

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Chr. Reiners

**Chromatografischer Nachweis endogen radioiodierter Verbindungen im Urin von
Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom nach Iod-131-
Ganzkörperszintigrafie**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von
Christiana Blasl
aus Sand a. Main

Würzburg, Juni 2004

Referent: Prof. Dr. med. Chr. Reiners

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. E. Blind

Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 6. April 2005

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
 - 1.1. Epidemiologie
 - 1.1.1. Inzidenz
 - 1.1.2. Histologie
 - 1.2. Therapie
 - 1.3. Nachsorge
 - 1.3.1. Thyreoglobulin (hTg)
 - 1.3.2. Radioioddiagnostik (I-131-Ganzkörperszintigrafie)
 - 1.4. Zielsetzung

2. Material und Methoden
 - 2.1. Patienten
 - 2.2. Methoden
 - 2.2.1. Iod-131-Ganzkörperszintigrafie
 - 2.2.2. Serum-hTg-Assay
 - 2.2.3. Urindünnschichtchromatografie
 - 2.3. Statistische Auswertung mittels ROC - (Receiver Operating Characteristic) - Kurven

3. Datenauswertung
 - 3.1. Urinchromatografie bei Normalpersonen
 - 3.1.1. Kontrollpersonen und Standdauer der Proben (Gruppe 1)
 - 3.1.2. Kontrollpersonen und Standdauer der Proben (Gruppe 2)

- 3.2. ROC-Kurven der Patientengruppen
 - 3.2.1. Patientengruppe 1
 - 3.2.2. Patientengruppe 2
- 3.3. Gegenüberstellung der Ergebnisse der Urinchromatografie mit den etablierten Verfahren hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie
 - 3.3.1. Patientengruppe 1
 - 3.3.2. Patientengruppe 2
- 4. Diskussion
- 5. Zusammenfassung

Anhang

Literaturverzeichnis

Veröffentlichungen aus der Doktorarbeit

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung

1. 1. Epidemiologie

1.1.1. Inzidenz

Das Schilddrüsenkarzinom ist mit einem Anteil von ca. 1 % an allen bösartigen Geschwülsten zwar insgesamt eher selten, stellt aber den häufigsten malignen endokrinen Tumor dar (4,27,49). Weltweit ist die Inzidenz des Schilddrüsenkarzinoms in den letzten Jahrzehnten angestiegen (12,38). Nach dem saarländischen Krebsregister und den Untersuchungen in Unterfranken liegt in Deutschland die Inzidenz bei ca. 20-30 Neuerkrankungen/Mio./Jahr (40). In der Kindheit speziell im ersten Lebensjahrzehnt stellt das Schilddrüsenkarzinom mit 5-10 Fällen/Mio./Jahr eine Rarität dar. Mit zunehmendem Lebensalter steigt seine Inzidenz an (49,10) und liegt bei Männern unter 65 Jahren bei 20/Mio./Jahr und über 65 Jahren bei 71/Mio./Jahr. Bei Frauen unter 65 Jahren beträgt sie 60/Mio./Jahr und über 65 Jahren 94/Mio./Jahr.

1.1.2. Histologie

Unterschieden werden bei den Schilddrüsenkarzinomen die den Follikelzellen entstammenden papillären und follikulären Karzinome von den anaplastischen und den medullären Karzinomen, wobei letztere von den parafollikulären Zellen ausgehen. Die papillären und follikulären Schilddrüsenkarzinome werden häufig unter dem Begriff der differenzierten Schilddrüsentumore zusammengefasst. Diese weisen eine exzellente Prognose mit 10-Jahres-Überlebensraten über 90 % (27,49) auf. Dagegen stellt das anaplastische Schilddrüsenkarzinom eine der aggressivsten Malignome des Menschen dar mit einem nahezu obligaten letalen Ende in kurzer Zeit (1). Die prozentuale Verteilung der verschiedenen histologischen Typen des Schilddrüsenkarzinoms auf Grundlage der Patient Care Evaluation Study of Thyroid Cancer (19) betrug 1996 in der BRD 66,4 % für das papilläre, 27,2 % für das follikuläre, 2,8 % für das medulläre und 3,6 % für das anaplastische Schilddrüsenkarzinom.

Hieraus ist erkenntlich, dass das differenzierte Schilddrüsenkarzinom deutlich überwiegt und bei diesem die papilläre Differenzierung. Mit Ausnahme des medullären Schilddrüsenkarzinoms, bei dem nur geringe geschlechtsspezifische Unterschiede festzustellen sind, erkranken Frauen etwa 2-3 mal häufiger (41). In diesem Zusammenhang

ist von Interesse, dass das Geschlechtsverhältnis bei unter 10-jährigen Kindern etwa bei 1:1 liegt und das Verhältnis w (weiblich) : m (männlich) bei Heranwachsenden jenseits der Pubertät dann die bekannten Werte von 2-3:1 annimmt (35). Dies unterstützt die Hypothese eines hormonellen Einflusses (10). Auch wird der größte Unterschied zwischen den Inzidenzen von Frauen und Männern zwischen dem 10. und 30. Lebensjahr gefunden (34). Als gesicherter ätiologischer Faktor für die Entwicklung eines differenzierten Schilddrüsenkarzinoms gilt jedoch die Einwirkung ionisierender Strahlung besonders in der Kindheit (39,45). So kam es in der Region um Tschernobyl nach der Reaktorkatastrophe zu einem massiven Anstieg der Inzidenz von Schilddrüsenkarzinomen im Kindesalter um etwa den Faktor 30 (45,2). Bei diesen Kindern handelt es sich vornehmlich um papilläre Schilddrüsenkarzinome (39). Die histologische Verteilung der Schilddrüsenkarzinome wird durch die Iodaufnahme beeinflusst (11). Mit zunehmender Iodzufuhr nehmen die papillären im Vergleich zu den etwas aggressiveren follikulären Karzinomen zu (11,14,40). So fand sich auch in Unterfranken in den Jahren 1980-1995 zeitgleich mit einer verbesserten Iodversorgung eine Zunahme des papillären bei gleichzeitiger Abnahme des follikulären Schilddrüsenkarzinoms. Im Zeitraum von 1991-1995 lag folgende Verteilung vor: 71,3 % papilläre, 21,3 % follikuläre und 6,7 % anaplastische Karzinome (40). Wie bereits erwähnt, ist die Prognose des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms sehr gut. In den letzten Jahrzehnten sinkt die durch das Schilddrüsenkarzinom bedingte Mortalität aufgrund einer früheren Diagnose und verbesserter Therapiemöglichkeiten sowie bei einem abnehmenden Anteil prognostisch ungünstiger Tumoren wie insbesondere das anaplastische Karzinom ab (4).

1.2. Therapie:

Die Primärtherapie der differenzierten Schilddrüsenkarzinome ist chirurgisch. Regeleingriff bildet die totale Thyreoidektomie mit Entfernung der angrenzenden Lymphknoten beider medialer (zervikozentraler) Kompartimente unter Schonung der Stimmbandnerven und Erhaltung zumindest einer Nebenschilddrüse (26,49). Nur das papilläre Mikrokarzinom pT1N0M0 (entsprechend der Definition in der 4. Auflage der TNM-Klassifikation maligner Tumoren der UICC) ist von einer totalen Thyreoidektomie mit Lymphknotendisektion ausgenommen und bedarf auch keiner Radioiodtherapie (7,21). Im Anschluss an die Thyreoidektomie wird in Europa beim papillären und follikulären Schilddrüsenkarzinom ca. 4-6 Wochen postoperativ die erste Radioiodtherapie zur Ablation des nach Thyreoidektomie noch verbliebenen Schilddrüsenrestgewebes durchgeführt. Im weiteren bilden die Therapie

von Lokalrezidiven und lokoregionären Lymphknotenmetastasen sowie die Therapie von Fernmetastasen und die palliative Therapie inoperabler oder nicht vollständig operabler Tumormassen Indikationen für Radioiodtherapien (7). Die von den parafollikulären C-Zellen ausgehenden medullären Karzinome speichern kein Radioiod und sind somit dieser Therapieform nicht zugänglich. Eine Sonderform der papillären und follikulären Schilddrüsenkarzinome stellen die onkozytär differenzierten Schilddrüsenmalignome dar, bei denen davon ausgegangen werden muss, dass bei vollständig aus Onkozyten aufgebauten Karzinomen die Radioiodtherapie unwirksam ist (7). Dennoch wird bei onkozytär-follikulären bzw. onkozytär-papillären Karzinomen oder bei gemeinsamem Auftreten einer sowohl follikulären oder papillären als auch einer medullären Differenzierung die Radioiodtherapie versucht. Auch die Behandlung des kindlichen Schilddrüsenkarzinoms unterscheidet sich nicht wesentlich von der Therapie bei Erwachsenen (20).

Eine ausreichende endogene Stimulation ist Voraussetzung für eine optimale Radioiodaufnahme und erfordert einen TSH-Spiegel von mehr als 30 mU/l (50). Postoperativ besteht somit eine Kontraindikation für eine Schilddrüsenhormongabe oder die Applikation von iodhaltigen Medikamenten und Kontrastmitteln. Verabreicht werden postoperativ in der Regel peroral Standardaktivitäten von I-131 (in GBq). So appliziert man nach 6-stündiger Nahrungskarenz bei Erwachsenen zur Ablation des Restschilddrüsen Gewebes 1-3 GBq I-131 (abhängig von der Radioiodspeicherung des Restes in der 24h-Speichermessung) in Form von Natriumiodidkapseln. Lediglich bei Kindern richtet sich die zu verabreichende Aktivität von I-131 auch nach dem Körpergewicht (ca. 15-50 MBq/kg KG je nach Radioiodspeicherung nach 24h). Ab der zweiten Radioiodtherapie liegen die Standardaktivitäten für die weiteren kurativen oder palliativen Therapien bei 5-8 GBq bei Erwachsenen, sofern – wie meist - keine individuellen Aktivitätsabschätzungen zur Erzielung einer Herddosis > 300 Gy vorgenommen werden. Bei Kindern richtet sich die Aktivität üblicherweise nach dem Körpergewicht und liegt bei 0,1 GBq/kg Körpergewicht.

Frühestens nach 72 h – optimal jedoch 5-7 Tage nach I-131-Applikation – wird obligatorisch eine Ganzkörperszintigrafie zum Staging veranlasst, die Aufschluss gibt über Progression oder Regression der Erkrankung bei Tumorresten, Tumorrezidiven, Lymphknoten- und Fernmetastasen. Häufig sind Fernmetastasen szintigrafisch erst nach erfolgreicher Ablation des Restschilddrüsen Gewebes wegen ihres dann günstigeren Radioioduptakes nachweisbar (48). Insbesondere bietet die adjuvante Ablation von Restschilddrüsen Gewebe die optimale Voraussetzung für die Nachsorgeuntersuchungen mit Radioiod und Thyreoglobulin.

2 – 3 Tage nach der ablativen Radioiodtherapie wird als weiterer Therapiepfiler beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom eine thyreosuppressive Schilddrüsenhormonmedikation in erster Linie mit einem Levothyroxinpräparat in einer Dosierung von ca. 2,5 µg/kg Körpergewicht eingeleitet. Die TSH-Suppression ist nach ca. 6 Wochen zu überprüfen. Dagegen ist grundsätzlich beim medullären und anaplastischen Schilddrüsenkarzinom eine unmittelbar postoperativ beginnende thyreosubstitutive Medikation ausreichend.

1.3. Nachsorge

Eine konsequente Nachsorge der Patienten in einem spezialisierten Zentrum ist trotz der zumeist sehr guten Prognose beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom unbedingt erforderlich (8,21,28,49). Zum ambulant durchführbaren Programm gehören die Anamnese, die klinische Untersuchung, die Sonografie des Halses (Schallfrequenz von mindestens 7,5 MHz), die Messung des basalen TSH zur Beurteilung der ausreichenden TSH-Suppression und die Bestimmung des Tumormarkers hTg unter laufender thyreosuppressiver Medikation. Dieses Programm bedarf einer Ergänzung durch diagnostische Ganzkörperszintigrafien in Hypothyreose, die einen stationären Aufenthalt erforderlich machen und deren Intervall sich nach den Untersuchungsergebnissen und dem Tumorstadium richtet. Berücksichtigt werden sollte hierbei im Hinblick auf sogenannte „Stunning“-Phänomene (24,32) und der überlegenen Sensitivität der Posttherapieszintigrafie, dass bei einem erhöht nachweisbaren Thyreoglobulinspiegel auf eine diagnostische Applikation zugunsten der therapeutischen Gabe von Radioiod verzichtet werden sollte (36,46). Ein unterhalb der Nachweisgrenze gelegener Tumormarker hTg und das Fehlen einer Radioiodspeicherung im Szintigramm signalisieren dagegen in der Regel die Entfernung bzw. Zerstörung sämtlichen Schilddrüsenorgans durch die Radioiodtherapie und das Fehlen einer Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung. Fallabhängig können weitergehende bildgebende Verfahren, wie Röntgen- bzw. computertomografische oder kernspintomografische Untersuchungen, Tumorszintigrafien mit Sestamibi oder Thallium oder auch die Positronenemissionstomografie (37) notwendig werden und das Basisprogramm (5) ergänzen.

1.3.1. Thyreoglobulin (hTg):

Einen etablierten und sensitiven Marker zur frühzeitigen Erkennung von Tumorresten bzw. Rezidiven (52) stellt das nur von Schilddrüsenzellen produzierte Glykoprotein (Molekülgröße 660 KD) Thyreoglobulin dar. Mittels eines Radio- oder Enzymimmunoassay wird seine

Serumkonzentration bestimmt, wobei ein moderner Assay Verwendung finden sollte mit hoher Sensitivität, Präzision und geringer Störanfälligkeit gegen zirkulierende Anti-Tg-Antikörper (33). Bekanntermaßen ist die Bildung und Freisetzung von Thyreoglobulin TSH-abhängig und die Sensitivität von hTg unter Thyreotropinstimulation deutlich höher, erreicht jedoch auch unter dieser Bedingung beim nicht metastasierten Tumorträger keine 100 % (9). Zudem sind zur korrekten Interpretation stets die Bestimmung der Wiederfindungsrate für hTg und die Bestimmung der Anti-Tg-Antikörper erforderlich (54).

1.3.2. Radioioddiagnostik (I-131-Ganzkörperszintigrafie)

Zur Detektion von Restschilddrüsengewebe, Tumorgewebe, eines Lokalrezidives, von Lymphknotenmetastasen oder von Fernmetastasen ist die Iod-131-Ganzkörperszintigrafie ein anerkanntes und effektives Verfahren. Voraussetzung war bisher das mehrwöchige Absetzen der Schilddrüsenhormonmedikation, wobei das Absetzschema für L-T4 je nach Zentrum etwas variiert. Angestrebt wird auch zur Diagnostik ein TSH-Spiegel > 30 mU/l. Seit einiger Zeit kann alternativ in der Diagnostik die exogene TSH-Stimulation mittels rekombinatem humanem TSH erfolgen, wodurch die Szintigrafie und die sensitivere hTg-Bestimmung unter TSH-Stimulation vereinfacht werden (17,23,42). Die Ganzkörperszintigrafie wird in der Regel 2-3 Tage nach peroraler Applikation von I-131 in Form von Natriumiodid angefertigt, bei Erwachsenen bislang mit Standardaktivitäten um 300 MBq I-131 und bei Kindern mit 3-6 MBq I-131 pro kg Körpergewicht. In jüngster Zeit wird auch der diagnostische Einsatz des kurzlebigen Gammastrahlers I-123 diskutiert bei recht vielversprechenden ersten Ergebnissen (22,15,47).

1.4. Zielsetzung

Die Befundinterpretation ist eindeutig, wenn die Ergebnisse beider Verfahren – hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie – für das Vorliegen einer Tumorerkrankung bzw. für Tumorfreiheit sprechen. Allerdings weisen beide Verfahren in ca. 15%-20% diskordante Ergebnisse (3) auf. Bianchi et al. entwickelten daher eine neue Methode - die Serumchromatografie von endogen radioiodiertem Triiodthyronin und Thyroxin - bei Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom nach oraler Gabe von I-131 in Form von Natriumiodid.

Die Methode basiert auf der Annahme, dass bei Vorhandensein von Thyreozyten oder hochdifferenzierten Tumorzellen, die über die biologische Zellaktivität eines Thyreozyten wie z.B. die I-131-Speicherfähigkeit verfügen, auch deren Stoffwechselprodukte entstehen. Nach oraler Gabe von I-131 zur Ganzkörperszintigrafie weisen diese Stoffwechselprodukte eine I-131-Markierung auf und erscheinen auch im Blutkreislauf. Die von Bianchi et al. beschriebene Serumchromatografie ist als Routinescreeningparameter in der Tumornachsorge relativ aufwendig in der Durchführung und erfordert zudem zusätzliche Blutentnahmen bei den Patienten.

Da im Rahmen des Iodstoffwechsels auch radioiodierte Verbindungen im Urin erscheinen, versuchten wir eine Chromatografiemethode für Urin zu entwickeln, die zum einen im Gegensatz zur Serumchromatografie in jedem nuklearmedizinischen Labor ohne großen zusätzlichen technischen Aufwand durchführbar sein sollte. Zum anderen zeichnen sich Urinmethoden durch eine zu vernachlässigende Belastung des Patienten bei der Gewinnung des Untersuchungsmaterials aus, insbesondere wenn kein Sammelurin erforderlich wird.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten:

Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom wurden zum einen zur diagnostischen Ganzkörperszintigraphie (mit ca. 300 MBq I-131) und zum anderen zur Radioiodtherapie (mit ca. 1000 - 3000 MBq I-131 bzw. mit bis zu ca. 7000 MBq I-131) stationär aufgenommen. Die Urinchromatografie wurde daher unselektioniert bei einem großen Teil der aus diesen Gründen zwischen 11/96 und 9/97 und zwischen 11/97 und 12/97 stationär aufgenommenen Patienten durchgeführt. Das Patientenspektrum reicht daher von der Ablationstherapie nach Thyreoidektomie bis zur Therapie des metastasierten Schilddrüsenkarzinoms. Zudem befanden sich in der Studie weißrussische Kinder mit strahleninduziertem Schilddrüsenkarzinom nach der Reaktorkatastrophe von Tschernobyl. Zum Untersuchungszeitpunkt lagen eine klinische Untersuchung, eine Sonografie der Halsregion, ggf. ein CT-Thorax nativ und eine Bestimmung der Laborparameter FT4, FT3, basales TSH und hTg einschließlich Wiederfindetest vor. Abhängig vom klinischen Bild wurde ggf. eine erweiterte Diagnostik veranlasst.

Die zwischen 11/96 und 9/97 untersuchten 188 Patienten (Altersmedian 39,2 Jahre; Alter zwischen 11 Jahren und 85 Jahren) lassen sich hinsichtlich Histologie und Geschlechtsverteilung wie folgt aufteilen:

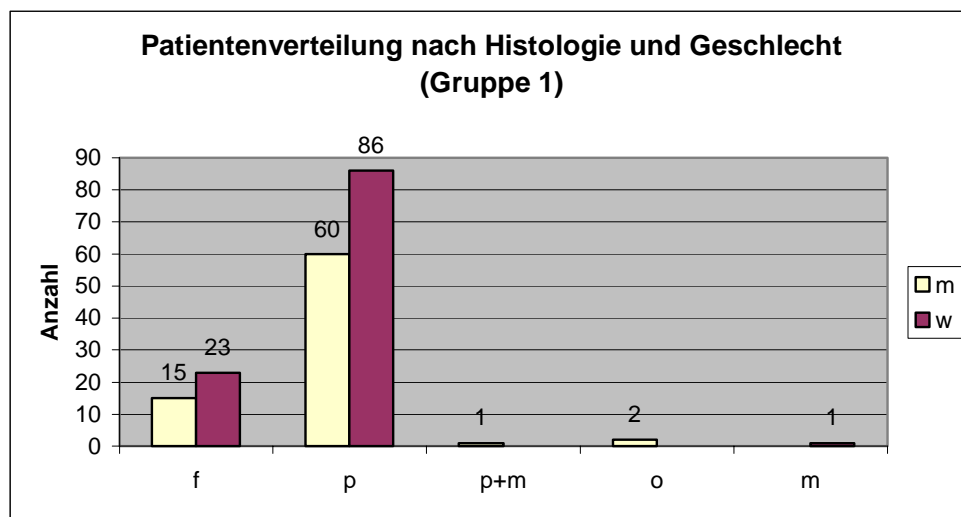


Abb.1: f= folliculär o=onkozytär m=medullär p+m=papillär+medullär p=papillär

10 der männlichen und 13 der weiblichen Patienten mit papillärem Schilddrüsenkarzinom sowie 3 der männlichen und 6 der weiblichen Patienten mit follikulärem Schilddrüsenkarzinom bedurften nach der Diagnostik einer Radioiodtherapie. Ihr Urin wurde somit sowohl im Rahmen der Diagnostik als auch der Therapie chromatografiert.

An seltenen Indikationen fanden sich:

1 weibliche Patientin mit medullärem Schilddrüsenkarzinom

1 männlicher Patient mit überwiegend onkozytär differenziertem follikulärem Schilddrüsenkarzinom mit Diagnostik und anschließender Therapie

1 männlicher Patient mit papillärem Schilddrüsenkarzinom im rechten und medullärem Schilddrüsenkarzinom im linken Schilddrüsenlappen

Zu erwähnen bleibt, dass selbstverständlich die thyreosuppressive Therapie ca. 4 – 6 Wochen vor der stationären Aufnahme abgesetzt worden war.

Dies trifft auch für die 2. Gruppe von Patienten zwischen 11/97 und 12/97 zu, für deren Urinchromatografie ein modifizierter Puffer Verwendung fand. Es handelt sich hier um 11 männliche Patienten mit papillärem Schilddrüsenkarzinom, von denen anschließend 2 Personen einer Therapie zugeführt wurden; um 13 weibliche Patienten mit papillärem Schilddrüsenkarzinom, von denen ebenfalls 2 Personen anschließend therapiert wurden. In diesem Zeitraum wurden keine weiblichen Patienten mit follikulärem Schilddrüsenkarzinom aufgenommen. Von den 5 männlichen Patienten mit follikulärem Schilddrüsenkarzinom wurde bei zweien eine anschließende Radioiodtherapie erforderlich. Einzelne Personen dieser Untersuchungsgruppe hatten bereits zwischen 11/96 und 9/97 an diesem Test teilgenommen. Der Altersmedian lag bei 19,7 Jahren (bei einem Altersbereich zwischen 12 Jahren und 84 Jahren). Die schematische Aufteilung hinsichtlich der histologischen und Geschlechtsverteilung stellt sich wie folgt dar:

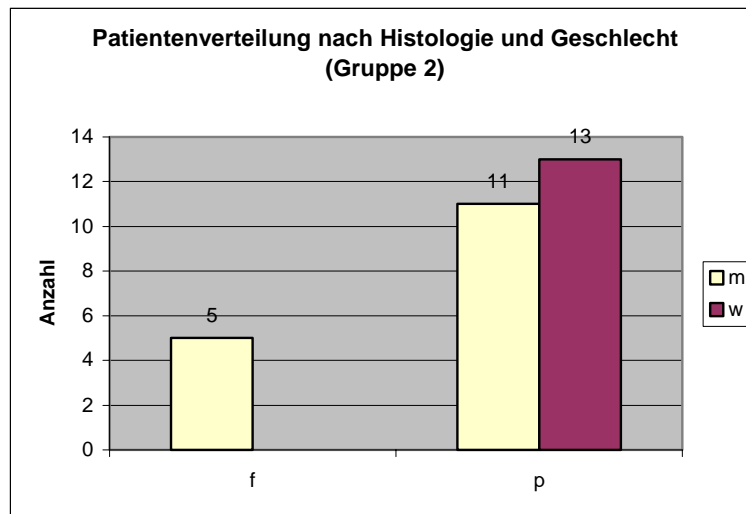


Abb. 2: f=follikulär p=papillär

2.2. Methoden:

2.2.1. Iod –131–Ganzkörperszintigrafie

Vor oraler Applikation von I-131 in Form von Natriumiodid-Therapiecapseln (Fa. Amersham-Buchler) konnte mit Hilfe des Uriniodschnelltestes der Firma Merck eine Iodkontamination bzw. ein Iodexzess ausgeschlossen werden. Die diagnostische Ganzkörperszintigrafie und die Einzelaufnahme der Hals-/Thoraxregion von ventral und dorsal erfolgten zumeist 48 h bis teilweise 72 h nach oraler Gabe von ca. 300 MBq I-131. Nach therapeutischer Gabe von ca. 7000 MBq I-131 wurden am Ende des stationären Aufenthaltes (meist nach ca. 5-7 Tagen) die entsprechenden Ganzkörperszintigrafien und die erforderlichen Einzelaufnahmen angefertigt. Routinemäßig akquirierten wir die diagnostischen und die posttherapeutischen Ganzkörperszintigrafien in anteriorer und posteriorer Projektion an den Ganzkörpergammakameras der Fa. Siemens Bodyscan und Diacam mit einer Scangeschwindigkeit von 20 cm pro Minute unter Verwendung von high-energy-Kollimatoren. Die Einzelaufnahme der Hals-/Thoraxregion erfolgte jeweils in anteriorer und posteriorer Projektion ebenfalls an diesen mit high-energy-Kollimatoren versehenen Gammakameras mit einer Aufnahmezeit von mindestens 20 Minuten oder mit einer Countzahl von 300.000 Counts. Neben den routinemäßigen Einzelaufnahmen der Hals-/Thoraxregion wurden ergänzend erforderliche Einzelaufnahmen in unterschiedlichen Projektionen mit oben

genannter Countzahl oder Zeitlimitierung veranlasst. Die Beurteilung der Szintigrafien erfolgte durch die Ärzte der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität Würzburg, die auch strittige Befunde im Rahmen der täglichen Fallbesprechungen im Konsens lösten. Die Ergebnisse der Urinchromatografien waren diesen Ärzten nicht bekannt.

2.2.2. Serum-hTg-Assay

Zur quantitativen Bestimmung von Thyreoglobulin (hTg) im Humanserum wurde ein immunoradiometrischer Assay (Dynotest Tg-S, B.R.A.H.M.S Diagnostik GmbH) mit einer funktionellen Assaysensitivität (20% Inter-Assay-Variationskoeffizient) von 0,3 ng/ml und einer analytischen Empfindlichkeit/Sensitivität von 0,05 ng/ml verwandt. Der Grenzwert (cut-off) für das Vorliegen bzw. den Ausschluss einer Karzinomerkrankung wurde bei hypothyreoter Stoffwechsellagen mit 0,3 ng/ml definiert.

2.2.3. Urindünnschichtchromatografie

a) Materialien

Zur Dünnschichtchromatografie des Urins werden folgende Materialien benötigt:

- Urinmonovette (Urin-Monovette von Sarstedt) zur Entnahme von 10 ml Urin für den kontaminationsfreien Urintransport ins Labor, Urinbecher zum Sammeln des Morgenurins, Bleibehälter.
- Laufröhrchen
- isotonischer Phosphatpuffer (ph 7,4) als Laufmittel
- DC-Alufolie (RP-18F 254, Fa. Merck, Art. 5559, 1,2x7,5 cm)
- Eppendorfpipetten: 2,5 µl zur Probenauftragung und 1 ml zur Pufferportionierung mit den jeweiligen Pipettenspitzen
- 1 Pinzette, 1 Schere
- Counterröhrchen mit Deckel
- Counter: Wallac 1480 WIZZARD TM3, automatic gamma-Counter

b) Auswahl und Vorbereitung der DC-Alufolien:

Bei der Auswahl der DC-Alufolie konnte auf eine Voruntersuchung aus dem eigenen Hause (43, 44, siehe Veröffentlichungen aus der Doktorarbeit) zurückgegriffen werden.

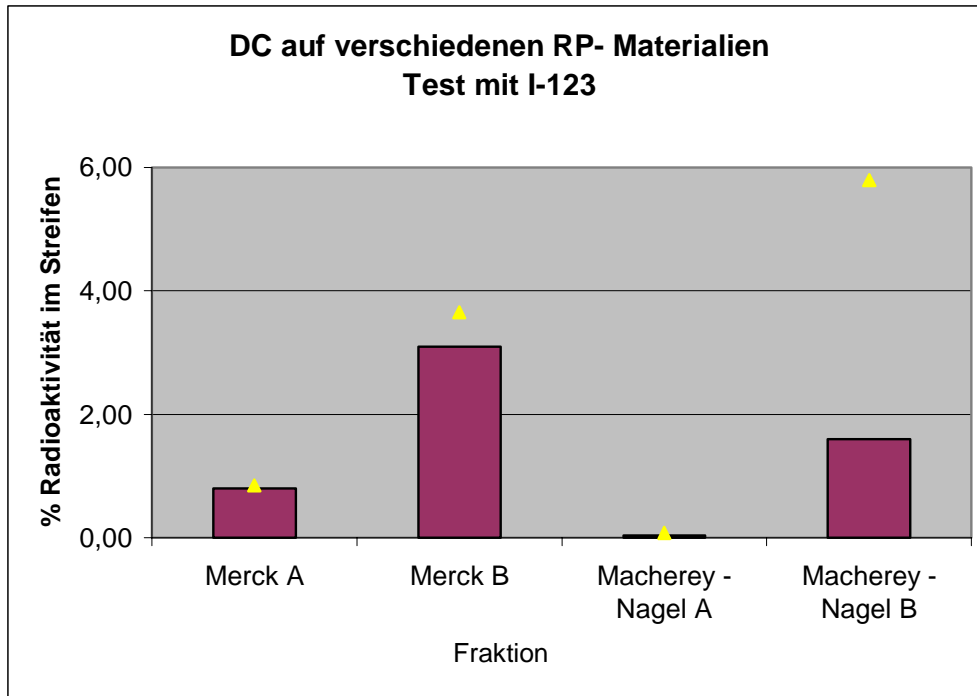


Abb.3: Urinchromatografie auf den verschiedenen DC- Materialien der Firmen Merck und Macherey – Nagel (A = Fraktion A, B = Fraktion B), Test mit I-123 (n=10).

Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, wurden die DC-Alufolien der Firmen Merck und Macherey-Nagel miteinander verglichen, indem Urinproben mit I-123 versetzt worden waren. Trotz des kleinen Stichprobenumfangs (n=10) ist zu erkennen, dass bei Verwendung der DC-Alufolie der Fa. Merck eine deutlich bessere Trennbarkeit zwischen den Fraktionen A (= iodierter Aromaten) und B (=Protein) erzielt werden kann.

Benutzt wurden daher die oben aufgeführten DC-Alufolien der Fa. Merck, die in einer Größe von 20x20 cm hergestellt werden. Aus diesen sind auf Vorrat 1,2x7,5 cm messende Streifen nach folgendem Schema erstellt worden:

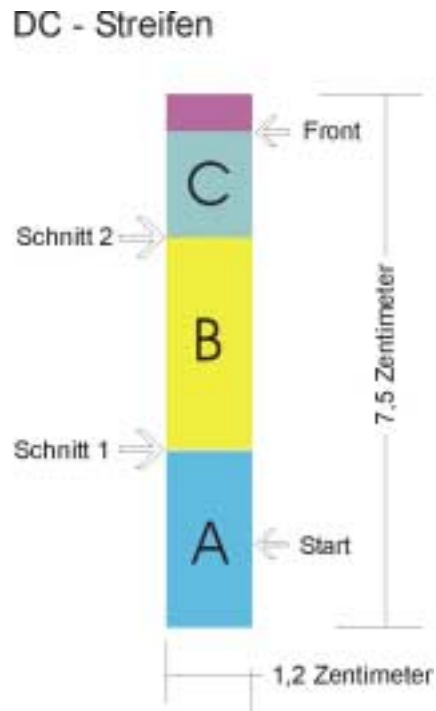


Abb. 4: Aufbau des 1,2 cm breiten Chromatografiestreifens

Für die Gliederung der Chromatografiestreifen in die Abschnitte A, B und C konnte ebenfalls auf die oben erwähnte Voruntersuchung aus dem eigenen Hause (43,44) zurückgegriffen werden. Im Rahmen dieser Voruntersuchung gelang durch die Verwendung von Referenzverbindungen eine Kalibrierung der Abschnitte A, B und C.

Fraktion	Verbindungen	Referenzen
A	iodierte Aromaten	3,5-Diiod-L-tyrosin (Fluka) 3-Iod-L-tyrosin (Fluka) 3,3',5'-Triiod-L-thyronin (Fluka) L-Thyroxin (Fluka)
B	Proteine	Humanserumalbumin (Behring)
C	anorganische polare Iodspezies	Kaliumiodid (Merck) Kaliumiodat (Merck)

Tab. 1: Kalibrierung der Fraktionen des Urinchromatografiestreifens durch Referenzverbindungen

c) Der isotonische Phosphatpuffer: pH 7,4

Dieser Puffer diente als Laufmittel und wurde ohne zusätzliche Iodierung als Eluent für die zwischen 11/96 und 9/97 untersuchten 188 Patienten (Gruppe 1) verwendet. Bei den 29 Patienten (Gruppe 2), deren Urin zwischen 11/97 und 12/97 der Chromatografie zugeführt worden war, erfolgte eine Modifikation des Puffers durch eine zusätzliche Iodierung (0,01 M KI). Dies sollte analog zur Serumchromatografie nach Bianchi et al. (3) eine deutliche Reduktion der Koelution von Radioiodid (I-131) sowohl mit der Fraktion A als auch mit der Fraktion B erbringen.

d) Durchführung:

Zur Gewinnung des morgendlichen Spontanurins wurden dem Patienten Urinbecher ausgehändigt. Aus dieser Probe zogen die Patienten ca. 10 ml Urin in eine Urinmonovette (SARSTEDT) zum kontaminationsfreien Transport ins Labor auf. Diese Proben wurden entweder sofort der Chromatografie zugeführt oder bei Raumtemperatur unter Beachtung der Strahlenschutzbestimmungen gelagert. Zunächst wurden die zur Chromatografie verwendeten Laufröhrchen tropfenfrei mit dem Eluenten (= 1 ml Phosphatpuffer) bestückt. Anschließend sind 2,5 µl des Spontanurins auf die Mitte der Startlinie des Bereiches A der vorbereiteten DC-Streifen mit Hilfe von Eppendorfpipetten zu pipetieren. Pro Patient wird eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Bis zum Erreichen der Frontlinie des Abschnittes C sind ca. 8 Minuten zu veranschlagen. Unmittelbar anschließend wird der DC-Streifen in die Abschnitte A, B, und C zerteilt und hierbei gleichzeitig in die Counterröhrchen überführt. Nach Verarbeitung sämtlicher Proben ist der automatische Gamma-Counter bestückbar.

Vor jeder Messung von Patientenproben wurde zum Ausschluss von Kontaminationen die Hintergrundzählrate - zunächst über einen Zeitraum von 60 Minuten - bestimmt. Im Laufe der Untersuchungen konnten wir die Messdauer der Hintergrundzählrate auf 30 Minuten reduzieren. Die Messparameter für die Probenmessdauer lagen bei einem Zeitlimit von 60 Minuten oder beim Erreichen einer Countzahl von 100 000. Für jeden DC-Streifen wurde die Gesamtsumme der Counts per minute (CPM; korrigiert) und die CPM für die Abschnitte A, B und C ermittelt. Letztere wurden in Prozent der Gesamtsumme angegeben.

2.3. Statistische Auswertung mittels ROC- (Receiver Operating Characteristic) – Kurven:

Beim chromatografischen Nachweis endogen radioiodierter Verbindungen im Urin handelt es sich um eine neue Methode, die mit den etablierten Methoden hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie anhand eines vom Stichprobenumfang beschränkten, typischen Patientenkollektivs verglichen werden sollte. Üblicherweise erfolgt die Bewertung neuer Methoden meist durch Angabe von Sensitivitäts- und Spezifitätsparen in einer vorgegebenen diagnostischen Situation. Durch Anwendung unterschiedlich strikter Befundkriterien kann jedoch jede dieser Methoden eine hohe Sensitivität bei niedriger Spezifität oder eine niedrige Sensitivität bei hoher Spezifität erreichen. Zum Sensitivitätsvergleich unterschiedlicher Methoden müssen daher ihre Spezifitäten und für den Spezifitätsvergleich ihre Sensitivitäten gleich sein (13,30,31). Zwar kann der Auswerter solcher Tests mit unterschiedlich strikten Kriterien befunden, allerdings ist er meist nicht in der Lage verschiedene Verfahren auf einem vorgegebenen fixierten Sensitivitäts- bzw. Spezifitätsniveau zu beurteilen (30,31,53). Aufgrund dieser Problematik wurde die ROC-Analyse eingesetzt. Hier ist es dem Auswerter möglich, jeden Befund mit einer festen Anzahl unterschiedlich harter Befundungskriterien zu beurteilen. In der ROC-Kurve werden die resultierenden Anteile richtig positiver und falsch positiver Befunde für die unterschiedlichen Kriterien grafisch gegeneinander aufgetragen. Die ROC-Kurve gibt das ganze Kontinuum von Sensitivitäts- und Spezifitätsparen wieder und erlaubt die vollständige Charakterisierung und den objektiven Vergleich diagnostischer Verfahren (6,18,29-31,53).

Erstellt wurden die ROC-Kurven mit dem Programm: Analyse-It+Clinical Laboratory v1.44.

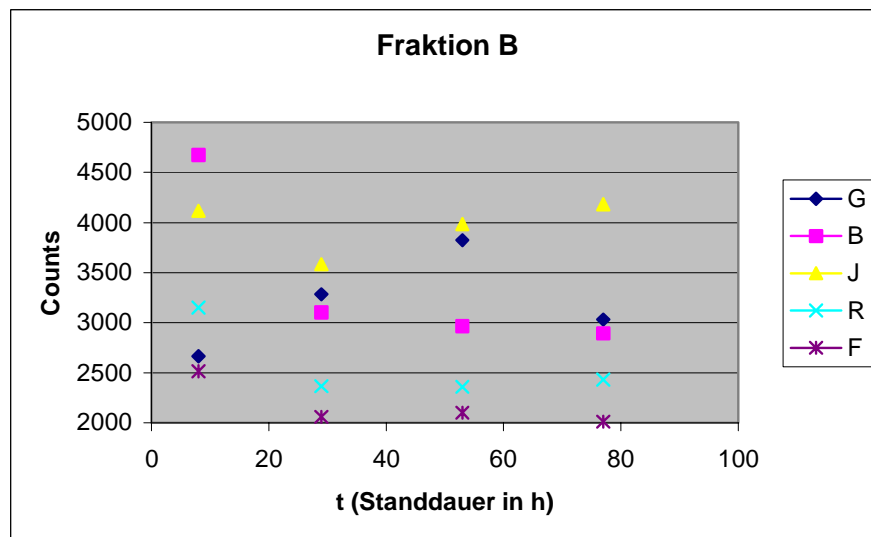
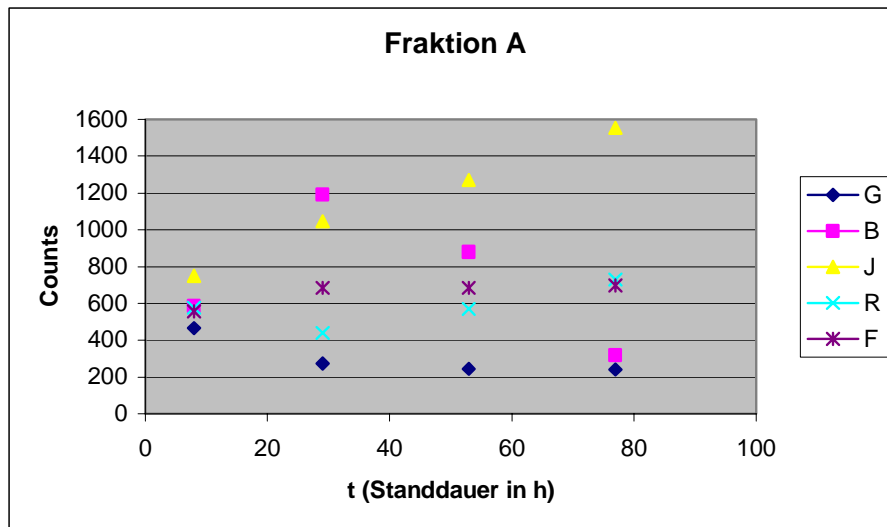
3. Datenauswertung:

3.1. Urinchromatografie bei Normalpersonen

Bei der Serumchromatografie I-131-markierter Schilddrüsenhormone beobachteten Bianchi et al. (3) hinsichtlich dieser Stoffwechselprodukte keinen wesentlichen chromatografischen Unterschied zwischen einer in vivo- und einer in vitro-Applikation von I-131 und schlossen somit eine hypothetische Neogenese radioiodierter Verbindungen/Proteine in vivo aus. Ähnliche Verhältnisse bei der Urinchromatografie voraussetzend - aufgrund von Vorversuchen mit einer kleinen Anzahl von Schilddrüsenkarzinompatienten - wurde auch bei einer kleinen Anzahl von Normalpersonen eine Urinchromatografie durchgeführt.

Hierzu wurde Spontanurin von 5 (Gruppe 1: 11/97) bzw. 4 (Gruppe 2: 3/98) Beschäftigten unserer Klinik in vitro mit I-131 inkubiert und anschließend chromatografiert. Alle Personen wiesen keine Schilddrüsenerkrankungen auf. Zielsetzung war zum einen die Ermittlung der Verteilung der Fraktionen A, B und C bei Schilddrüsengesunden. Zum anderen sollte der Einfluss der Standdauer (= Zeit zwischen Gewinnung des Spontanurins und Chromatografie des Urins) auf die Chromatografie des Urins untersucht werden. Unter Berücksichtigung der Strahlenschutzvorschriften lagerten die zu untersuchenden Urine bei Raumtemperatur und wurden 11/97 nach 8h, 29h, 53h und 77h erneut chromatografiert. 3/98 betrug die Standdauer 30 Minuten im Sinne einer sofortigen Verarbeitung und 8h bzw. 24h. 3/98 wurden die Urine sowohl mit dem isotonischen Phosphatpuffer als auch mit dem modifizierten iodierten Phosphatpuffer untersucht.

3.1.1. Kontrollpersonen und Standdauer der Proben (Gruppe 1)



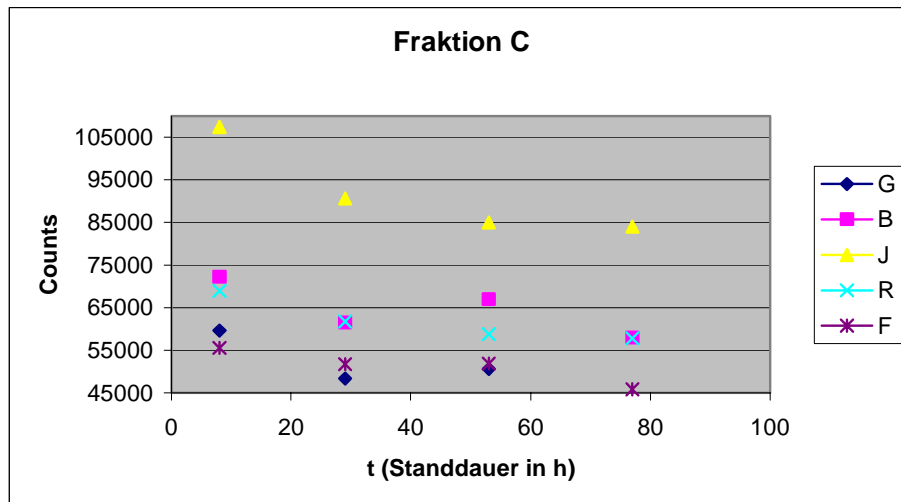


Abb. 5: Urinchromatografie bei 5 Normalpersonen: Fraktionen A – C vs. Standdauer

Während bei einer kurzen Standdauer die Countrate für die Fraktion A interindividuell noch eine relativ geringe Spannweite aufweist, trifft dies für die Fraktionen B und C bereits zu diesem Zeitpunkt nicht mehr zu. Mit Zunahme der Standdauer ergeben sich zum Teil erhebliche Abweichungen sowohl inter- als auch intraindividuell. Eine verlässliche Definition eines Normalwertes für die einzelnen Fraktionen bei Normalpersonen ist somit insbesondere unter Berücksichtigung des kleinen Stichprobenumfanges nicht möglich. Für die z.T. erheblichen intraindividuellen Abweichungen dürften chemische bzw. enzymatische Prozesse im Urin verantwortlich sein, so dass eine zügige Verarbeitung respektive Untersuchung der Urinproben ratsam erscheint.

3.1.2. Kontrollpersonen und Standdauer der Proben (Gruppe 2)

Auch bei diesen Kontrollpersonen konnte eine Schilddrüsenerkrankung ausgeschlossen werden. Lediglich eine Person hatte als Kontrollperson bereits 11/97 an der Studie

teilgenommen. Diese Untersuchung wurde nochmals durchgeführt um den Einfluss des modifizierten Puffers auf die erkennbare inter- und intraindividuelle Varianz abschätzen zu können.

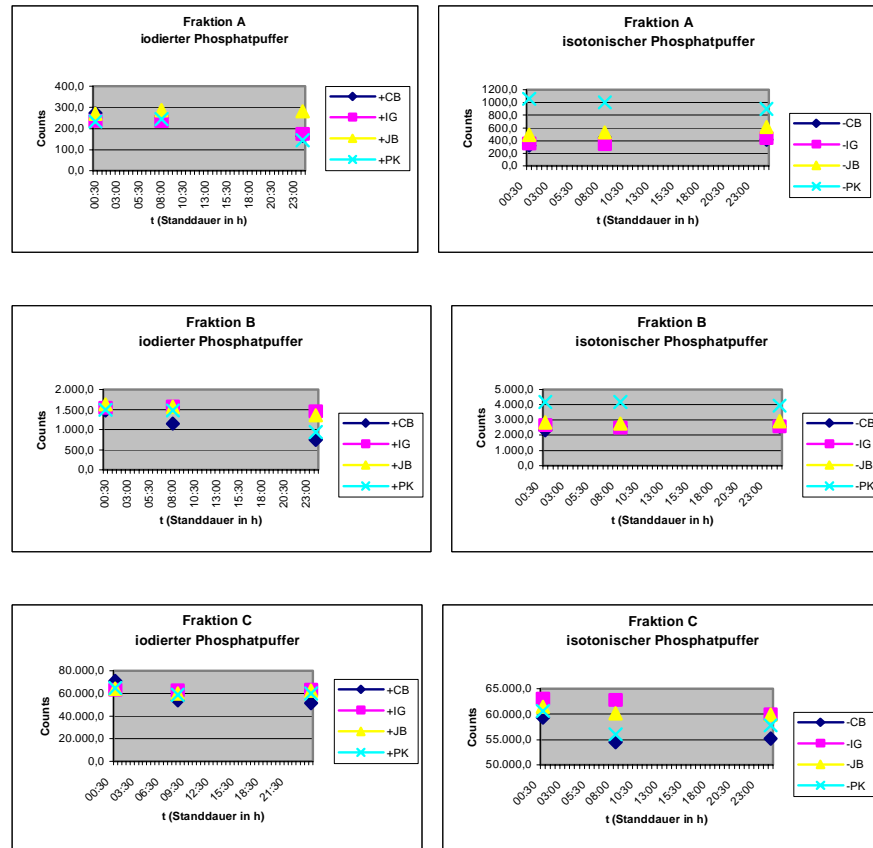


Abb. 6: Urinchromatografie bei 4 Normalpersonen: Fraktionen A – C vs. Standdauer unter Modifikation des Puffers (isotonischer Phosphatpuffer vs. iodierter Phosphatpuffer)

Bei Verwendung des modifizierten iodierten Phosphatpuffers ist visuell eine deutliche Abnahme der interindividuellen Streuung der Werte aller 3 Fraktionen bei kurzer Standdauer erkennbar. Mit Zunahme der Standdauer, d.h. mit Zunahme der Zeit zwischen Uringewinnung und Chromatografie, zeigt sich auch bei Verwendung dieses iodierten Puffers für die Fraktionen A und B tendenziell eine Zunahme der interindividuellen Streubreite. Im Vergleich zum nichtiodierten Phosphatpuffer als

Eluenten ist allerdings bei Verwendung des iodierten Puffers für alle 3 Fraktionen und im Zeitverlauf visuell eine Abnahme sowohl der intra- als auch der interindividuellen Streubreite feststellbar.

3.2. ROC-Kurven der Patientengruppen

Wie unter 2.3. ausgeführt, erlaubt die ROC-Analyse den objektiven Vergleich diagnostischer Verfahren. Um zum einen die für die Urinchromatografie relevanten Fraktionen (A, B oder C) zu ermitteln und zum anderen den besten Untersuchungszeitpunkt für die Chromatografie nach peroraler Applikation von I-131 festzustellen, wurden ROC-Kurven der einzelnen Fraktionen A, B und C gesondert für jeden Untersuchungstag nach Applikation von I-131 (1., 2. und 3. Tag) erstellt. Getestet wurden diese verschiedenen Chromatografieparameter gegen die etablierten Untersuchungsverfahren hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie. Zur Unterscheidung normal/abnormal wurde für den hTg-Wert in Hypothreose sowohl ein Schwellenwert von 0,3 ng/ml als auch von 1,0 ng/ml festgelegt. In der I-131-Ganzkörperszintigrafie unterschied man zwar bei Akquirierung der Untersuchungsparameter zwischen keiner Anreicherung, einer mäßiggradig und einer stark ausgeprägten Anreicherung. Den vorliegenden Berechnungen liegt jedoch die Unterscheidung keine Anreicherung oder eine nachweisbare Anreicherung zugrunde, wobei unter den nachweisbaren = positiven Anreicherungen die beiden letzteren subsummiert wurden. Dieses Prinzip gilt für die Auswertungen der Patientengruppe 1 (11/96-9/97) und der Patientengruppe 2 (11/97-12/97).

Dargestellt werden im folgenden lediglich einige relevante ROC-Kurven. Der diagnostische Test weist Trennschärfe auf, wenn sich die Kurve signifikant von der Diagonalen unterscheidet. D.h. die Kurve, die sich der linken oberen Ecke der Graphik am besten nähert, entspricht im Vergleich dem besseren Test. Die Kurve eines perfekten Testes würde als extreme Position die linke obere Ecke der Graphik einnehmen, einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 100 % entsprechend.

3.2.1. Patientengruppe 1:

a) Gegenüberstellung der ROC-Kurven für die Fraktion A des 1. und des 2. Tages unter der Voraussetzung eines hTg-Spiegels $> 0,3$ ng/ml bzw. einer positiven I-131-Ganzkörpersintigrafie (Patientenanzahl $n=132$)

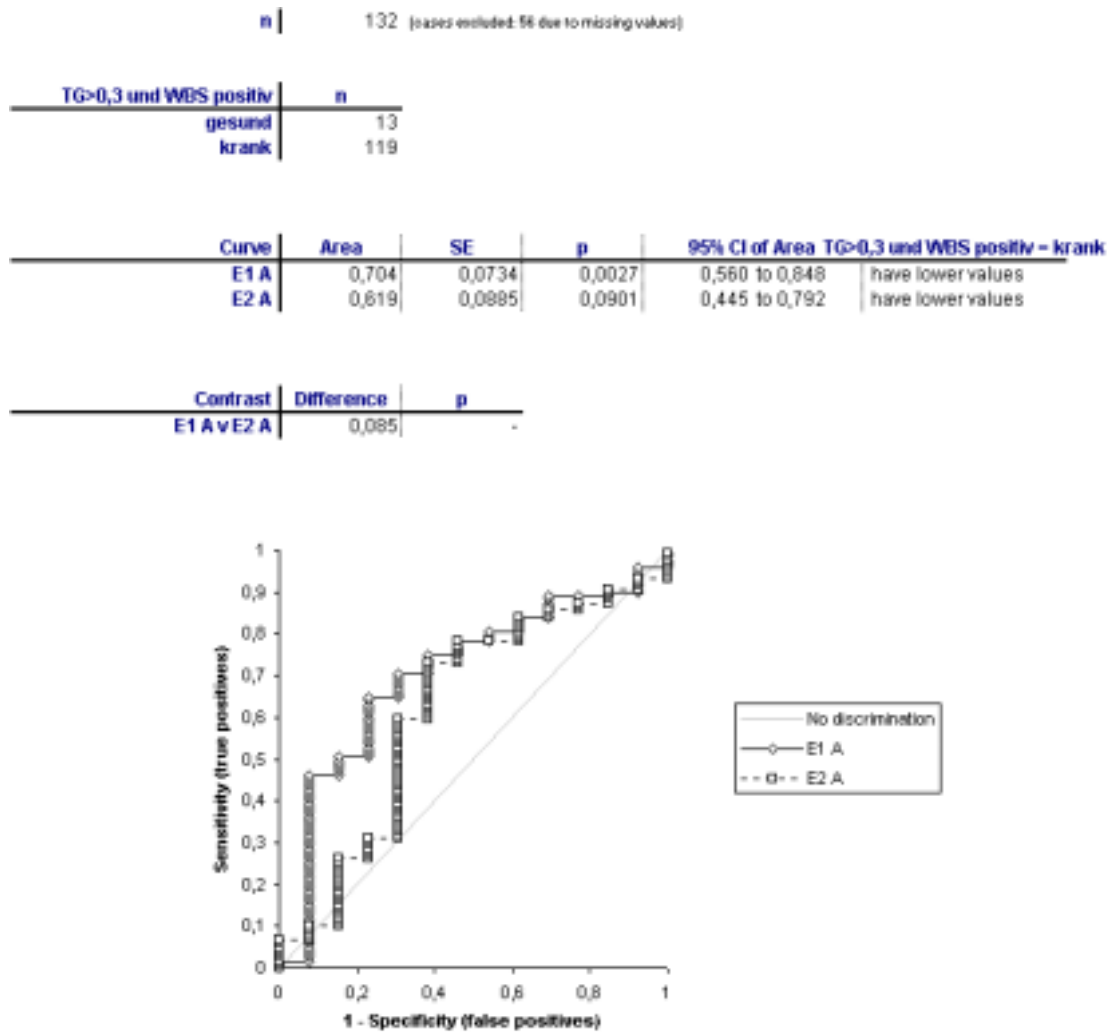


Abb. 7: Gegenüberstellung der ROC - Kurven der Fraktion A des 1.(E1A) und des 2. (E2A) Tages unter Zugrundelegung eines hTg $>0,3$ ng/ml bzw. eines positiven I-131-Ganzkörperszintigrammes.

Im vorstehenden Diagramm (s. Abb. 7) sind die ROC-Kurven für die Fraktion A für den 1. und den 2. Untersuchungstag (E1 A versus E2 A) gegenübergestellt. Verglichen wurden diese Urinchromatografieparameter mit den etablierten Verfahren hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie, wobei zur Unterscheidung gesund/krank dem hTg der Schwellenwert $> 0,3$ ng/ml und dem I-131-Ganzkörperszintigramm eine positive Anreicherung zugrunde lagen. Beide ROC-Kurven weichen zwar nach links von der Diagonalen ab, erfüllen jedoch nicht die strengen Kriterien für eine statistisch signifikante Trennschärfe (wie den oben stehenden Werten für p und dem 95 %-Intervall für die Fläche unter den Kurven zu entnehmen ist). Tendenziell scheint jedoch die Fraktion A des 1. Tages für den diagnostischen Einsatz etwas besser geeignet zu sein als die Fraktion A des 2. Tages.

b) Gegenüberstellung der ROC-Kurven für die Fraktion A des 1. und 2. Tages unter der Voraussetzung eines hTg-Spiegels > 1 ng/ml bzw. einer positiven I-131-Ganzkörpersintigrafie (Patientenanzahl $n=132$)

n		132 (cases excluded: 56 due to missing values)	
TG>1,0 und WBS positiv		n	
gesund		37	
krank		95	

Curve	Area	SE	p	95% CI of Area TG>1,0 und WBS positiv - krank	
E1 A	0,546	0,0595	0,2185	0,430 to 0,663	have lower values
E2 A	0,520	0,0582	0,3635	0,408 to 0,635	have lower values

Contrast	Difference	p
E1 A v E2 A	0,026	-

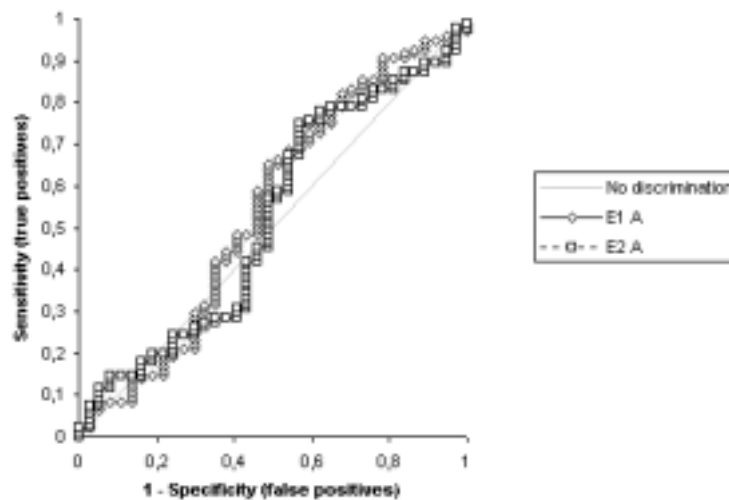


Abb. 8: Gegenüberstellung der ROC - Kurven der Fraktion A des 1. (E1A) und des 2. (E2A) Tages unter Zugrundelegung eines hTg >1 ng/ml bzw. eines positiven I-131-Ganzkörperszintigrammes.

Im Unterschied zur Abb. 7 unter Punkt a) wurde hier der Schwellenwert für den hTg auf > 1 ng/ml festgelegt bei ansonsten unveränderten Parametern. Trotz dieses höheren Schwellenwertes für hTg und damit der gestiegenen Anzahl Gesunder entsprechen

überraschenderweise beide Kurvenverläufe im wesentlichen der Diagonalen und weisen somit konsequenterweise sowohl in der Einzel- als auch in der Gegenüberstellung keine Trennschärfe auf.

c) Gegenüberstellung der ROC-Kurven für die Fraktion A und die Fraktion B des 1. Tages unter der Voraussetzung eines hTg-Spiegels $> 0,3$ ng/ml bzw. einer positiven I-131-Ganzkörperszintigrafie (Patientenanzahl $n=151$).

n		151 (cases excluded: 37 due to missing values)	
TG>0,3 und WBS positiv			
gesund	n	14	
krank	n	137	

Curve	Area	SE	p	95% CI of Area	TG>0,3 und WBS positiv - krank
E1 A	0,694	0,0717	0,0034	0,553 to 0,835	have lower values
E1 B	0,537	0,0817	0,3253	0,377 to 0,697	have higher values

Contrast	Difference	p
E1 A v E1 B	0,157	-

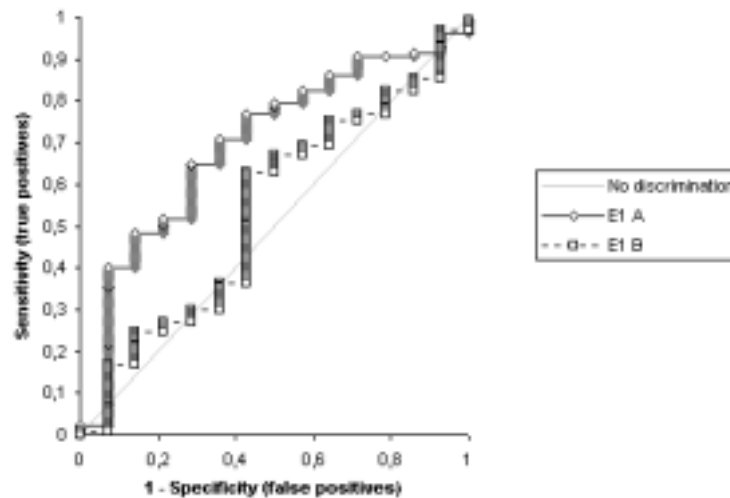


Abb. 9: Gegenüberstellung der ROC-Kurven der Fraktion A (E1A) und der Fraktion B (E1B) des 1. Tages unter Zugrundelegung eines hTg $> 0,3$ ng/ml bzw. eines positiven I-131-Ganzkörperszintigrammes.

Im Gegensatz zur Abb. 7 unter Punkt a) liegt die Gegenüberstellung der ROC-Kurven der Fraktion A des 1. Tages und der Fraktion B des 1. Tages vor. Zwar weist auch hier tendenziell die Fraktion A gegenüber der Fraktion B einen leichten Vorteil auf, bei allerdings auch hier fehlender statistischer Signifikanz.

d) Gegenüberstellung der ROC-Kurven für die Fraktion A und die Fraktion B des 1. Tages unter der Voraussetzung eines hTg-Spiegels > 1 ng/ml bzw. einer positiven I-131-Ganzkörperszintigrafie (Patientenanzahl $n=151$).

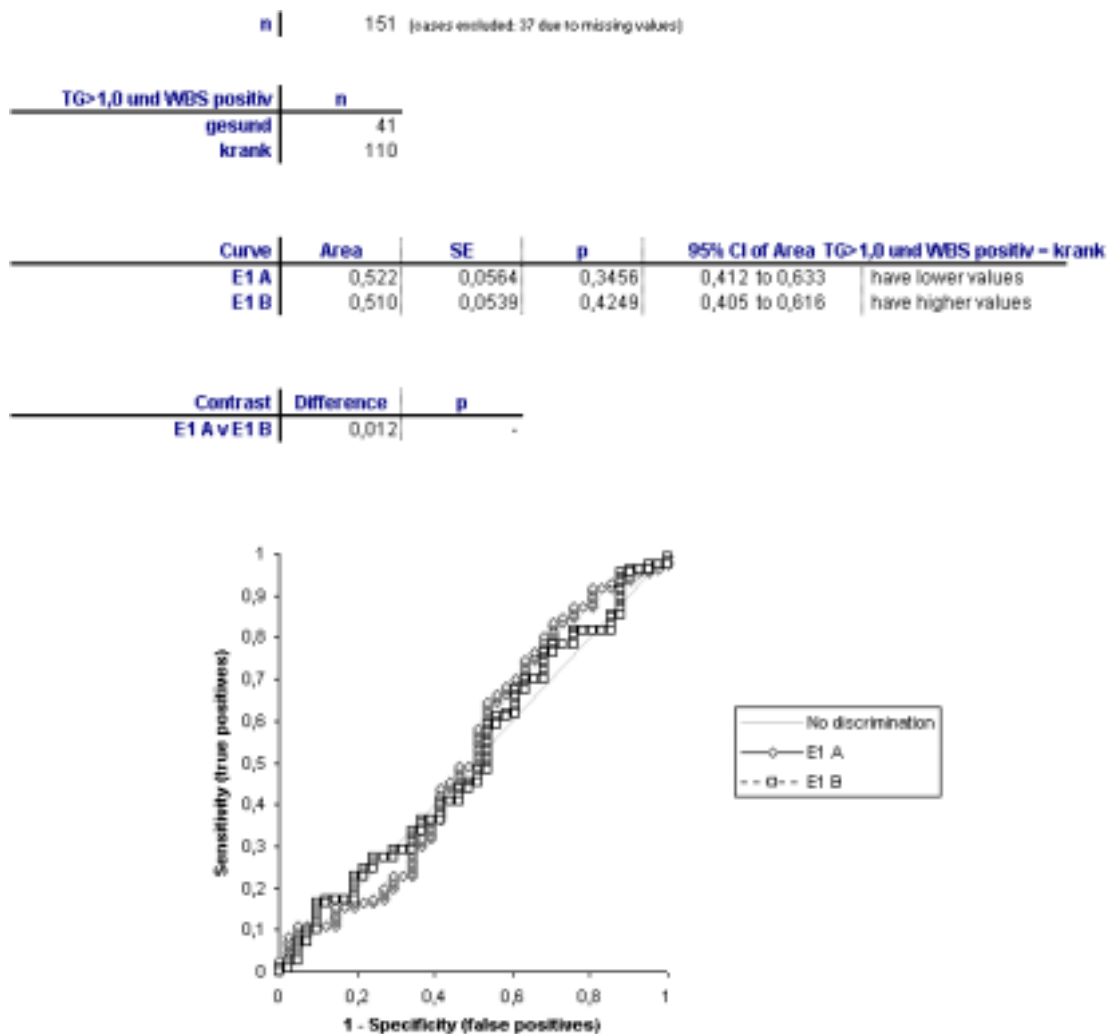


Abb. 10: Gegenüberstellung der ROC-Kurven der Fraktion A (E1A) und der Fraktion B (E1B) des 1. Tages unter Zugrundelegung eines $hTg > 1$ ng/ml bzw. eines positiven I-131-Ganzkörperszintigrammes.

Im Gegensatz zur Abb. 9 unter Punkt c) liegt der Schwellenwert für den hTg bei > 1 ng/ml bei im weiteren im Vergleich zu Punkt c) unveränderten Parametern. Beide ROC

- Kurven und somit Chromatografieparameter (E1A bzw. E1B) weisen unter dieser Voraussetzung - wie in Abb. 8 unter Punkt b) - keine diagnostische Trennschärfe auf.

3.2.2. Patientengruppe 2:

Auch für diese Patientengruppe wurden multiple ROC-Kurven erstellt. Insbesondere betrifft dies sowohl die Gegenüberstellung der Fraktion A des 1. Tages und der Fraktion A des 2. Tages bei festgelegten Schwellenwerten für hTg von $> 0,3$ ng/ml bzw. > 1 ng/ml als auch die Gegenüberstellung der Fraktion A und der Fraktion B des 1. Tages bei den vorgenannten hTg - Schwellenwerten.

Zwar weist keine dieser ROC-Kurven einen der Diagonale entsprechenden Verlauf auf, insbesondere auch bei einem Schwellenwert für hTg von > 1 ng/ml. Zudem zeigt sich auch in dieser Patientengruppe tendenziell ein leichter Vorteil für die Verwendung der Fraktion A des 1. Tages als Urinchromatografieparameter trotz der relativ sprunghaften Verläufe sämtlicher ROC-Kurven, die in erster Linie durch die geringe Untersuchungszahl von lediglich 29 Patienten bedingt sein dürften. Allerdings ist streng genommen eine statistische Auswertung in jedweder Form hier aufgrund dieser geringen Patientenzahl nicht möglich, so dass auf eine grafische Darstellung dieser (tendenziellen) Diagramme verzichtet werden muss.

3.3 Gegenüberstellung der Ergebnisse der Urinchromatografie mit den etablierten Verfahren hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie

3.3.1. Patientengruppe 1

Aus den ROC-Kurven können für die einzelnen untersuchten Urinfraktionen Grenz- bzw. Schwellenwerte zur Differenzierung gesund/krank (durch Summation der richtig positiven und falsch positiven Ergebnisse) ermittelt werden.

Patientenanzahl n = 151	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
7	+	-	-
5	+	-	+
56	+	+	-
32	+	+	+
1	+	f.W.	-
1	+	f.W.	+
4	-	-	-
10	-	-	+
25	-	+	-
10	-	+	+

Tab. 2: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Urin- DC unter Verwendung der Fraktion A des 1. Tages (Grenzwerte: Fraktion A 1. Tag 1,41 %; hTg >0,3 ng/ml; + = Anreicherung im I-131-WBS; f.W. = fehlender Wert)

Für die Fraktion A des 1. Tages liegt dieser Wert beim Kollektiv von 151 Patienten bei 1,41 % (siehe Tabl. 2). Danach zeigen eine komplette Übereinstimmung im I-131-Ganzkörperszintigramm, im hTg und in der Urinchromatografie 36 der 151 Patienten (23,9 %), wobei lediglich 4 dieser Patienten (2,7 %) in allen drei Verfahren als gesund einzustufen sind. Diese geringe Anzahl Gesunder dürfte allerdings mitbedingt sein durch den Untersuchungsaufbau, da sowohl eine Indikation für die diagnostische als auch die therapeutische Applikation von I-131 vorliegen musste. 113 Patienten (74,8 %) weisen in diesen drei Verfahren diskordante Ergebnisse auf. Insbesondere sind 10 Patienten (6,6 %) in den herkömmlichen Verfahren als gesund einzustufen. Ihr positives Ergebnis in der Urinchromatografie weist jedoch auf das Vorhandensein von

funktionierendem Schilddrüsengewebe bzw. Tumorgewebe und somit auf das Vorliegen der Erkrankung hin.

n=167	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
12	+	-	-
3	+	-	+
62	+	+	-
24	+	+	+
1	+	f.W.	-
13	-	-	-
10	-	-	+
32	-	+	-
10	-	+	+

Tab. 3: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Urin-DC unter Verwendung der Fraktion A des 2. Tages (Grenzwerte: Fraktion A 2. Tag 2,33 %; hTg >0,3 ng/ml; + = Anreicherung im I-131-WBS; f.W. = fehlender Wert).

Die Fraktion A des 2. Tages weist bei diesem Kollektiv von 167 Patienten einen Schwellenwert von 2,33 % auf (siehe Tabl. 3). Übereinstimmende Befunde finden sich bei 37 Patienten (22,2 %). Hierunter bieten 13 Patienten (7,8 %) keine Hinweise auf das Vorliegen einer Erkrankung. Diskordante Ergebnisse liegen bei 129 Patienten (77,3 %) vor, wobei 10 dieser Patienten (6,0 %) nur in der Urinchromatografie als krank einzustufen sind.

n=151	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
3	+	-	-
9	+	-	+
37	+	+	-
51	+	+	+
1	+	f.W.	-
1	+	f.W.	+
7	-	-	-
7	-	-	+
10	-	+	-
25	-	+	+

Tab. 4: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Urin-DC unter Verwendung der Fraktion B des 1. Tages (Grenzwerte: Fraktion B 1. Tag 5,66 %; hTg >0,3 ng/ml; + = Anreicherung im I-131-WBS; f.W. = fehlender Wert).

5,66 % beträgt der Schwellenwert bei Verwendung der Fraktion B des 1. Tages (siehe Tabl. 4). 58 dieser 151 Patienten (38,4 %) zeigen übereinstimmende Befunde. Davon sind 7 Patienten (4,6 %) in allen 3 Verfahren negativ und somit als gesund anzusehen. Nichtübereinstimmende Ergebnisse weisen 91 Patienten (60,3 %) auf. Unter letzteren finden sich 7 Patienten (4,6 %), die lediglich in der Urinchromatografie einen Hinweis auf die Krebserkrankung bieten.

Für die hinsichtlich der Nachsorge besonders interessante Gruppe der hTg- und I-131-ganzkörperszintigrafisch negativen bei urinchromatografisch positiven Patienten konnte keine Korrelation mit einem Tumorstadium festgestellt werden, unabhängig von der verwendeten Fraktion A des 1. und 2. Tages bzw. der Fraktion B des 1. Tages.

3.3.2. Patientengruppe 2

Für das Patientenkollektiv von 11/97 bis 12/97 wurden zwar ebenfalls Grenzwerte für diese Fraktionen ermittelt. Diese liegen für die Fraktion A des 1. Tages bei 0,6 %, für die Fraktion A des 2. Tages bei 1,1 % und für die Fraktion B des 1. Tages bei 2,4 %. Die deutlich niedrigeren Schwellenwerte dürften durch die Verwendung des modifizierten – iodierten – Puffers als Eluenten bedingt sein, der eine Koelution von Radioiodid mit den Fraktionen A und B deutlich reduziert. Aufgrund der geringen Untersuchungszahl ist hier eine klinische Gegenüberstellung und dementsprechend ihre tabellarische Darstellung nicht sinnvoll.

4. Diskussion

Mit einem Anteil von 1 % an allen bösartigen Tumoren ist das Schilddrüsenkarzinom zwar insgesamt selten, stellt jedoch den häufigsten malignen endokrinen Tumor (4,27,49) mit weltweit ansteigender Inzidenz in den letzten Jahrzehnten (12,38) dar. Histologisch überwiegen mit mehr als 95 % aller Schilddrüsenmalignome die Schilddrüsenkarzinome. Die von den Follikelzellen ausgehenden papillären und follikulären Karzinome - häufig unter dem Begriff der differenzierten Tumore zusammengefasst - besitzen zwar mit einer 10-Jahresüberlebensrate von über 90 % eine ausgezeichnete Prognose (27,49). Dennoch oder gerade deshalb sind sowohl eine adäquate Therapie als auch eine konsequente Nachsorge unbedingt erforderlich (8,21,28,49). Zumal Lokalrezidive oder eine Metastasierung teilweise erst nach vielen Jahren auftreten können und deren Prognose auch von einer frühzeitigen Diagnosestellung beeinflusst wird. Die Tumornachsorge ruht neben dem Basisprogramm mit Anamnese, klinischer Untersuchung, Halssonografie und Bestimmung des Tumormarkers hTg unter Thyreosuppression insbesondere auf den Pfeilern der Thyreoglobulinbestimmung unter Stimulationsbedingungen und der I-131-Ganzkörperszintigrafie in Hypothyreose. Allerdings wird in der Literatur (3) auf diskordante Ergebnisse in der Thyreoglobulinbestimmung und der I-131-Ganzkörperszintigrafie von ca. 15 – 20 % hingewiesen. Zum anderen erleiden im Verlauf auch Patienten mit zunächst unauffälligem I-131-Ganzkörperszintigramm und unauffälligem hTg-Spiegel Lokalrezidive oder eine Metastasierung.

In der Literatur wird daher beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom über einen weiteren diagnostischen Parameter berichtet: die Serumchromatografie endogen radioiodierter Schilddrüsenhormone (3,16,25).

Bianchi et al. (3) führten bei 125 Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom eine Gelchromatografie des Serums nach Applikation von I-131 im Rahmen der Nachsorge durch. Der Methode liegt die Beobachtung zugrunde, dass nach I-131-Applikation zur Ganzkörperszintigrafie als spezifische Produkte von funktionierendem differenzierten Schilddrüsengewebe endogen radioiodiertes 3,5,3'-Triiodthyronin und Thyroxin im Serum erscheinen und dass es hierfür keine alternativen Stoffwechselwege gibt. Sie gingen davon aus, dass beim Vorhandensein von Thyreozyten bzw.

differenzierten Schilddrüsentumoren, auch dann deren endogen radioiodierte Stoffwechselprodukte im Serum erscheinen und durch die Gelchromatografie nachweisbar sind, wenn die Tumormasse oder der Schilddrüsenrest so gering sind, dass sie mit der Thyreoglobulinbestimmung und/oder dem I-131-Ganzkörperszintigramm nicht erfasst werden können. Die Gelchromatografie des Serums wurde mit den herkömmlichen Verfahren (hTg, I-131-Ganzkörperszintigrafie) verglichen und die Patienten über einen Zeitraum von mindestens 3 Jahren nachbeobachtet. In der folgenden Tabelle sind die klinischen Ergebnisse zusammengestellt:

Patientenanzahl	I-131-Ganzkörperszintigramm	hTg (ng/ml) negativ, wenn <5 ng/ml	Sephadex G25 Chromatografie	„Follow-up“
58	-	-	-	-
38	+	184 +/-62	+	+
20	+	-	+	+
5	-	-	+	+
1	-	256	-	+
3	+	-	-	-

Tab. 5: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Gelchromatografie – klinischer Verlauf im Nachbeobachtungsintervall (>3 Jahre) nach Bianchi et al. *J Nucl Med* 1993;34:2032-2037.

Für die Serumchromatografie fand sich eine Sensitivität von 98,4 % und eine Spezifität von 100 % und für die Kombination von Chromatografie und hTg-Bestimmung sowohl eine Sensitivität von 100 % als auch eine Spezifität von 100 %. Mit Ausnahme eines einzigen Patienten stimmte die Gelchromatografie mit der klinischen Entwicklung der Patienten im Nachbeobachtungszeitraum überein. Letzterer Patient wies neben einem negativen I-131-Ganzkörperszintigramm eine negative Serumchromatografie bei positivem hTg und Tumorerkrankung in der Nachbeobachtungszeit auf. Der negative Befund in der Serumchromatografie wurde darauf zurückgeführt, dass in einigen Fällen differenzierte Schilddrüsenkarzinomzellen zwar noch über die Fähigkeit der hTg-Synthese bei allerdings bereits vorliegendem Verlust der I-131-Speicherfähigkeit verfügen. Bei den drei Patienten mit positivem I-131-Ganzkörperszintigramm und negativen weiteren Untersuchungsparametern handelte es sich um falsch positive

Anreicherungen im I-131-Szintigramm bedingt durch Ösophagusdivertikel und ektope Speicheldrüsengewebe in zervikalen Lymphknoten. Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, dass bei negativen Befunden in allen drei Untersuchungsverfahren (I-131-WBS, hTg, Serumchromatografie) funktionierendes Schilddrüsengewebe / differenziertes Tumorgewebe ausgeschlossen werden kann, während bei diskordanten oder negativen Ergebnissen in der I-131-WBS und im hTg die positive Serumchromatografie auf die Persistenz von differenziertem Schilddrüsentumorgewebe hinweist. Diese Patienten bedürfen nach Meinung der Autoren einer intensiven engmaschigen Nachsorge.

Hays and McDougall (16) untersuchten eine kleine Anzahl von Patienten (19 Patienten, 20 Studien) auf im Serum zirkulierendes endogenes radioiodiertes Thyroxin im Rahmen einer diagnostischen Ganzkörperszintigrafie. Im Gegensatz zur Methode von Bianchi et al. wird die Serumchromatografie mit einem HPLC-Schritt kombiniert. Die Gegenüberstellung ihrer Ergebnisse mit den etablierten Verfahren hTg und I-131-Ganzkörperszintigrafie ist in folgender Tabelle zusammengefasst:

Patientenanzahl	I-131-Ganzkörperszintigramm	hTg ng/ml (3 Methoden mit <5, <2, <1,5 ng/ml negativ)	Sep-Pak C18-Chromatografie und HPLC
5	-	-	-
10	+	+	+
3	+	-	+
2	-	+	-

Tab. 6: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Plasmachromatografie + HPLC nach Hays and McDougall. *Thyroid* 1994;4(2):195-198.

Die amerikanischen Autoren interpretierten ihre Ergebnisse dahingehend, dass für endogenes I-131-Thyroxin eine positive Serumchromatografie unabhängig von der I-131-Ganzkörperszintigrafie auf differenziertes Schilddrüsengewebe bzw. Tumorgewebe mit der Fähigkeit der Radioiodspeicherung hinweist. Das Verfahren kann daher insbesondere bei diskordanten Ergebnissen oder Zweifelsfällen hilfreich für die Therapieentscheidung sein, da eine effektive Radioiodtherapie radioiodspeicherndes Gewebe voraussetzt. In diesem Sinne wird die Diskrepanz zwischen einer negativen

Serumchromatografie und einem positiven hTg-Wert dahingehend bewertet, dass in dieser Kombination der positive hTg-Test auf schlecht(er) differenziertes Gewebe hinweist, das nur unzureichend in der Lage ist radioiodierte Schilddrüsenhormone zu synthetisieren. In diesem Falle müsse dann auch von einer schlechten therapeutischen Radioiodspeicherung ausgegangen werden, so dass primär alternative Therapieformen erwogen werden sollten. So wiesen in ihrem Patientenkollektiv beide Patienten mit negativem diagnostischen I-131-Ganzkörperszintigramm und negativer Serumchromatografie aber positiven hTg-Spiegeln schlecht differenzierte Schilddrüsenkarzinome ohne Radioiodspeicherfähigkeit auf. Zukünftig wird – aus Sicht dieser Autoren - ein Anwendungsfeld dieses Testes in der Nachsorge in Kombination mit rTSH und diagnostischer I-123-Applikation gesehen, wobei nur bei positivem Test eine Indikation für eine Ganzkörperszintigrafie vorliegen sollte.

Bei 35 Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom führten Lukinac et al. (25) eine auf der Methode von Bianchi et al. basierende sowohl hinsichtlich der Durchführung als auch der Interpretation positiver Chromatografiebefunde modifizierte Serumchromatografie durch. Bei 12 Patienten zeigte sich in der Gelchromatografie ein zusätzlicher Peak, dem in erster Linie aufgrund weiterer Untersuchungen (u.a. mit zusätzlicher Dünnschichtchromatografie) 3,3`-Diodthyronin, das durch Deiodierung von T3 und rT3 entsteht, entsprechen dürfte als Hinweis auf die Einhaltung normaler metabolischer Stoffwechselwege. 11 dieser Patienten wurden im Verlauf zweimal und 1 Patient 6-mal untersucht. Auch diese Autoren verglichen die Serumchromatografie mit der hTg-Bestimmung und dem diagnostischen I-131-Ganzkörperszintigramm wie in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

Patientenanzahl	I-131-Ganzkörperszintigramm	hTg (ng/ml) negativ, wenn <5 ng/ml	Sephadex G25- teilweise in Kombination mit Silica Gel60- Chromatografie
10	+	+	+
10	+	-	+
1	-	+	+
1	-	-	+
12	-	-	-
0	+	+	-
1	+	-	-
0	-	+	-

Tab. 7: Vergleich: I-131-Ganzkörperszintigrafie – hTg – Plasmagelchromatografie (Kombination zweier Methoden) nach Lukinac et al. *Thyroid* 1996;6(3):201-206.

Nach Meinung der Autoren sind ihre Ergebnisse mit den beiden vorgenannten Studien vergleichbar. So ist insbesondere in keiner dieser drei Studien die Kombination von positivem I-131-Ganzkörperszintigramm, positivem hTg-Spiegel und negativer Serumchromatografie beobachtet worden. Beim Vergleich der Laborparameter einschließlich der Chromatografie mit der klinischen Entwicklung sind eine Reduktion der hTg-Spiegel und der Radioaktivität in der für I-131-T3/T4 spezifischen Fraktion bereits 3-6 Monate vor der entsprechenden Entwicklung im Ganzkörperszintigramm feststellbar. Insgesamt handele es sich bei der Serumchromatografie um ein sinnvolles Zusatzverfahren im Nachsorgeprogramm bei Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom, das allerdings noch einer Weiterentwicklung bedarf.

Von oben genannten Autoren wird die Serumchromatografie zwar als einfaches, sensitives und reproduzierbares Verfahren zum Nachweis endogen radioiodierter Schilddrüsenhormone beschrieben. Dennoch bedarf sie eines technischen und personellen Aufwandes, von zusätzlichen Blutentnahmen beim Patienten abgesehen. Basierend auf der Annahme, dass auch bei kleinen Schilddrüsen- bzw. Tumorresten, Rezidiven oder Metastasen endogen radioiodierte Verbindungen nicht nur im Serum sondern auch im Urin erscheinen müssten, versuchten wir als neue Methode eine einfach durchführbare Chromatografie des Urins auf DC-Folien zu entwickeln.

Differenziert werden kann mit dieser Methode allerdings nur zwischen iodierten Aromaten (Fraktion A, zu denen die Schilddrüsenhormone gehören), Proteinen (Fraktion B) und der anorganischen polaren Iodspezies (Fraktion C).

Es stellten sich folgende Fragen:

- Welche Fraktion – A oder B – ist aussagekräftig?
- Welcher Untersuchungszeitpunkt nach I-131-Applikation ist am günstigsten ?
- Wo liegen die cut-off Werte zur Unterscheidung zwischen einer positiven und negativen Urinchromatografie?

Aufgrund der Komplexität erfolgte die Auswertung mittels ROC-Kurven. Trotz einer relativ großen Patientenzahl von 188 halten die ROC-Kurven (sowohl bezüglich der einzelnen Fraktionen A, B und C als auch der Untersuchungstage nach I-131-Applikation) einer strengen statistischen Überprüfung nicht stand, wie bereits visuell aus den Diagrammen (s. Abb. 7 – 10) zu erkennen ist. Auf die Angabe von Sensitivitäten und Spezifitäten wird daher verzichtet. Teilweise dürfte dies am Studienaufbau (Indikation für diagnostische I-131-Ganzkörperzintigrafie, ggf. Therapie) liegen, der dazu führt, dass die Anzahl „gesunder Patienten“ relativ gering ist. So hat auch ein Anheben des cut-off - Wertes für den Tumormarker hTg zu keiner wesentlichen positiven Änderung geführt. Visuell lassen sich aus den ROC-Kurven jedoch einige Tendenzen ableiten. So scheint zum Nachweis bzw. Ausschluss einer positiven Urinchromatografie die Fraktion A etwas besser geeignet zu sein als die Fraktion B, passend zu den Ergebnissen der Serumchromatografie, da es sich bei Fraktion A um iodierter Aromaten handelt. Auch scheint sich hinsichtlich des Untersuchungstages nach I-131-Applikation kein Vorteil eines späten Untersuchungszeitpunktes im Vergleich zu einem frühen zu zeigen. Demgegenüber wurde die Serumchromatografie bei allen 3 Autoren 72 h nach I-131-Applikation durchgeführt und explizit ein Einfluss des Untersuchungstages auf die Ergebnisse der Serumchromatografie nicht untersucht. Für einen klinischen Vergleich konnten aus den ROC-Kurven cut-off-Werte für die Fraktion A des 1. und 2. Tages und für die Fraktion B des 1. Tages ermittelt werden. In Übereinstimmung mit den aufgeführten Ergebnissen der Serumchromatografie lassen sich neben dis-/konkordanten Befunden auch für alle 3

oben genannten Fraktionen der Urinchromatografie Patienten mit negativem I-131-Ganzkörperszintigramm und hTg-Spiegel bei positiver Urinchromatografie finden. In diesem Fall muss in der Urinchromatografie – wie in der Serumchromatografie - von vorliegendem Schilddrüsengewebe bzw. differenziertem Schilddrüsentumorgewebe ausgegangen werden. Eine Korrelation zu bestimmten Tumorstadien, z.B. pT4-Stadien, lässt sich nicht feststellen. Insgesamt bedürfte diese Patientengruppe jedoch einer intensiven engmaschigen Nachsorge.

Verfasser	Patientenanzahl = 125	I-131-WBS	hTg (ng/ml) negativ, wenn <5 ng/ml	Sephadex G25 Chromatografie
Bianci	5	-	-	+
Verfasser	Patientenanzahl = 20	I-131-WBS	hTg ng/ml (3 Methoden mit <5, <2, <1,5 ng/ml negativ)	Sep-Pak C18-Chromatografie und HPLC
Hayes	0	-	-	+
Verfasser	Patientenanzahl = 35	I-131-WBS	hTg (ng/ml) negativ, wenn <5 ng/ml	Sephadex G25-teilweise in Kombination mit Silica Gel60-Chromatografie
Lucinac	1	-	-	+
Urinchromatografie				
Fraktion A	Patientenanzahl n = 151	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
1. Tag	10	-	-	+
1. Tag	7	+	-	-
1. Tag	56	+	+	-
1. Tag	25	-	+	-
Fraktion A	Patientenanzahl n=167	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
2. Tag	10	-	-	+
2. Tag	12	+	-	-
2. Tag	62	+	+	-
2. Tag	32	-	+	-
Fraktion B	Patientenanzahl n=151	I-131-WBS	hTg	Chromatografie
1. Tag	7	-	-	+
1. Tag	3	+	-	-
1. Tag	37	+	+	-
1. Tag	10	-	+	-

Tab. 7: Zusammenfassende Darstellung der Untersuchungsergebnisse hinsichtlich klinisch interessanter Befundkonstellationen aus der oben zitierten Literatur im Vergleich zur Urinchromatografie.

Wie in Tab. 7 zu erkennen ist, konnten in der Urinchromatografie leider die Ergebnisse der Serumchromatografie nicht erreicht werden. So findet sich im Gegensatz zur

Serumchromatografie in der Urinchromatografie auch die Kombination von positivem hTg und/oder positivem I-131-Ganzkörperszintigramm bei gleichzeitig negativer Urinchromatografie. Eine Verwendung der Urinchromatografie in der hier besprochenen Form kann derzeit auch unter Berücksichtigung der fehlenden statistischen Signifikanz nicht empfohlen werden. Hierzu ist eine Weiterentwicklung der Methode erforderlich zur Optimierung der Urinchromatografieergebnisse auch hinsichtlich der statistischen Überprüfbarkeit. Ein Schritt ist in der Verwendung des modifizierten - iodierten - Puffers zu sehen, wie den Befunden der kleinen Patienten- und Kontrollpersonengruppe, die mit diesem modifizierten Puffer chromatografiert wurden, zu entnehmen ist.

5. Zusammenfassung

Beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom ist in der Tumornachsorge neben den etablierten Verfahren - I-131-Ganzkörperszintigrafie und hTg-Bestimmung in Hypothyreose – aufgrund diskordanter oder teilweise negativer Ergebnisse ein weiteres diagnostisches Verfahren wünschenswert. In der Literatur wird zu diesem Zweck über die Serumchromatografie berichtet. Als breit durchgeführtes Routineverfahren hat sich dieser Test in der Tumornachsorge jedoch bislang nicht durchgesetzt.

Da dieses Verfahren eines zusätzlichen technischen und personellen Aufwandes bedarf, versuchten wir eine einfache Urinchromatografiemethode zu entwickeln. Den anhand von ROC-Kurven gewonnenen urinchromatografischen Ergebnissen liegt zwar keine statistische Signifikanz zugrunde. Zum einen möglicherweise bedingt durch den Studienaufbau (methodisch bedingt lediglich geringe Anzahl gesunder Patienten im Patientenkollektiv). Zum anderen wohl untersuchungstechnisch bedingt durch den verwendeten Phosphatpuffer, da eine Modifikation dieses Puffers in Form einer Iodierung (Beeinflussung des Redoxsystemes) bessere Ergebnisse erwarten lässt - wie den Befunden einer kleinen Patientenzahl und einer Kontrollgruppe zu entnehmen ist. Dennoch gibt die visuelle Auswertung der ROC-Kurven Hinweise darauf, dass zur Interpretation der urinchromatografischen Ergebnisse der Fraktion A im Vergleich zur Fraktion B der Vorzug gegeben werden sollte, passend zum serumchromatografischen Nachweis radioiodierter Schilddrüsenhormone. Hinsichtlich des Chromatografiezeitpunktes ist tendenziell die Bevorzugung eines späteren Untersuchungszeitpunktes nach Applikation von I-131 zur Ganzkörperszintigrafie nicht erkennbar, so dass der Befund bereits bei der I-131-Szintigrafie vorliegen könnte. Eine Abhängigkeit der serumchromatografischen Ergebnisse vom Untersuchungszeitpunkt ist allerdings explizit in der vorliegenden Literatur nicht untersucht worden.

Die vorgestellte Methode der Urinchromatografie konnte die ersten erfolgversprechenden Ergebnisse einer Vorstudie aus dem eigenen Hause auf statistisch signifikantem Niveau zwar nicht bestätigen. Die im Gegensatz zur Serumchromatografie einfach und schnell in jedem nuklearmedizinischen Labor durchzuführende Urinchromatografie wäre allerdings in strittigen Fällen als zusätzlicher Parameter in der Tumornachsorge des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms

wünschenswert, bedarf hierzu allerdings weiterer Untersuchungen zur Methodenoptimierung.

Anhang

WHO-Klassifikation der Schilddrüsenkarzinome (nach Hedinger 1988)

(Hedinger C. Histological typing of thyroid tumors. 2nd ed. WHO International Classification of Tumors. Springer, Berlin 1988.)

Karzinome des Follikel epithels und metaplastischen Epithels:

1. Follikuläre Karzinome (einschließlich der oxyphilen Variante)
 - minimal invasiv
 - grob invasiv
2. Papilläres Karzinom
 - papilläres Mikrokarzinom
 - gekapseltes papilläres Karzinom
 - follikulär gebaut (Lindsay-Tumor)
 - diffus sklerosierend (multizentrisch)
 - oxyphile Variante ohne Milchglaskerne
 - großzellige Variante
 - kolumnäre Variante
3. Gering differenziertes Karzinom (einschließlich insuläres Karzinom)
4. Anaplastisches Karzinom
5. Mukoepidermoides Karzinom
6. Plattenepithelkarzinom (einschließlich Karzinosarkom)
7. Muzinöses Karzinom

Karzinome mit C-Zelldifferenzierung:

1. Medulläres Karzinom

Karzinome mit Follikel epithel- und C-Zelldifferenzierung

1. Kollisionstumor: follikuläres/papilläres und medulläres Karzinom
2. Gemischtes follikulär differenziertes-medulläres Karzinom

pTNM-Klassifikation nach den Richtlinien der UICC

Der Einteilung in der vorliegenden Studie liegt die 4. Auflage der TNM-Einteilung von 1997 zugrunde.

T – Primärtumor

Tx Primärtumor kann nicht beurteilt werden

T0 Kein Anhalt für Primärtumor

T1 Tumor 1 cm oder weniger in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Schilddrüse

T2 Tumor mehr als 1 cm, aber nicht mehr als 4 cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Schilddrüse

T3 Tumor mehr als 4 cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Schilddrüse

T4 Tumor jeder Größe mit Ausbreitung jenseits der Schilddrüse

Anmerkung: Jede Kategorie kann weiter unterteilt werden in:

a solitärer Tumor

b multifokaler Tumor (der größte Tumor ist für die Klassifikation bestimmend)

N – Regionäre Lymphknoten

Nx Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden

N0 Kein Anhalt für regionäre Lymphknotenmetastasen

N1 Regionäre Lymphknotenmetastasen

N1a Metastasen in ipsilateralen Halslymphknoten

N1b Metastasen in bilateralen, in der Mittellinie gelegenen oder kontralateralen Halslymphknoten oder in mediastinalen Lymphknoten

M – Fernmetastasen

Mx Das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden.

M0 Keine Fernmetastasen

M1 Fernmetastasen

Literaturverzeichnis

- (1) Ain KB. Anaplastic thyroid carcinoma: behavior, biology and therapeutic approaches. *Thyroid* 1998;8:715-726.
- (2) Baverstock K, Egloff B, Pinchera A, Ruchti C, Williams D. Thyroid cancer after Chernobyl. *Nature* 1992;359:21-22.
- (3) Bianchi R, Iervasi G, Matteucci F, Turchi S, Cazzuola F, Bellina CR, Boni G, Molea N, Ferdeghini M, Toni MG, Mariani G. Chromatographic identification in serum of endogenously radioiodinated thyroid hormones after iodine-131 whole-body scintigraphy in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1993;34:2032-2037.
- (4) Busnardo B, De Vido D. The epidemiology and etiology of differentiated thyroid carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2000;54:322-326.
- (5) Cavalieri RR. Nuclear imaging in the management of thyroid carcinoma. A review. *Thyroid* 1996;6:485-492.
- (6) Centor RM. Signal detectability: The use of ROC curves and their analyses. *Med Decis Making* 1991;11(2):102-106.
- (7) Dietlein M, Dressler J, Farahati J, Leisner B, Moser E, Reiners C, Schicha H, Schober O. Leitlinie zur Radioiodtherapie (RIT) beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom. *Nuklearmedizin* 1999;38:221-222.
- (8) Dietlein M, Dressler K, Eschner W, Leisner B, Reiners C, Schicha H. Verfahrensweisung für die I-131-Ganzkörperszintigrafie beim differenzierten Schilddrüsenkarzinom. *Nuklearmedizin* 1999;38:213-214.
- (9) Duren M, Siperstein AE, Shen W, Duh QY, Morita E, Clark OH. Value of stimulated serum thyroglobulin levels for detecting persistent or recurrent differentiated thyroid cancer in high- and low-risk patients. *Surgery* 1999;126:13-19.
- (10) Farahati J, Reiners C. Besonderheiten des Schilddrüsenkarzinoms bei Kindern. *Der Nuklearmediziner* 1999;5:323-331.
- (11) Feldt-Rasmussen U. Iodine and cancer. *Thyroid* 2001;11:483-486.
- (12) Franceschi S, Boyle P, Maisonneuve P, La Vecchia C, Burt AD, Kerr DJ, MacFarlane GJ. The epidemiology of thyroid carcinoma. *Crit Rev in Oncogen* 1993;4:25-52.
- (13) Freedman LS. Evaluating and comparing imaging techniques: a review and classification of study designs. *Br J Radiol* 1987;60:1071-1081.

- (14) Galanti MR, Sparen P, Karlsson A, Grimelius L, Ekblom A. Is residence in areas of endemic goiter a risk factor for thyroid cancer. *Int J of Cancer* 1995;61:615-621.
- (15) Gerard SK, Cavalieri RR. I-123 diagnostic thyroid tumor whole-body scanning with imaging at 6, 24 and 48 hours. *Clin Nucl Med* 2002;27:1-8.
- (16) Hays MT, McDougall IR. Circulating 131-I-Thyroxine and thyroid cancer. *Thyroid* 1994;4(2):195-198.
- (17) Haugen BR, Pacini F, Reiners C, Schlumberger M, Ladenson PW, Sherman SI, Cooper DS, Graham KE, Braverman LE, Skarulis MC, Davies TF, DeGroot LJ, Mazzaferri EL, Daniels GH, Ross DS, Luster M, Samuels MH, Becker DV, Maxon III HR, Cavalieri RR, Spencer CA, McEllin K, Weintraub BD, Ridgway EC. A comparison of recombinant human thyrotropin and thyroid hormone withdrawal for the detection of thyroid remnant or cancer. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;84:3877-3885.
- (18) Hanley JA. Receiver operating characteristic (ROC) methodology: the state of the art. *Crit Rev Diagn Imaging* 1989;29(3):307-335.
- (19) Hölzer S. Zusammenfassender Bericht zur Studie zu Diagnostik, Therapie und Verlauf des Schilddrüsenkarzinoms. Patient Care Evaluation Study of Thyroid Cancer (PCES) Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Medizinische Informatik, 1999.
- (20) Hung W, Sarlis NJ. Current controversies in the management of pediatric patients with well-differentiated nonmedullary thyroid cancer: a review. *Thyroid* 2002;12:683-702.
- (21) Informationszentrum für Standards in der Onkologie. Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft und der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie – Maligne Schilddrüsentumoren. Kurzgefasste interdisziplinäre Leitlinien 2000, B2, 92ff.
- (22) Kalinyak JE. 123-I as a diagnostic tracer in the management of thyroid cancer. *Nucl Med Commun* 2002;23:509-511.
- (23) Ladenson PW. Strategies for thyrotropin use to monitor patients treated with thyroid carcinoma. *Thyroid* 1999;9:429-433.
- (24) Leger FA, Izembart M, Dagousset F, Barritault L, Baillet G, Chevalier A, Clerc J. Decreased uptake of therapeutic doses of iodine-131 after 185-MBq iodine-131 diagnostic imaging for thyroid remnants in differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 1998;25:242-246.
- (25) Lukinac L, Franceschi M, Nöthig-Hus D, Lechpammer S, Tomasic J, Vranesic B, Pape E, Kusic Z. Endogenously labeled thyroid hormones (131I-

- T3/T4) in sera of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid* 1996;6(3):201-206.
- (26) Mann K. Diagnostik und Therapie differenzierter Schilddrüsenkarzinome. *Internist* 2002;43:174-185.
- (27) Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med* 1994;97:418-428.
- (28) Mazzaferri EL. An overview of the management of papillary and follicular thyroid carcinoma. *Thyroid* 1999;9:421-427.
- (29) McNeil BJ, Hanley JA. Statistical approaches to the analysis of receiver operating characteristic (ROC) curves. *Med Decis Making* 1984;17:439-448.
- (30) Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Sem Nucl Med* 1978;8:283-298.
- (31) Metz CE. ROC methodology in radiological imaging. *Invest Radiol* 1986;21:720-733.
- (32) Morris LF, Waxman A, Braunstein GD. The nonimpact of thyroid stunning: Remnant ablation rates in ¹³¹I-scanned and non-scanned individuals. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001;86:3507-3511.
- (33) Morgenthaler NG, Froehlich J, Rendl J, Willnich M, Alonso C, Bergmann A, Reiners C. Technical evaluation of a new immunoradiometric and a new immunoluminometric assay for thyroglobulin. *Clin Chem* 2002;48:1077-1083.
- (34) Mulla ZD, Margo CE. Primary malignancies of the thyroid: epidemiological analysis of the Florida Cancer Data System registry. *Ann Epidemiol* 2000;10:24-30.
- (35) Nikiforov Y, Gnepp DR. Pediatric thyroid cancer after the Chernobyl Disaster, Pathomorphological Study of 84 Cases (1991-1992) from the Republic of Belarus. *Cancer* 74 (1994) 748-766.
- (36) Pacini F, Capezzone M, Elisei R, Ceccarelli C, Taddei D, Pinchera A. Diagnostic ¹³¹I-iodine whole-body scan may be avoided in thyroid cancer patients who have undetectable stimulated serum Tg levels after initial treatment. *J Clin Endocrinol Metabol* 2002;87:1499-1501.
- (37) Petrich T, Börner AR, Otto D, Hofmann M, Knapp WH. Influence of rhTSH on (¹⁸F)fluorodeoxyglucose uptake by differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 2002;29:641-647.

- (38) Pettersson B, Coleman MP, Ron E, Adami HO. Iodine supplementation in Sweden and regional trends in thyroid cancer incidence by histopathologic type. *Int J Cancer* 1996;65:13-19.
- (39) Reiners C, Biko J, Demidchik EP, Drozd V. Thyroid cancer after exposure to ionizing irradiation: histology, staging and clinical data. In: Peter F, Wiersinga W, Hostalek U eds. *The Thyroid and Environment*. Stuttgart, New York: Schattauer, 2000:193-204.
- (40) Reiners C, Farahati J. I-131 therapy of thyroid cancer patients. *Quart J Nucl Med* 1999;43:324-335.
- (41) Reiners C, Geling M. Epidemiologie des Schilddrüsenkarzinoms. In: Reiners C. *Diagnostik, Therapie und Nachsorge es Schilddrüsenkarzinoms*. Bremen: UNI-MED, 2003:14-15.
- (42) Reiners C, Luster M, Lassmann M. Clinical experience with recombinant human thyroid stimulating hormone (rhTSH): Whole body scanning with iodine-131. *J Endocrinol Invest* 1999;22(11Suppl):17-24. Review.
- (43) Rendl J, Bier D, Blasl C, Freystadt D, Biko J, Reiners C:
Chromatografischer Nachweis endogen radioiodierter Iodthyronine im Urin von Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom nach Iod-131 GK-Szintigrafie. *NuklearMedizin* 1996;35:P 3
- (44) Rendl J, Bier D, Blasl C, Freystadt D, Biko J, Reiners C:
Chromatographic identification of endogenously radioiodinated iodothyronines in urine after iodine-131 whole-body-scintigraphy (WBS) in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC). *J Nucl Med* 1997;38 Suppl.(7):1127
- (45) Ron E, Lublin JH, Shore RE, Mabuchi K, Modan B, Pottern LM, Schneider AB, Tucker MA, Boice JD. Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies. *Rad Research* 1995;141:259-277.
- (46) Rudavsky AZ, Freeman LM. Treatment of scan-negative, thyroglobulin-positive metastatic thyroid cancer using radioiodine 131-I and recombinant human thyroid stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metabol* 1997;82:11-14.
- (47) Sarkar SD, Kalappambath TP, Palestro CJ. Comparison of (123)I and (131)I for whole-body imaging in thyroid cancer. *J Nucl Med* 2002;43:632-634.

- (48) Schlumberger M, Challeton C, de Vathaire F, Travagli J-P, Gardet P, Lumbroso JD. Radioactive iodine treatment and external radiotherapy for lung and bone metastasis from thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1996;37:598-605.
- (49) Schlumberger M. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *New Engl J Med* 1998;338:297-306.
- (50) Schneider AB, Line BR, Goldmann JM, Robbins J. Sequential serum thyroglobulin determinations, I-131-scans and I-131-uptakes after triiodothyronine withdrawal in patients with thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53:199-206.
- (51) Schneider P. Radioiodbehandlung des Schilddrüsenkarzinoms. In: Reiners C. Diagnostik, Therapie und Nachsorge es Schilddrüsenkarzinoms. Bremen: UNI-MED, 2003:52-55.
- (52) Spencer CA, Lopresti JS, Fatemi S, Nicoloff JT. Detection of residual and recurrent thyroid carcinoma by serum thyroglobulin measurement. *Thyroid* 1999;9:435-441.
- (53) Swets JA, Pickett RM. Evaluation of diagnostic systems: Methods from signal detection theory. New York: Academic Press 1982.
- (54) Zöphel K, Wunderlich G, Liepach U, Koch R, Bredow J, Franke WG. Recovery test or immunoradiometric measurement of anti-thyroglobulin autoantibodies for interpretation of thyroglobulin determination in the follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *Nuklearmedizin* 2001;40:155-163.

Veröffentlichungen aus der Doktorarbeit

P 3 CHROMATOGRAPHISCHER NACHWEIS ENDOGEN RADIOIODIERTER IODTHYRONINE IM URIN VON PATIENTEN MIT DIFFERENZIERTEM SCHILDDRÜSEN-CARCINOM NACH IOD-131 GK-SZINTIGRAPHIE

J.Rendl, D.Bier, Chr.Biasl, D.Freystadt, J.Biko, Chr.Reiners
Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universität Würzburg

Der Follow-UP von Patienten mit differenziertem Schilddrüsen(SD)carcinom (DTC) wird konventionell mit I-131-Ganzkörper-szintigraphie (GKS) und Bestimmung des Serumthyreoglobulins(Tg) durchgeführt. Wegen der Inzidenz von 15%-20% diskordanter Resultate (1), etablierten wir eine sensitive und spezifische Methode für die Nachsorge solcher Patienten, basierend auf der Annahme, daß ein pathologischer I-131-Uptake, wenngleich zu niedrig, um im GKS zu erkennen, gleichwohl über endogen iodierte SD-Produkte (proteingebundene und freie Thyronine) im Urin nachgewiesen werden kann. Bis jetzt (work in progress) untersuchten wir 46 Pat. mit DTC, die nach erfolgter Operation im Rahmen der Primärtherapie oder zur Frage eines Tumorrezidivs 300MBq (median:2GBq) bis 7GBq I131 zur GKS erhielten. Drei Tage später wurden jeweils 2.5µl der Morgenurinproben auf eine RP-18-Dünnschichtfolie aufgetragen. Als Eluent diente isotonischer Phosphatpuffer. Nach erfolgter chromatographischer Trennung wurden 3 Fraktionen (anorganisches, protein- und thyroningebundenes Iod) im Bohrlochzähler gemessen. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Anzahl	I-131-GKS	Tg [ng/ml]	Chromatographie
3	negativ	<1	negativ
24	positiv	positiv	positiv
3	positiv	<1	positiv
6 (alle pT4)	negativ	<1	positiv
1	negativ	2	negativ
1	positiv	<1	negativ
5	negativ	positiv	positiv
2	positiv	positiv	negativ
1	positiv	Recovery negativ	positiv

Die Urinchromatographie stellt offensichtlich eine wertvolle, zusätzliche, äußerst sensitive Methode zum Nachweis von SD-Tumorge-webe dar.
(1) Bianchi et al. J Nucl Med 1993; 34: 2032-2037

RENDL J, BIER D, BLASL C, FREYSTADT D, BIKO J, REINERS C:
Chromatografischer Nachweis endogen radioiodierter Iodthyronine im Urin von
Patienten mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom nach Iod-131 GK-Szintigrafie.
NuklearMedizin 1996;35:P 3

No. 1127

CHROMATOGRAPHIC IDENTIFICATION OF ENDOGENOUSLY RADIOIODINATED IODOTHYRONINES IN URINE AFTER IODINE-131 WHOLE-BODY-SCINTIGRAPHY (WBS) IN THE FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH DIFFERENTIATED THYROID CARCINOMA (DTC).

J.Rendl, D. Bier, Chr. Blasl, D. Freystadt, Chr. Reiners. Clinic of Nuclearmedicine, University of Wuerzburg, Germany.

Patients with DTC are conventionally followed up with serial ^{131}I -WBS and serum thyroglobulin (hTg) measurements. Given the 15%-20% incidence of discordant results, we established a very simple method for additional monitoring of such patients, based on the assumption that ^{131}I uptake, though too low to be detected by ^{131}I -WBS, could be assayed in urine as endogenously labeled and excreted thyroid products (protein bound and free iodothyronines). So far(work in progress) we investigated 62 patients routinely monitored for tumor recurrence after complete primary treatment for DTC(surgery and total ^{131}I ablation). A 2.5 μl aliquot of a morning urine, taken 72hr after administering ^{131}I for WBS, was poured onto a thin layer chromatographic sheet (RP-18 F₂₅₄₅, Merck, FRG). Elution was performed using isotonic phosphate buffer. After chromatographic separation the radioactivity of 3 fractions (inorganic, protein bound and iodothyronine bound iodine) was measured in a well-type counter. The results are summarized in the following table:

n	^{131}I -WBS	hTg	Chromatography
34	+	+	+
12	-	-	-
7	-	+	+
6	+	-	+
1	+	bad recovery	+
3	-	-	+
6	+	+	-
2	+	-	-
1	-	+	-

(+ / - = positive/negative with respect to tumor detection)

The results demonstrate that this simple chromatographic method can be used in addition to conventional procedures in the follow-up of patients with DTC.

RENDL J, BIER D, BLASL C, FREYSTADT D, BIKO J, REINERS C:
Chromatographic identification of endogenously radioiodinated iodothyronines in urine after iodine-131 whole-body-scintigraphy (WBS) in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC). J Nucl Med 1997;38 Suppl.(7):1127

Abkürzungsverzeichnis

Bq	Becquerel
CI	Confidenceintervall (Vertrauensintervall)
CPM	counts per minute
CT	Computertomografie
E1A	Urinchromatografieergebnis für Fraktion A des 1. Tages
E2A	Urinchromatografieergebnis für Fraktion A des 2. Tages
E1B	Urinchromatografieergebnis für Fraktion B des 1. Tages
et al	und andere
f.W.	fehlender Wert
FT3	freies Triiodthyronin
FT4	freies Thyroxin
G	Giga
Gy	Gray
h	Stunde
hTg	humanes Thyreoglobulin
I-123	radioaktives Iod-123
I-131	radioaktives Iod-131
I-131-T3/T4	(endogen) radioiodiertes Triiodthyronin/Thyroxin
KD	Kilodalton
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KI	Kaliumiodid
m	milli
M	Mega
M	Molarität (molar)
Mio.	Million
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
ng	Nanogramm
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
ph-Wert	Protolysengleichgewicht im Wasser
ROC - curve	Receiver Operating Characteristic - Curve
r TSH	rekombinates TSH
SE	Standarderror
TNM-Klassifikation	T (Ausdehnung des Primärtumors), N (regionäre Lymphknotenmetastasen), M (Fernmetastasen)
TSH	Thyreoidea stimulierendes Hormon
U/l	Units (Einheiten) pro Liter
UICC	International Union against Cancer
Urin - DC	Urindünnschichtchromatografie

vs.	verus
WBS	wholebodyscintigraphie (Ganzkörperszintigrafie)
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Danksagung

Dem Referenten dieser Arbeit, Herrn Prof. Dr. med. Chr. Reiners, gebührt mein besonderer Dank für die Bereitschaft zur Übernahme dieser Arbeit und für die Unterstützung und Förderung bei ihrer Fertigstellung.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. E. Blind danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Ein herzlicher Dank geht an meinen Bruder, Herrn Matthias Blasl, für die Hilfestellung bei der Lösung computertechnischer Probleme. Im besonderen gedenke ich bei der Fertigstellung dieser Arbeit meines Vaters, Herrn Franz Blasl, der mich bis zu seinem plötzlichen Tode in computertechnischen Angelegenheiten unterstützte und dem ich diese Arbeit widmen möchte.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

geboren am 31. Dezember 1960 in Haßfurt, r.k.

ANSCHRIFTEN

Wohnsitz: Im Beckener 5, 76337 Waldbronn

DIENSTLICHE ANSCHRIFT

Radiologische Gemeinschaftspraxis Bruchsal
Styrumstr. 10, 76646 Bruchsal

DERZEITIGE TÄTIGKEIT

Fachärztin für Nuklearmedizin seit 4/1999,
derzeit Assistenzärztin in der diagnostischen Radiologie

BERUFSERFAHRUNG

7/90 - 1/92 Ärztin im Praktikum am Kreiskrankenhaus Hofheim,
Innere Medizin
3/92 – 9/92 Assistenzärztin in der Rhönklinik des
Rehabilitationszentrums Bad Kissingen der BfA
10/92 – 4/99 Assistenzärztin an der Klinik und Poliklinik für
Nuklearmedizin der Universität Würzburg

- 5/99 – 3/00 Assistenzärztin für diagnostische Radiologie, nach dem Tod des Chefarztes Prof. Grehn
kommissarische Leiterin der Nuklearmedizin
- 4/00 – 1/04 Assistenzärztin in der radiologischen Diagnostik und Fachärztin für Nuklearmedizin am Klinikum Bamberg
- 3/04 - 4/04 Weiterbildungsassistentin in der diagnostischen Radiologie im Radiologischen Zentrum Wiesloch
- seit 5/04 Weiterbildungsassistentin in der radiologischen Gemeinschaftspraxis in Bruchsal

SCHULAUSSBILDUNG

- 9/67 – 8/71 Grundschule Zeil a. Main – Sand a. Main
- 9/71 – 6/80 Regiomontanus-Gymnasium Haßfurt
- 6/80 Abitur

STUDIUM

- 10/80 – 9/83 Studium der Rechtswissenschaften in Würzburg
- 10/83 – 5/90 Studium der Humanmedizin in Würzburg
- 8/85 Ärztliche Vorprüfung
- 8/86 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 3/89 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 5/90 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

FAMULATUREN

- 3/86 – 4/86 Chirurgie (Kreis Krankenhaus Haßfurt)
- 9/86 – 10/86 Innere Medizin (Kreis Krankenhaus Hofheim)
- 9/87 – 10/87 Praktischer Arzt (Dr. Rehling, Sand)

PRAKTISCHES JAHR

4/89 – 3/90 Kinderheilkunde (Universitätsklinik Würzburg)
Chirurgie (Lehrkrankenhaus Schweinfurt)
Innere Medizin (Lehrkrankenhaus Schweinfurt)

Christiana R.