der beiden Patienten hat gleichzeitig erhöhte Werte für CK, CK-MB Konzentration sowie Myoglobin, was auf eine kardiale Schädigung hindeutet. In einer 2001 publizierten Studie fanden Erlacher et al.⁽²¹⁾ bei 39 Polymyositis bzw. Dermatomyositis-Patienten erhöhte cTnI-Werte bei 2,5% der Patienten, wohingegen der cTnT-Wert bei 41% der Proben erhöht war. Die erhöhten cTnT-Werte korrelierten dabei mit dem Schweregrad der Krankheit, während es zwischen cTnI-Werten und Krankheitsgrad keinen Zusammenhang gab.

Die Quelle dieser nachweisbaren cTnT Konzentrationen konnte dabei jedoch nicht eindeutig identifiziert werden, da weder eine Biopsie zum Nachweis einer möglichen Reexpression in der Skelettmuskulatur durchgeführt wurde, noch eine Freisetzung aus dem Herzen mit den klinisch zur Verfügung stehenden Methoden ausgeschlossen werden konnte. Im Gegensatz dazu zeigten beide positive Patienten der hier durchgeführten Untersuchungen sowohl einen erhöhten cTnT Wert als auch einen erhöhten cTnI Wert mit dem Liaison Assay. Da cTnI



bisher nicht in der Skelettmuskulatur nachgewiesen werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass die Freisetzung aus dem Myokard erfolgte.

Dafür spricht auch, dass nur mit dem empfindlicheren Liaison Assay, aber nicht mit dem Dimension Assay eine messbare cTnI-Konzentration nachweisbar war. Am ehesten dürfte somit eine Mitbeteiligung des Herzens ursächlich für diese Erhöhung sein.

Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativem Eingriff

Reine Skelettmuskeltraumata im zuvor nicht erkrankten Muskel sollten zu keiner Nachweisbarkeit des cTnI nach operativem Eingriff führen. Die Untersuchungen an insgesamt 20 Patienten mit großen chirurgischen Eingriffen bestätigten dies auch. Auffällig war allerdings, dass die Troponin-Werte im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert postoperativ tendenziell höher lagen, auch wenn die absoluten Werte noch innerhalb der Referenzbereichsgrenze waren. Trotzdem konnten bei insgesamt drei Patienten mit dem Liaison cTnI Werte oberhalb der Entscheidungsgrenze gefunden werden, wobei bei einem dieser Patienten ebenfalls cTnT nachweisbar war. Allen diesen Patienten war eine herznahe Operation (Gastrektomie, Operationen am Ösophagus) gemeinsam, so dass es auf Grund einer mechanischen Kompression während des operativen Eingriffs zu einer Schädigung des Herzens kommen konnte. Auffällig ist auch ein Patient mit einem erhöhten präoperativen cTnT Wert, der sich postoperativ wieder normalisierte. Dieser Patient wurde nierentransplantiert, so dass der präoperative Wert als „niereninduzierte cTnT-Erhöhung“ gewertet werden kann (siehe oben). Insgesamt zeigen diese Untersuchungen jedoch, dass es bei Skelettmuskeltraumen zu keiner Erhöhung von cTnI kommt. Zusätzlich können, auf Grund der hohen Empfindlichkeit des Assays, auch minimale Herzmuskelläsionen detektiert werden. Dies zeigen die Ergebnisse der Patienten mit herznahen Operationen sehr deutlich.



5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der neue Liaison-cTnI-Assay, ein nach dem Sandwich-Prinzip arbeitender Immunolumineszenz-Assay zur Messung von kardialem Troponin I (cTnI), in einer bizentrischen Studie sowohl analytisch als auch klinisch untersucht.

Die analytische Evaluierung ergab einen Variationskoeffizienten zwischen 1,64% und 13,55% für die Intra-Assay-Präzision, bzw. zwischen 4,36% und 13,85% für die Inter-Assay-Präzision. Die Linearität der Messungen ist bis zu einer Konzentration von 1027 ng/ml gewährleistet, auch wurde für Konzentrationen bis zu 1000 ng/ml kein „high-dose hook“-Effekt beobachtet. Die funktionelle Sensitivität des Assays liegt bei 0,03 ng/ml, ein Variationskoeffizient (CV) von 10% wird bei 0,06 ng/ml erreicht. Die Bestimmung des cTnI kann sowohl im Serum wie auch im Citrat-, EDTA- oder Heparin-Plasma durchgeführt werden, wobei jedoch die absolute Wertlage jeweils unterschiedlich ist. Potenzielle endogene Störfaktoren wie z.B. Hämoglobin, Triglycerid, Bilirubin oder Paraproteine führen zu keiner signifikanten Störung der cTnI Messung. Die Proben waren unter verschiedenen Lagerungsbedingungen bis zu einer Woche stabil und zeigten auch in der Langzeitstabilität bis über 2 Jahre vergleichbare Ergebnisse. Das 99. Perzentil liegt in der Referenzgruppe bei 0,027 ng/ml. Im Vergleich zu anderen Assays gibt es zwar keine absolute, jedoch eine gute relative Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Der Assay ist einfach in der Handhabung und kann als Einzelanalyse innerhalb von 20 Minuten ein Ergebnis liefern. Somit ist er auch als Notfallparameter in einem 24-Stunden Präsenzlabor einsetzbar.

Im klinischen Teil der Evaluierung, die im Vergleich mit mehreren bereits etablierten cTnI- und cTnT-Assays durchgeführt wurde, zeigte der hier evaluierte Assay in der Diagnostik des AMI vergleichbare Ergebnisse. Bei Patienten mit Angina pectoris oder Non-Q-Wave AMI konnte auf Grund der gesteigerten Empfindlichkeit im tiefsten Messbereich bei deutlich mehr Patienten eine über der Entscheidungsgrenze liegende cTnI-Konzentration gemessen.

Patienten mit herzchirurgischen Eingriffen zeigten erwartungsgemäß postoperativ erhöhte cTnI-Spiegel. Zur Überprüfung der Spezifität wurden verschiedene Patientengruppen ohne kardiologische Erkrankung herangezogen. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und ohne kardiologische Erkrankung wiesen keine Werte oberhalb der Entscheidungsgrenze auf. Dies war auch bei Patienten mit Myopathien und maligner Hyperthermie der Fall. In der Gruppe der Patienten mit Muskeldystrophie vom Typ Duchenne sowie in der Gruppe der Patienten mit Dermatomyositis/Polymyositis zeigte der Assay, im Gegensatz zu anderen cTnI Assays und analog dem cTnT Assay tendenziell höhere Messwerte. Teilweise wurde sogar die Entscheidungsgrenze überschritten. Bei Patienten mit großen chirurgischen



Operationen konnte in der Regel weder prä- noch postoperativ eine Erhöhung verzeichnet werden. Allerdings konnten bei jenen Patienten, die herznah operiert wurden, postoperativ grenzwertig erhöhte cTnI-Konzentrationen gemessen werden, was auf eine Freisetzung aus dem Herzen schließen lässt. Insgesamt ist auf Grund der gesteigerten Sensitivität des hier evaluierten Assays im Vergleich zu den anderen cTnI Assays und analog zum cTnT Assay bei mehr Patienten eine Freisetzung aus dem Herzen nachweisbar.

Alles in allem ist der hier evaluierte Assay zur Bestimmung des cTnI sehr sensitiv und spezifisch. Diese sehr hohe Empfindlichkeit zusammen mit einer schnellen, robusten und präzisen Analytik, auch als Einzelbestimmung in einem 24-Stunden Präsenzlabor, machen ihn für den Einsatz in der täglichen Routine empfehlenswert.



6. Quellen

6.1. Literaturverzeichnis

- 1) Adams, J.E. 3rd, Sicard, G.A., Allen, B.T., Bridwell, K.H., Lenke, L.G., Davila-Roman, V.G., Bodor, G.S., Ladenson, J.H., Jaffe, A.S.
Diagnosis of perioperative myocardial infarction with measurement of cardiac troponin I.
N Engl J Med. 330 (1994) 670-674.
- 2) Alpert, J.S., Thygesen, K., Antman, E., Bassand, J.P.
Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction.
J Am Coll Cardiol. 36 (2000) 959-969.
- 3) Antman, E.M., Tanasijevic, M.J., Thompson, B., Schactman, M., McCabe, C.H., Cannon, C.P., Fischer, G.A., Fung, A.Y., Thompson, C., Wybenga, D., Braunwald, E.
Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes.
N Engl J Med. 335 (1996) 1342-1349.
- 4) Apple, F.S.
Cardiac troponin I.
In: Wu AHB, ed. Cardiac Markers.
Totawa, N.J.: Humana Press (1998) 229-243
- 5) Apple, F.S., Henry, T.D., Berger, C.R., Landt, Y.A.
Early monitoring of serum cardiac troponin I for assessment of coronary reperfusion following thrombolytic therapy.
Am J Clin Pathol. 105 (1996) 6-10.
- 6) Apple, F.S., Maturen, A.J., Mullins, R.E., Painter, P.C., Pessin-Minsley, M.S., Webster, R.A., Spray Flores, J., DeCresce, R., Fink, D.J., Buckley, P.M., Marsh, J., Ricchiuti, V., Christenson, R.H.
Multicenter Clinical and Analytical Evaluation of the AxSYM Troponin-I Immunoassay to Assist in the Diagnosis of Myocardial Infarction.
Clin Chem. 45 (1999) 206-212.
- 7) Baum, H., Braun, S., Gerhardt, W., Gilson, G., Hafner, G., Muller-Bardorff, M., Stein, W., Klein, G., Ebert, C., Hallermayer, K., Katus, H.A.
Multicenter evaluation of a second-generation assay for cardiac troponin T.
Clin Chem. 43 (1997) 1877-1884.
- 8) Bodor, G.S., Porter, S., Landt, Y., Ladenson, J.H.
Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction.
Clin Chem. 38 (1992) 2203-2214.
- 9) Boersma, E., Pieper, K.S., Steyerberg, E.W., Wilcox, R.G., Chang, W.C., Lee, K.L., Akkerhuis, K.M., Harrington, R.A., Deckers, J.W., Armstrong, P.W., Lincoff, A.M., Califf, R.M., Topol, E.J., Simoons, M.L.
Predictors of outcome in patients with acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation. Results from an international trial of 9461 patients. The PURSUIT Investigators.
Circulation. 101 (2000) 2557-2267.
- 10) Boyce, N.
Cardiac markers: which ones are labs using?
Clin Lab News 1995; Oct 5.
http://www.dpc-biermann.de/immulite_turbo/i_turbo2.htm überprüft am 18.06.2003.
- 11) Braunwald, E.
Unstable angina: an etiologic approach to management. Review.
Circulation. 98 (1998) 2219-2222.
- 12) Braunwald, E., Antman, E.M., Beasley, J.W., Califf, R.M., Cheitlin, M.D., Hochman, J.S., Jones, R.H., Kereiakes, D., Kupersmith, J., Levin, T.N., Pepine, C.J., Schaeffer, J.W., Smith, E.E. 3rd, Steward, D.E., Theroux, P., Alpert, J.S., Eagle, K.A., Faxon, D.P., Fuster, V., Gardner, T.J., Gregoratos, G., Russell, R.O., Smith, S.C. Jr.
ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina).
J Am Coll Cardiol. 36 (2000) 970-1062.



- 13) Braunwald, E., Jones, R.H., Mark, D.B., Brown, J., Brown, L., Cheitlin, M.D., Concannon, C.A., Cowan, M., Edwards, C., Fuster, V.
Diagnosing and managing unstable angina. Agency for Health Care Policy and Research. Circulation. 90 (1994) 613-622.
- 14) Christenson, R.H., Apple, F.S., Morgan, D.L., Alonsozana, G.L., Mascotti, K., Olson, M., McCormack, R.T., Wians, F.H. Jr., Keffer, J.H., Duh, S.H.
Cardiac troponin I measurement with the ACCESS immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. Clin Chem. 44 (1998) 52-60.
- 15) Christenson, R.H., Duh, S.H., Apple, F.S., Bodor, G.S., Bunk, D.M., Dalluge, J., Panteghini, M., Potter, J.D., Welch, M.J., Wu, A.H., Kahn, S.E.
Standardization of cardiac troponin I assays: round Robin of ten candidate reference materials. Clin Chem. 47 (2001) 431-437.
- 16) Christenson, R.H., Ohman, E.M., Topol, E.J., Peck, S., Newby, L.K., Duh, S.H., Kereiakes, D.J., Worley, S.J., Alonsozana, G.L., Wall, T.C., Califf, R.M.
Assessment of coronary reperfusion after thrombolysis with a model combining myoglobin, creatine kinase-MB, and clinical variables. TAMI-7 Study Group. Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction-7. Circulation. 96 (1997) 1776-1782.
- 17) Cummins, B., Auckland, M.L., Cummins, P.
Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. Am Heart J. 113 (1987) 1333-1344.
- 18) Dean, K.J.
Biochemistry and molecular biology of troponins I and T. In: Wu AHB, ed. Cardiac Markers. Totawa, NJ: Humana Press (1998) 229-243.
- 19) Dengler, T.J., Zimmermann, R., Braun, K., Muller-Bardorff, M., Zehelein, J., Sack, F.U., Schnabel, P.A., Kubler, W., Katus, H.A.
Elevated serum concentrations of cardiac troponin T in acute allograft rejection after human heart transplantation. J Am Coll Cardiol. 32 (1998) 405-412.
- 20) Ebashi, S., Kodama, A., Ebashi, F.
Troponin. I. Preparation and physiological function. J Biochem (Tokyo). 64 (1968) 465-477.
- 21) Erlacher, P., Lercher, A., Falkensammer, J., Nassonov, E.L., Samsonov, M.I., Shitutman, V.Z., Puschendorf, B., Mair, J.
Cardiac troponin and beta-type myosin heavy chain concentrations in patients with polymyositis or dermatomyositis. Clin Chim Acta. 306 (2001) 27-33.
- 22) Etievent, J.P., Chocron, S., Toubin, G., Taberlet, C., Alwan, K., Clement, F., Cordier, A., Schipman, N., Kantelip, J.P.
Use of cardiac troponin I as a marker of perioperative myocardial ischemia. Ann Thorac Surg. 59 (1995) 1192-1194.
- 23) Filatov, V.L., Katrukha, A.G., Bulargina, T.V., Gusev, N.B.
Troponin: structure, properties, and mechanism of functioning. Review. Biochemistry (Mosc). 64 (1999) 969-985.
- 24) Galvani, M., Ottani, F., Ferrini, D., Ladenson, J.H., Destro, A., Baccos, D., Rusticali, F., Jaffe, A.S.
Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. Circulation. 95 (1997) 2053-2059.
- 25) Gerhardt, W., Nordin, G., Herbert, A., Burzell, B.L., Isaksson, A., Gustavsson, E., Haglund, S., Muller-Bardorff, M., Katus, H.A.
Troponin T and I assays show decreased concentrations in heparin plasma compared with serum: lower recoveries in early than in late phases of myocardial injury. Clin Chem. 46 (2000) 817-821.
- 26) Goldhaber, S.Z.
Cardiac biomarkers in pulmonary embolism. Chest. 123 (2003) 1782-1784.
- 27) Hamm, C.W.
Cardiac-specific troponins in acute coronary syndromes.



- In Braunwald, E. (ed). *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*; 5th ed. Philadelphia, Saunders, (1997) Update vol. 3, pp. 1-10.
- 28) Hamm, C.W., Goldmann, B.U., Heeschen, C., Kreyman, G., Berger, J., Meinertz, T.
Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I.
N Engl J Med. 337 (1997) 1648-1653.
- 29) Hammerer-Lercher, A., Erlacher, P., Bittner, R., Korinthenberg, R., Skladal, D., Sorichter, S., Sperl, W., Puschendorf, B., Mair, J.
Clinical and experimental results on cardiac troponin expression in Duchenne muscular dystrophy.
Clin Chem. 47 (2001) 451-458.
- 30) Heeschen, C., Hamm, C.W., Goldmann, B., Deu, A., Langenbrink, L., White, H.D.
Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutic efficacy of tirofiban. PRISM Study Investigators. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management.
Lancet. 354 (1999) 1757-1762.
- 31) Heeschen, C., van den Brand, M.J., Hamm, C.W., Simoons, M.L.
Angiographic findings in patients with refractory unstable angina according to troponin T status.
Circulation. 100 (1999) 1509-1514.
- 32) Jaffe, A.S.
Testing the wrong hypothesis: the failure to recognize the limitations of troponin assays.
J Am Coll Cardiol. 38 (2001) 999-1001.
- 33) Jaffe, A.S.
2001--a biomarker odyssey. Review.
Clin Chim Acta. 284 (1999) 197-211.
- 34) Katrukha, A.G., Bereznikova, A.V., Esakova, T.V., Petterson, K., Lövgren, T., Severina, M.E., Pulkki, K., Vuopio-Pulkki, L., Gusev, B.
Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex.
Clin Chem. 43 (1997) 1379-1385.35) Katrukha, A., Bereznikova, A., Filatov, V., Esakova, T.
Biochemical factors influencing measurement of cardiac troponin I in serum. Review.
Clin Chem Lab Med. 1999 Nov-Dec;37(11-12):1091-1095..
- 36) Katus, H.A., Remppis, A., Looser, S., Hallermeier, K., Scheffold, T., Kübler, W.
Enzyme linked immunoassay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients.
J Mol Cell Cardiol. 21 (1989) 1349-1353.
- 37) Katus, H.A., Remppis, A., Scheffold, T., Diederich, K.W., Kuebler, W.
Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction.
Am J Cardiol. 67 (1991) 1360-1367.
- 38) Katus, H.A., Schoeppenthau, M., Tanzeem, A., Bauer, H.G., Saggau, W., Diederich, K.W., Hagl, S., Kuebler, W.
Non-invasive assessment of perioperative myocardial cell damage by circulating cardiac troponin T.
Br Heart J. 65 (1991) 259-264.
- 39) Kaufmann, A., Nassabi, C.
Marketing Newsletter - Liaison Troponin I - Product Launch.
Herausgegeben von der Firma Byk-Sangtec Diagnostika 4/2001.
- 40) Keffer, J.H.
Myocardial markers of injury. Evolution and insights. Review.
Am J Clin Pathol. 105 (1996) 305-320.
- 41) Kratz, A., Lewandrowski, K.B., Januzzi, J.L., Flood, J.G., Lee-Lewandrowski, E.
Comparison of cardiac marker concentrations in healthy blood donors and hospital patients without acute coronary syndrome.
Am J Cardiol. 90 (2002) 177-188.
- 42) Kwong, T.C., Fitzpatrick, P.G., Rothbard, R.L.
Activities of some enzymes in serum after therapy with intracoronary streptokinase in acute myocardial infarction.
Clin Chem. 30 (1984) 731-734.



- 43) Kyle, C.
Troponins – Valuable New Cardiac Markers.
Medical Bulletin (2000) herausgegeben von Diagnostic Medlab.
- 44) Labarrere, C.A., Nelson, D.R., Cox, C.J., Pitts, D., Kirlin, P., Halbrook, H.
Cardiac-specific troponin I levels and risk of coronary artery disease and graft failure following heart transplantation.
JAMA. 284 (2000) 457-464.
- 45) Lauer, B., Niederau, C., Kuhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B.E., Schultheiss, H.P.
Cardiac troponin T in the diagnosis and follow up of suspected myocarditis
Dtsch Med Wochenschr. 123 (1998) 409-417.
- 46) Leonard, K., Wendt, T.
3-D Structure of the Troponin Complex.
<http://www.embl-heidelberg.de/~wendt/troponin.html> überprüft am 18.06.2003.
- 47) Lindahl, B., Venge, P., Wallentin, L.
Troponin T identifies patients with unstable coronary artery disease who benefit from long-term antithrombotic protection. Fragmin in Unstable Coronary Artery Disease (FRISC) Study Group.
J Am Coll Cardiol. 29 (1997) 43-48.
- 48) Lott, J.A., Stang, J.M.
Differential diagnosis of patients with abnormal serum creatine kinase isoenzymes. Review.
Clin Lab Med. 9 (1989) 627-642.
- 49) Luscher, M.S., Thygesen, K., Ravkilde, J., Heickendorff, L.
Applicability of cardiac troponin T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease. TRIM Study Group. Thrombin Inhibition in Myocardial ischemia.
Circulation. 96 (1997) 2578-2585.
- 50) Messner, B., Baum, H., Fischer, P., Quasthoff, S., Neumeier, D.
Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle.
Am J Clin Pathol. 114 (2000) 544-549.
- 51) Missov, E.D., De Marco, T.
Clinical insights on the use of highly sensitive cardiac troponin assays. Review.
Clin Chim Acta. 284 (1999) 175-185.
- 52) Morrow, D.A., Antman, E.M., Tanasijevic, M., Rifai, N., de Lemos, J.A., McCabe, C.H., Cannon, C.P., Braunwald, E.
Cardiac troponin I for stratification of early outcomes and the efficacy of enoxaparin in unstable angina: a TIMI-11B substudy.
J Am Coll Cardiol. 36 (2000) 1812-1817.
- 53) Newman, D.J., Olabiran, Y., Bedzyk, W.D., Chance, S., Gorman, E.G., Price, C.P.
Impact of antibody specificity and calibration material on the measure of agreement between methods for cardiac troponin I.
Clin Chem. 45 (1999) 822-828.
- 54) Ohman, E.M., Armstrong, P.W., Christenson, R.H., Granger, C.B., Katus, H.A., Hamm, C.W., O'Hanesian, M.A., Wagner, G.S., Kleiman, N.S., Harrell, F.E. Jr., Califf, R.M., Topol, E.J.
Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators.
N Engl J Med. 335 (1996) 1333-1341.
- 55) Olatidoye, A.G., Wu, A.H., Feng, Y.J., Waters, D.
Prognostic role of troponin T versus troponin I in unstable angina pectoris for cardiac events with meta-analysis comparing published studies.
Am J Cardiol. 81 (1998) 1405-1410.
- 56) Panteghini, M., Pagani, F., Stefani, F.
Analytical performance of the BYK-Sangtec's Liaison® Troponin I assay evaluated according to the IFCC recommendations.
Clin Chem. 48;6 Suppl.(2002); A85.
- 57) Panteghini, M.
IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage: premises and project presentation. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.
Clin Chem Lab Med. 36 (1998) 887-893.
- 58) Passing, H., Bablok, W.
A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods.



- Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.*
J Clin Chem Clin Biochem. 21 (1983) 709-720.
- 59) Pope, J.H., Aufderheide, P., Ruthazer, R., Woolard, R.H., Feldman, J.A., Beshansky, J.R., Griffith, J.L., Selker, H.P.
Missed diagnoses of acute cardiac ischemia in the emergency department.
N Engl J Med. 342 (2000) 1163-1170.
- 60) Ravkilde, J., Horder, M., Gerhardt, W., Ljungdahl, L., Petterson, T., Tryding, N., Moller, B.H., Hamfelt, A., Graven, T., Asberg, A.
Diagnostic performance and prognostic value of serum troponin T in suspected acute myocardial infarction.
Scand J Clin Lab Invest. 53 (1993) 677-685.
- 61) Rusnak, R.A., Stair, T.O., Hansen, K., Fastow, J.S.
Litigation against the emergency physician: common features in cases of missed myocardial infarction.
Ann Emerg Med. 18 (1989) 1029-1034.
- 62) Ryan, T.J., Antman, E.M., Brooks, N.H., Califf, R.M., Hillis, L.D., Hiratzka, L.F., Rapaport, E., Riegel, B., Russell, R.O., Smith, E.E. 3rd, Weaver, W.D., Gibbons, R.J., Alpert, J.S., Eagle, K.A., Gardner, T.J., Garson, A. Jr., Gregoratos, G., Ryan, T.J., Smith, S.C. Jr.
1999 update: ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction).
J Am Coll Cardiol. 34 (1999) 890-911.
- 63) Stites, D.P., Channing-Rodgers, R.P., Folds, J.D.
Clinical laboratory methods for detection of antigens and antibodies.
In: Medical immunology 9th ed. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (Eds.).
Appleton and Lange, Connecticut (1997) 211-253.
- 64) Stryer, L.
Troponin und Tropomyosin vermitteln die Regulation der Muskelkontraktion durch Calciumionen; Kapitel 15. Molekulare Motoren.
In: Biochemie (1995) 4. Auflage; p. 423.
- 65) Swaanenburg, J.C., Loeff, B.G., Volmer, M., Boonstra, P.W., Grandjean, J.G., Mariani, M.A., Epema, A.H.
Creatine kinase MB, troponin I, and troponin T release patterns after coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass and after aortic and mitral valve surgery.
Clin Chem. 47 (2001) 584-587.
- 66) Swaanenburg, J.C., Klaase, J.M., DeJongste, M.J.L.
Troponin I, troponin T, CKMB-activity and CK-MB mass as markers for the detection of myocardial contusion in patients who experienced blunt trauma.
Clin Chim Acta. 272 (1998) 171-181.
- 67) The RESTORE Investigators.
Effects of Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Blockade With Tirofiban on Adverse Cardiac Events in Patients With Unstable Angina or Acute Myocardial Infarction Undergoing Coronary Angioplasty.
Circulation. 96 (1997) 1445-1453.
- 68) Tierney, W.M., Fitzgerald, J., McHenry, R., Roth, B.J., Psaty, B., Stump, D.L., Anderson, F.K.
Physicians' estimates of the probability of myocardial infarction in emergency room patients with chest pain.
Med Decis Making. 6 (1986) 12-17.
- 69) Tymchak, W.J., Armstrong, P.W.
Spectrum of ischemic heart disease and the role of biochemical markers. Review.
Clin Lab Med. 17 (1997) 701-725.
- 70) Venge, P., Johnston, N., Lagerqvist, B., Wallentin, L., Lindahl, B., FRISC-II Study Group.
Clinical and analytical performance of the Liaison cardiac troponin I assay in unstable coronary artery disease, and the impact of age on the definition of reference limits. A FRISC-II substudy.
Clin Chem. 49; 6 Pt 1 (2003) 880-886.
- 71) Wayand, D., Baum, H., Schatzle, G., Scharf, J., Neumeier, D.
Cardiac troponin T and I in end-stage renal failure.
Clin Chem. 46 (2000) 1345-1350.
- 72) Wiesner, G., Grimm, J., Bittner, E. *Zum Herzinfarktgeschehen in der Bundesrepublik Deutschland: Prävalenz, Inzidenz, Trend, Ost-West-Vergleich. [Stroke: prevalence, incidence, trends, East-West comparison. Initial results of the 1998 Federal Health Survey]*
Gesundheitswesen. 61 Spec No. (1999) 79-84.



- 73) Wu, A.H., Apple, F.S., Gibler, W.B., Jesse, R.L., Warshaw, M.M., Valdes, R. Jr. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem.* 45 (1999) 1104-1121.
- 74) Wu, A.H., Feng, Y.J., Moore, R., Apple, F.S., McPherson, P.H., Buechler, K.F., Bodor, G. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization. *Clin Chem.* 44; 6 Pt 1 (1998) 1198-1208.
- 75) Zabel, M., Hohnloser, S.H., Koster, W., Prinz, M., Kasper, W., Just, H. Analysis of creatine kinase, CK-MB, myoglobin, and troponin T time-activity curves for early assessment of coronary artery reperfusion after intravenous thrombolysis. *Circulation.* 87 (1993) 1542-1550.
- 76) [Keine Autoren angegeben]
Homepage von Byk Sangtec
<http://www.byck-sangtec.de>, überprüft am 01.05.2001.
- 77) [Keine Autoren angegeben]
A comparison of aspirin plus tirofiban with aspirin plus heparin for unstable angina. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management (PRISM) Study Investigators. *N Engl J Med.* 338 (1998) 1498-1505.
- 78) [Keine Autoren angegeben]
Inhibition of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with tirofiban in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management in Patients Limited by Unstable Signs and Symptoms (PRISM-PLUS) Study Investigators. *N Engl J Med.* 338 (1998) 1488-1497.
- 79) [Keine Autoren angegeben]
Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature. *Circulation.* 59 (1979) 607-609.
- 80) [Keine Autoren angegeben]
Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE Study. *Lancet.* 349 (1997) 1429-1435.
- 81) [Keine Autoren angegeben]
Bericht über die Todesursachen in Deutschland 2001.
www.statistischesbundesamt.de, überprüft am 15.03.2003.
- 82) [Keine Autoren angegeben]
The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N Engl J Med.* 312 (1985) 932-936.



6.2. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Klinische Klassifikation des ACS(2)</i>	8
<i>Abbildung 2: Kurvenverlauf der Freisetzung der kardialen Biomarker(10)</i>	10
<i>Abbildung 3: Struktur des Troponin-Komplexes(46)</i>	12
<i>Abbildung 4: Liaison-Analyser(76)</i>	15
<i>Abbildung 5: Beispiel für ein Reagenzienintegral.(76)</i>	16
<i>Abbildung 6: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in München</i>	34
<i>Abbildung 7: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in Mainz</i>	34
<i>Abbildung 8: Funktionelle Sensitivität des Liaison-cTnI-Assays in München und Mainz</i>	35
<i>Abbildung 9: Plasma vs. Serum (alle Werte): EDTA, Citrat und Heparin im Vergleich zu Serumproben</i>	38
<i>Abbildung 10: Plasma vs. Serum (< 5 ng/ml): EDTA, Citrat und Heparin im Vergleich zu Serumproben</i>	38
<i>Abbildung 11: Werte München; Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 1</i>	40
<i>Abbildung 12: Werte München; Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 2</i>	40
<i>Abbildung 13: Werte Mainz, Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 1</i>	42
<i>Abbildung 14: Werte Mainz, Einfluss Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur; Charge 2</i>	42
<i>Abbildung 15: Zweijahresstabilität; relative Differenz zu absoluter Ursprungskonzentration</i>	43
<i>Abbildung 16: Zweijahresstabilität; Rel. Differenz zu absoluter Ursprungskonzentration; Werte < 1 ng/ml</i>	43
<i>Abbildung 17: Histogramm - Verteilung der cTnI-Werte bei herzgesunden Individuen Mainz (Liaison)</i>	47
<i>Abbildung 18: Histogramm - Verteilung der cTnI-Werte bei herzgesunden Individuen München (Liaison)</i>	47
<i>Abbildung 19: München, Übersicht Diagnosestellung AMI auf verschiedenen Assays</i>	49
<i>Abbildung 20: Übersicht Aortenklappenersatz-Operationen im Zeitverlauf; n=9</i>	51
<i>Abbildung 21: Übersicht CABG mit extrakorporalem Kreislauf im Zeitverlauf; n=10</i>	52
<i>Abbildung 22: Übersicht CABG ohne extrakorporalem Kreislauf im Zeitverlauf; n=5</i>	52
<i>Abbildung 23: Übersicht Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz auf verschiedenen Assays; n=35</i>	53
<i>Abbildung 24: Übersicht – Patienten mit Muskelbiopsien/maligner Hyperthermie; n=18</i>	54
<i>Abbildung 25: Übersicht Patienten mit chronischer Muskeldystrophie Typ Duchenne; n=10</i>	55
<i>Abbildung 26: Übersicht Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis; n=12</i>	56
<i>Abbildung 27: Übersicht chirurgische Patienten; n=20</i>	57
<i>Abbildung 28: Vierfeldertafel Immulite und Liaison</i>	58
<i>Abbildung 29: Vierfeldertafel Elecsys TnT und Liaison</i>	59
<i>Abbildung 30: Vierfelder-Tafel Dimension und Liaison</i>	60
<i>Abbildung 31: Zeitverlauf der Freisetzung verschiedener Biomarker</i>	63

Die Abbildungen auf der dritten und letzten Seite stellen ein stilisiertes Herz mit Schädigung und EKG-Linien dar.



6.3. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Zielbereiche der Liaison Kontrollseren</i>	17
<i>Tabelle 2: Zielbereiche der Liquicheck® Kontrollseren</i>	17
<i>Tabelle 3: Materialübersicht „Gesunde Patienten ohne Herzkrankheiten“ für Referenzbereich</i>	19
<i>Tabelle 4: Materialübersicht „Patienten mit AMI“</i>	20
<i>Tabelle 5: Materialübersicht „Patienten mit Angina pectoris, KHK oder Non-Q-Wave AMI“</i>	20
<i>Tabelle 6: Materialübersicht „Patienten mit herzchirurgischem Eingriff“</i>	21
<i>Tabelle 7: Materialübersicht „Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz“</i>	21
<i>Tabelle 8: Materialübersicht „Patienten mit V. a. Myopathie und maligner Hyperthermie“</i>	21
<i>Tabelle 9: Materialübersicht „Patienten mit chronischer Myopathie“</i>	22
<i>Tabelle 10: Materialübersicht „Patienten mit Polymyositis/Dermatomyositis“</i>	22
<i>Tabelle 11: Materialübersicht „Patienten mit nicht-herzchirurgischem operativen Eingriff“</i>	22
<i>Tabelle 12: Übersicht typische Messreihe auf Liaison Troponin I</i>	24
<i>Tabelle 13: Ladeschema für die Intra-Assay-Präzisionsbestimmung</i>	25
<i>Tabelle 14: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Verdünnungslinearität“</i>	26
<i>Tabelle 15: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Funktionelle Sensitivität“</i>	26
<i>Tabelle 16: Verdünnungsschema für Versuchsabschnitt „Einfluss endogener Störsubstanzen“</i>	28
<i>Tabelle 17: München und Mainz; Intra-Assay-Präzision gemessen an acht Kontrollseren L1-L3 und LL-HH</i> ..	30
<i>Tabelle 18: Ergebnisse zur Analyse einer evtl. vorhandenen positionsabhängigen Drift</i>	31
<i>Tabelle 19: Inter-Assay-Präzision des Liaison Troponin I Assays in München und Mainz</i>	31
<i>Tabelle 20: Werte München – Verdünnungslinearität</i>	32
<i>Tabelle 21: Werte München und Mainz – Funktionelle Sensitivität</i>	33
<i>Tabelle 22: Übersicht der Ergebnisse „Einfluss des Probenmaterials“ für alle Werte</i>	36
<i>Tabelle 23: Übersicht der Ergebnisse „Einfluss des Probenmaterials“ für Serumwerte <5 ng/ml</i>	37
<i>Tabelle 24: Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur auf die Proben; Werte München</i>	39
<i>Tabelle 25: Einfluss der Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur auf die Proben; Werte Mainz</i>	41
<i>Tabelle 26: Endogene Interferenzen – Normales Serum</i>	44
<i>Tabelle 27: Endogene Interferenzen – Hämolytisches Serum</i>	44
<i>Tabelle 28: Endogene Interferenzen – Lipämisches Serum</i>	45
<i>Tabelle 29: Endogene Interferenzen – Ikerisches Serum</i>	45
<i>Tabelle 30: München und Mainz; Verteilung der Normalwerte gesunder Individuen</i>	46
<i>Tabelle 31: Werte München und Mainz, Vergleich zwischen verschiedenen Methoden</i>	48
<i>Tabelle 32: Werte München und Mainz; AP und KHK</i>	50
<i>Tabelle 33: Werte München und Mainz; UAP und Non-Q-Wave AMI</i>	50
<i>Tabelle 34: Patienten mit herzchirurgischem Eingriff - Zusammenfassung</i>	52



7. Danksagung

Mit der vorliegenden Dissertation verbinde ich große Dankbarkeit gegenüber den Menschen, die mir bei der Erstellung mit Rat und Tat zur Seite standen. An dieser Stelle ist zuerst Herr Professor Neumeier zu nennen, an dessen Institut für klinische Chemie ich mich während meiner dreijährigen Ausarbeitungszeit stets gut aufgehoben wusste. Für die gewährte Unterstützung bei meinem PJ-Auslandsaufenthalt sowie beim Besuch des EuroMedLab Kongresses möchte ich mich nochmals herzlich gesondert bedanken.

Einen besonderen Dank möchte ich meinem „Doktorvater“ Herrn Privatdozent Dr. Baum aussprechen, der mir großzügigerweise das Dissertationsthema überlassen hat. Er wies mich professionell in die Aufgabenstellung ein und ermöglichte mir ein äußerst produktives Arbeiten. Auf meine fachlichen Fragen stand er mir mit Rat und Tat zur Seite und hatte auch für meine persönlichen Belange stets ein offenes Ohr. Kurzum, einen besseren „Doktorvater“ hätte ich mir nicht wünschen können – ein wahrer „Glücksfall“ für einen Doktoranden.

Den restlichen Mitarbeitern des Instituts, allen voran Frau Dürmeyer, MTA gebührt Dank für die fundierte Einweisung in die Labortechniken. Herrn Prof. Hafner sowie Dr. Peetz von der Universitätsklinik Mainz und den Damen und Herren der Firma Byk Sangtec möchte ich ebenfalls danken, der fachliche Dialog mit ihnen lief stets reibungslos und konstruktiv.

In addition, I would like to thank my academic teachers that supervised me during my last year of medical school. The education they have given me during my practical training in cardiology and cardiac surgery enabled me to gain better understanding for my dissertation topic and vice versa. Thanks go especially to Eric Topol and Delos Cosgrove from Cleveland, Robert Gerszten from Boston and Bernd Gänsbacher from Munich. My interest was initially drawn to heart care through Nigel and Clive whose help and tutorship deeply influenced my decisions.

Einen sehr persönlichen Dank möchte ich meiner Familie aussprechen – meinen Eltern und meinem Bruder Dieter. Mit Ihrer Unterstützung und ihrem Verständnis schenken sie mir immer wieder Kraft und Ansporn. Das gilt auch für meine Freunde Daniela, Holger, Ulf, Hugues und während der Prüfungsphase vor allem für Nina.

Herzlichen Dank!



8. Lebenslauf

Persönliche Informationen

Arthur-Johann Brothag

Familienstand: Ledig

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Geburtsdatum und Geburtsort: 28. Juli 1977 in Heltau, Siebenbürgen

Schule

- 1983-1987 Grundschule Garching Ost
- 1987-1993 Werner-Heisenberg-Gymnasium, Garching
- 1993-1994 Henninger High School, Syracuse, NY – USA (Austauschjahr)
- 1994-1996 Werner-Heisenberg-Gymnasium, Garching; Abitur mit der Note 1,0

Universität

- seit Nov. 96 Medizinstudium an der Technischen Universität München
- 08/98 Ärztliche Vorprüfung mit der Note 2,0
- 08/99 1. Staatsexamen mit der Note 1,0
- 10/99-07/00 Medizinstudium an der Université de Nice Sophia-Antipolis, France:
Einjähriger Erasmus-Studienaufenthalt
- 08/01 2. Staatsexamen mit der Note 2,0
- 10/01-09/02 Praktisches Jahr in den Vereinigten Staaten (New York, Boston, Cleveland)
und Frankreich (Nizza)
- 11/02 3. Staatsexamen mit der Note 1,0
- 11/02 Ärztliche Prüfung mit der Gesamtnote 1,5

Arbeit

- seit 06/03 Krankenhaus München Neuperlach;
Akademisches Lehrkrankenhaus der LMU München;
Arzt im Praktikum in der II. Med. Abteilung (Kardiologie und Pneumologie)



*„Man sieht nur mit dem Herzen gut.“
(Antoine de Saint-Exupéry)*

