

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. S. Frantz**

**Die Biomaterialbank des
Kompetenznetz Herzinsuffizienz –
Eine Qualitätskontrolle**

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

vorgelegt von

**Jonas Andres Müntze
aus Würzburg**

Würzburg, Mai 2018



Referent: Prof. Dr. med. Stefan Störk, PhD

Korreferent/Korreferentin: Prof. Dr. Dr. Götz Gelbrich

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 13. März 2019

Der Promovend ist Arzt.

Meiner Familie
Meinen Freunden
A Firenze

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Stand der Wissenschaft	1
2.1	Definition und Epidemiologie der Herzinsuffizienz	1
2.2	Terminologie und Einteilung der Herzinsuffizienz	2
2.2.1	Herzinsuffizienz mit erhaltener, mittelgradig erhaltener und reduzierter EF	2
2.2.2	Einteilung nach der NYHA-Klassifikation	3
2.3	Ätiologie und Prognose der Herzinsuffizienz	4
2.4	Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz (KNHI)	5
2.4.1	Aufbau	5
2.4.2	Technische und Datenschutzkonzepte zur Akquise von Daten und Biomaterialien	9
2.5	Biomarker	10
2.5.1	Natrium und Kalium	11
2.5.2	Harnstoff und Kreatinin	11
2.5.3	Aspartat-Aminotransferase (ASAT) und Alanin-Aminotransferase (ALAT)	12
2.5.4	Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT)	12
2.5.5	Harnsäure	12
2.5.6	Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR)	13
2.5.7	Triglyzeride und Gesamtcholesterin	13
2.5.8	High Density Lipoprotein (HDL-Cholesterin) und Low Density Lipoprotein (LDL-Cholesterin)	14
2.5.9	Albumin	15
2.5.10	High-Sensitivity C-reactive Protein (hsCRP)	15
2.5.11	NT-proBNP	16
3	Material und Methoden	18
3.1	Relevante Studien	18
3.1.1	INH-Studie	18
3.1.2	Diast-CHF-Studie	18
3.2	Biomaterial	18
3.3	Messung	20

3.3.1	Basismessung	20
3.3.2	Nachmessung	20
3.3.3	Parameter	21
3.3.4	Proben und Probenpaare	23
3.4	Biometrische Auswertestrategie	28
3.4.1	Graphische Darstellung und Bestimmtheitsmaß	30
3.4.2	Bland-Altman-Analyse	30
3.4.3	Einfluss- und Störgrößen der Messungen	31
3.5	Datenschutzkonzept	32
3.6	Ziele und Hypothesen	32
4	Ergebnisse	34
4.1	Scatterplots mit Korrelation	34
4.2	Bland-Altman-Analysen	37
4.3	Einflussfaktoren	47
5	Diskussion	53
5.1	Ergebnisdiskussion	53
5.1.1	Scatterplots mit Korrelation	53
5.1.2	Bland-Altman-Analysen	53
5.1.3	Einflüsse der Confounder	54
5.2	Beurteilung der Ergebnisse	55
5.3	Limitationen der Ergebnisse	58
5.4	Klinische Relevanz der Abweichungen	59
5.5	Ausblick: Mögliche Verbesserungen der Probenqualität?	61
6	Zusammenfassung	63
7	Verzeichnisse	65
7.1	Literaturverzeichnis	65

Danksagung

Lebenslauf

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz, modifiziert nach [22]	6
Abb. 2:	Projekte des KNHI, modifiziert nach [23]	6
Abb. 3:	Übersicht über das Kompetenznetz Herzinsuffizienz, modifiziert nach [21]	8
Abb. 4:	Formel zur Berechnung der eGFR, nach [11].....	13
Abb. 5:	Spaltung von Pro-BNP in NT-proBNP und BNP, modifiziert nach [53]	17
Abb. 6:	Lagerung des Biomaterials.....	20
Abb. 7:	Scatterplot von NT-proBNP als Beispielgrafik.....	34
Abb. 8:	Bland-Altman-Plot als Beispiel für eine Darstellung mit absoluten Werten	37
Abb. 9:	Bland-Altman-Plot als Beispiel für eine Darstellung mit logarithmierten Werten	38

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Definition der Herzinsuffizienz nach der Ejektionsfraktion, modifiziert nach [7]	3
Tab. 2:	NYHA – Klassifikation, modifiziert nach [13, 14]	3
Tab. 3:	Marker für eine Prognoseverschlechterung bei Herzinsuffizienz,	
	modifiziert nach [7]	5
Tab. 4:	Harmonisierte Datenerfassung aller Patienten, die in KNHI-Studien	
	aufgenommen wurden [23]	8
Tab. 5:	Referenzwerte Triglyzeride und Gesamtcholesterin, modifiziert nach [39]	14
Tab. 6:	Referenzwerte HDL und LDL, modifiziert nach [39].....	15
Tab. 7:	Im Biomaterial gemessene Parameter	22
Tab. 8:	Proben und Probenpaare im Serum.....	24
Tab. 9:	Proben und Probenpaare im Plasma.....	25
Tab. 10:	Proben und Probenpaare im Serum lokal	26
Tab. 11:	Proben und Probenpaare im Plasma lokal	27
Tab. 12:	Einflussfaktoren.....	29
Tab. 13:	Assoziation zwischen Basis- und Nachmessung (Bestimmtheitsmaß R^2)	35
Tab. 14:	Assoziation zwischen Basis- und Nachmessung der lokal bestimmten Proben.....	
	(Bestimmtheitsmaß R^2)	36
Tab. 15:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum (nicht logarithmiert)	39
Tab. 16:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum (logarithmiert)	40
Tab. 17:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma (nicht logarithmiert)	41
Tab. 18:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma (logarithmiert)	42

Tab. 19:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum lokal (nicht logarithmiert)	43
Tab. 20:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum lokal (logarithmiert)	44
Tab. 21:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma lokal (nicht logarithmiert)	45
Tab. 22:	Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma lokal (logarithmiert)	46
Tab. 23:	Hämolyse und Lipämie in den untersuchten Proben	47
Tab. 24:	Analyse der Confounder Lagerzeit und Traveltime	47
Tab. 25:	Einfluss der Confounder im Serum	49
Tab. 26:	Einfluss der Confounder im Plasma	50
Tab. 27:	Einfluss der Confounder im Serum lokal	51
Tab. 28:	Einfluss der Confounder im Plasma lokal	52

1 Einleitung

Zur systematischen, reliablen Untersuchung des Syndroms Herzinsuffizienz werden häufig Biomaterialien, i.d.R. Blutproben, in großer Zahl benötigt.[1] Essenziell für die Qualität dieser Blutproben ist eine effektive Lagerung, um ggf. auch noch nach Jahren verlässliche Bestimmungen vornehmen zu können. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Stabilität von 16 a priori selektierten Laborparametern, die in Studien des „Kompetenznetz Herzinsuffizienz Deutschland“ an Kollektiven von Patienten mit bekannter Herzinsuffizienz mehrfach untersucht wurden.

Im Mittelpunkt stand dabei die Frage, wie stabil sich diese Parameter bei einer konstanten Temperatur von -80°C verhalten, um eine Aussage treffen zu können, ob mit dieser Lagerungsmethode auch nach einem längeren Zeitraum von 6–10 Jahren reliabel verwertbare Ergebnisse zu erzielen sind. Zum anderen sollten systematische Abweichungen herausgearbeitet werden, die sich u.a. daraus ergeben könnten, dass ein Teil der Blutproben vor der endgültigen Lagerung postalisch verschickt wurde.

2 Stand der Wissenschaft

Bisher wurden weltweit nur wenige Erkenntnisse über die spezielle Lagerung von Blut oder Blutbestandteilen wie Serum oder EDTA-Plasma bei -80°C gewonnen. Diese Untersuchungen bezogen sich zum Beispiel auf Erythrozyten [2], HbA_{1c} [3], die Proteine „B-type natriuretic peptide“ (BNP) [4] und „high sensitivity C-reactive Protein“ (hs-CRP) [5] sowie die Lipoproteine HDL und Lipoprotein A.[6]

2.1 Definition und Epidemiologie der Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz ist definiert als ein Syndrom, dessen Symptomkomplex Beschwerden wie Dyspnoe, Müdigkeit/Abgeschlagenheit sowie körperliche aber auch emotionale und kognitive Leistungsschwäche umfasst. Charakteristische klinische Zeichen sind Stauung der Halsvenen und periphere bzw. zentrale Wassereinlagerung (Ödembildung). Auslöser

der Herzinsuffizienz sind diverse strukturelle und/oder funktionelle kardiale Pathologien, die gemeinsam zu einer Verminderung des Herzzeitvolumens führen.[7] Die Prävalenz der Herzinsuffizienz beträgt in Deutschland derzeit 3,9% in der erwachsenen Bevölkerung [8], die Inzidenz liegt dabei bei 5–10 pro 1000 Personen in der erwachsenen Population der westlichen Welt.[7, 9] Höheres Lebensalter ist ein wichtiger Risikofaktor, knapp ein Drittel der 55-Jährigen erkrankt in seinem restlichen Leben an einer Herzinsuffizienz.[10] In Deutschland liegt das mittlere Alter der an Herzinsuffizienz Erkrankten bei ca. 75 Jahren. Männer sind im Allgemeinen häufiger betroffen [11], bei diesem Geschlecht findet sich auch in vielen Fällen eine chronische Herzinsuffizienz mit reduzierter systolischer Auswurfleistung, eine chronische Herzinsuffizienz mit erhaltener systolischer Funktion betrifft häufig ältere Frauen.[12]

2.2 Terminologie und Einteilung der Herzinsuffizienz

Am gebräuchlichsten ist heutzutage die Einteilung nach der Pathophysiologie und der klinischen Symptomatik. Demnach lässt sich die Herzinsuffizienz in eine systolische (Kontraktionsstörung des Ventrikelmyokards) und eine nicht-systolische (verminderte Dehnbarkeit des Ventrikels, Restriktion) Funktionsstörung einteilen. Am gebräuchlichsten für die symptomatische Einteilung ist die NYHA-Klassifikation (siehe 2.2.2).[11]

2.2.1 Herzinsuffizienz mit erhaltener, mittelgradig erhaltener und reduzierter EF

Gemäß der neuen Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) lassen sich anhand der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) drei Varianten der Herzinsuffizienz unterscheiden: „Herzinsuffizienz mit reduzierter LVEF“ (HFrEF; LVEF <40%), „Herzinsuffizienz mit erhaltener LVEF“ (HFpEF; LVEF >50%), sowie die Gruppe der Patienten, die sich in keiner der vorgenannten Gruppen finden und eine „Herzinsuffizienz mit mittelgradig erhaltener LVEF“ (HFmrEF; LVEF 40-50%) aufweisen.[7]

Tab. 1: Definition der Herzinsuffizienz nach der Ejektionsfraktion, modifiziert nach [7]

Typ der Herzinsuffizienz	HFrEF		HFmrEF	HFpEF
Kriterien	1	Typische Symptome	Typische Symptome	Typische Symptome
	2	LVEF < 40%	LVEF 40-49%	LVEF ≥ 50%
	3	–	<ol style="list-style-type: none"> 1. Erhöhte natriuretische Peptide (NT-proBNP > 125 pg/mL) 2. Mindestens ein zusätzliches Kriterium: <ol style="list-style-type: none"> a. Strukturelle Herzerkrankung b. Diastolische Dysfunktion 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Erhöhte natriuretische Peptide (NT-proBNP > 125 pg/mL) 2. Mindestens ein zusätzliches Kriterium: <ol style="list-style-type: none"> a. Strukturelle Herzerkrankung b. Diastolische Dysfunktion

2.2.2 Einteilung nach der NYHA-Klassifikation

Nach der New York Heart Association kann die Herzinsuffizienz nach subjektiven Beschwerden in vier Stufen eingeteilt werden (Tab. 2).

Tab. 2: NYHA – Klassifikation, modifiziert nach [13, 14]

NYHA–Stadium	Subjektive Beschwerden
I	Herzerkrankung ohne körperliche Limitation. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
II	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
III	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit bei gewohnter Tätigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
IV	Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe.

2.3 Ätiologie und Prognose der Herzinsuffizienz

Bezüglich der Ätiologie gibt es kein einheitliches Klassifikationssystem, das allgemein anerkannt ist. Die Krankheit Herzinsuffizienz kann durch sehr verschiedene Faktoren/Noxen verursacht sein, die auch kombiniert auftreten können. Die häufigsten Ursachen sind die Koronare Herzerkrankung, Pathologien des Myokards, Druck- oder Volumenbelastung der Ventrikel sowie Herzrhythmusstörungen.[7]

Die Prognose der Herzinsuffizienz ist weiterhin ungünstig: Nach wie vor liegt die 5-Jahres-Überlebensrate von Patienten mit NYHA III oder IV deutlich unter 50%.[15] In den vergangenen Jahren wurden Systeme zur Prognose- und Risikoabschätzung dieser Patienten vorgeschlagen, die jedoch nur in kleinem Umfang im klinischen Alltag Anwendung finden.[7, 16-20]

Ferner wurden verschiedene Marker etabliert (vgl. Tab. 3), die prognostische Vorhersagekraft besitzen, ohne dass sie jedoch systematisch zur exakten Risikostratifizierung und ggf. Therapiesteuerung herangezogen werden.[7]

Tab. 3: Marker für eine Prognoseverschlechterung bei Herzinsuffizienz, modifiziert nach [7]

Demografische Daten	Höheres Alter, männliches Geschlecht, niedriger sozioökonomischer Status
Schwere der Herzinsuffizienz	Höhere NYHA-Klasse, längeres Bestehen der Herzinsuffizienz, geringere Muskelmasse
Klinische Parameter	Hohe Herzfrequenz in Ruhe, Hypotonie, Volumenbelastung, Gebrechlichkeit
Kardiale Pathologien	Niedrige Ejektionsfraktion, ventrikuläre Dilatation, Aortenstenose, pulmonale Hypertonie, Hypo-/Akinesien
Biomarker	Hyponatriämie, NT-proBNP ↑, Aldosteron ↑, Katecholamine ↑, hsCRP ↑, Kardiale Stressmarker wie z.B. Troponine ↑
Komorbiditäten	Arrhythmien, Koronare Herzerkrankung, pAVK, Diabetes mellitus, Chronisch obstruktive Lungenerkrankung, Chronisches Nierenversagen, Depression

2.4 Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz (KNHI)

2.4.1 Aufbau

Führende Wissenschaftler auf dem Gebiet der Herzinsuffizienz aus 30 Universitätskliniken, 5 Forschungsinstituten, 7 Herzzentren, 17 Herz-Kreislauf-Kliniken, über 200 Arztpraxen, 4 Rehakliniken sowie viele Organisationen und Verbände haben sich im Jahre 2004 zum Kompetenznetz Herzinsuffizienz Deutschland (KNHI) zusammengeschlossen.[21] Das KNHI wurde 10 Jahre vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert. Diese Förderung umfasste sowohl Struktur-, wie auch Projektförderung.

2 Stand der Wissenschaft
2.4 Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz (KNHI)

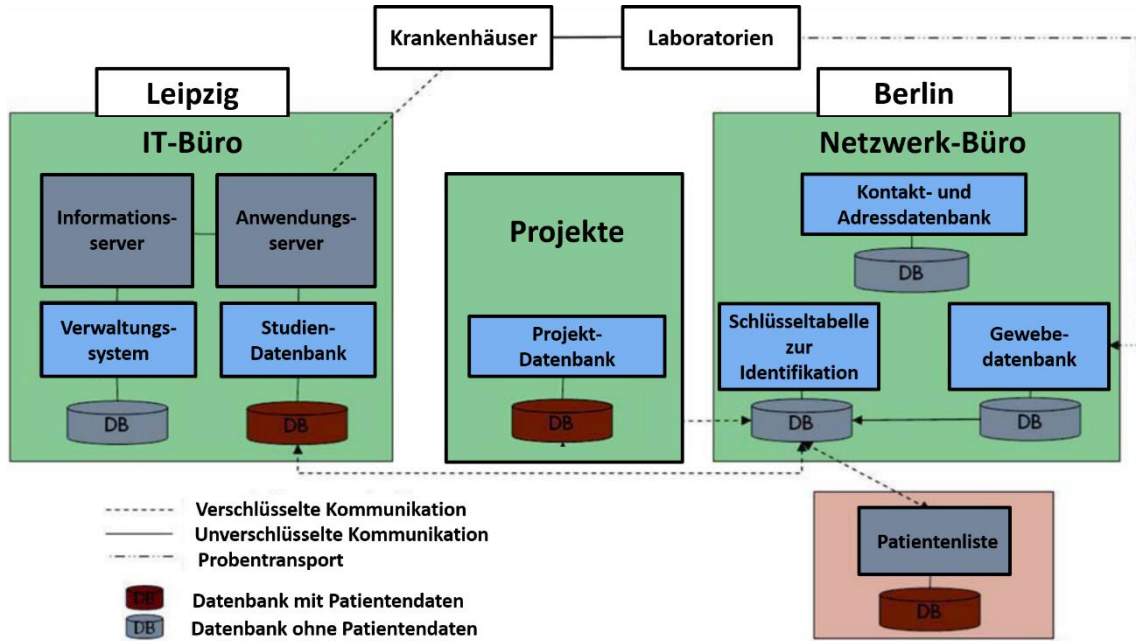


Abb. 1: Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz, modifiziert nach [22]

Kompetenznetzwerk Herzinsuffizienz

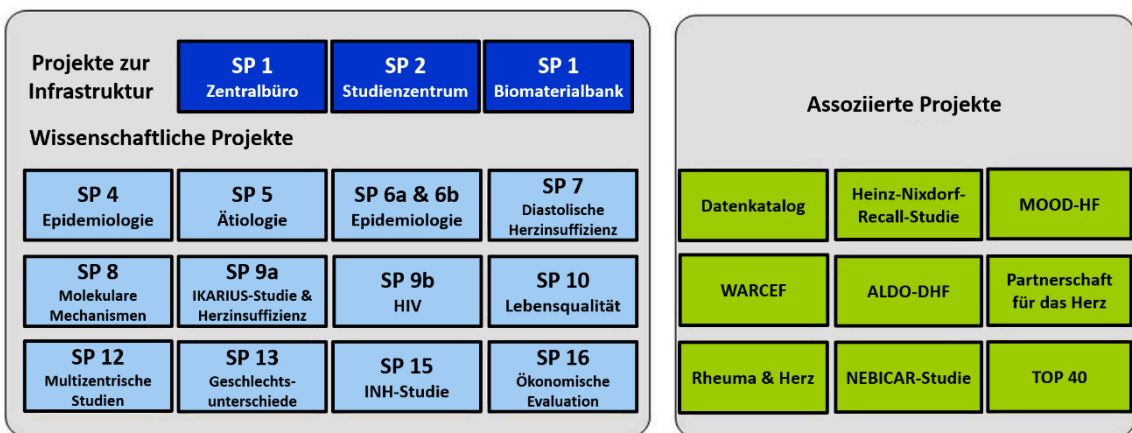


Abb. 2: Projekte des KNHI, modifiziert nach [23]

Die drei infrastrukturellen Teilprojekte umfassten

- die Geschäftsstelle (vormals Berlin, derzeit Würzburg); Schwerpunkte sind Öffentlichkeitsarbeit sowie interne und externe Kommunikation zwischen den Wissenschaftlern und den Projektpartnern,
- das „Zentrum für Studienakquise, Statistik und Biometrie; hier werden die klinischen Studien auf einer zentralen Plattform administriert und qualitätskontrolliert; ein netzwerkweites internes Datenmanagement wurde implementiert und 16 Kategorien mit klinischen Parametern (sog. Basisdatensatz) gebildet, die von jedem eingeschlossenen Patienten erhoben werden (Tab. 4),
- die zentrale Biomaterialbank (BMB) in Berlin (derzeit unter Leitung von Prof. Dr. Michael Hummel), die zur Langzeit-Einlagerung der KNHI-Bioproben dient: im Jahr 2009 beinhaltete die Biomaterialbank bereits eine Anzahl von circa 100.000 Serum-, Plasma- und DNA-Proben von mehr als 12.000 Patienten. An einigen KNHI-Standorten (insbesondere Würzburg und Göttingen) wurde gleichfalls Biomaterial eingelagert, um entweder zusätzliches Material für Zusatzanalysen lokal vorzuhalten, oder auch die Qualitätskontrolle zu unterstützen. Alle Proben, die noch in Berlin lagern, werden dann als Spezialtransport unter konstant gehaltener Temperatur nach Würzburg transferiert und dort systematisch eingelagert.[23]

2 Stand der Wissenschaft

2.4 Das Kompetenznetz Herzinsuffizienz (KNHI)



Abb. 3: Übersicht über das Kompetenznetz Herzinsuffizienz, modifiziert nach [21]

Tab. 4: Harmonisierte Datenerfassung aller Patienten, die in KNHI-Studien aufgenommen wurden [23]

Kategorien	Anzahl Item pro Kategorie
Sozial-demographische Daten	6
Körperliche Untersuchung	4
Framingham-Kriterien der Herzinsuffizienz	5
Klassifizierung der Herzinsuffizienz	17
Risikofaktoren	7
Kardiale Diagnostik	14
Ätiologie	7
Kardiovaskuläre Interventionen	9
Begleiterkrankungen	10
Medikation	24
Laborwerte	6
Elektrokardiogramm	11
Echokardiographie	16
Koronarangiographie	9
Lebensqualität	36
Depression	9

2.4.2 Technische und Datenschutzkonzepte zur Akquise von Daten und Biomaterialien

Ein wesentliches Ziel der klinischen Studien im KNHI ist die Akquise von Biomaterial. Der Prozess der Daten- und Biomaterialakquise folgt im KNHI einem streng reglementierten Prozess („Standard Operation Procedures“, SOPs). Für jede klinische Studie muss vor Studienbeginn ein Ethikvotum eingeholt werden und, falls erforderlich, zusätzlich eine Datenschutzerklärung. Es werden ausschließlich volljährige Patienten eingeschlossen. Die Ein- und Ausschlusskriterien sind in der jeweiligen Studie definiert. Der Patient muss die schriftliche Zustimmung zur Datenakquise vor Studienbeginn gegeben haben.

Die Zustimmung zur Archivierung der Bioproben in der BMB erfolgt separat. Unmittelbar nach Entnahme wird die Bioprobe pseudonymisiert. Die Klartextnamen liegen nur dem entnehmenden Studienzentrum vor. Diese Einwilligung kann jederzeit widerrufen werden. Die Erfassung der Daten selbst erfolgt in einer Oracle-Datenbank über ein webbasiertes Formular auf Basis von Oracle Formatvorlagen. Die Datenbank der BMB wird regelmäßig mit den Daten der Kenndatenliste abgeglichen, um eine zeitnahe Information über den Bestand der BMB zu haben. Mittels grafischer Reports kann jederzeit eine Aussage über den aktuellen Bestand in der BMB erfolgen. Die BMB-Datenbank ist vollständig in das Datensicherheitskonzept des KNHI integriert.

In der Datenbank der BMB werden ausschließlich probenbezogene Daten (Qualität, Datum, Versender etc.) erfasst. Die jeweilige Probe ist mit einer weiteren Identifikationsnummer (ID) pseudonymisiert und unter dieser gespeichert. Eine Verbindung mit klinischen bzw. personenbezogenen Daten ist in der BMB nicht möglich. Die klinischen Daten des Patienten werden ausschließlich im Rahmen der Studien und Projekte gesammelt und in den entsprechenden Studien- bzw. Projektdatenbanken erfasst, eine Zuordnung zum Biomaterial ist lediglich über die in der Kenndatenliste des KNHI gespeicherten Daten möglich. Dies kann nur von autorisierten Personen in der räumlich und logistisch getrennten Netzwerk-Zentrale erfolgen.[24]

Die über Deutschland verteilten Studienzentren verwenden eine standardisierte Einwilligungserklärung und ein standardisiertes Set zur Blutabnahme, bei dem zwei EDTA-Monovetten (9 ml) und eine Serum Monovette (9 ml) gefüllt werden. Die

Abnahme erfolgt im Rahmen der ersten Blutabnahme, die ohnehin für die klinische Studie notwendig ist. Aus den eingesandten Monovetten werden im Durchschnitt 4 x 1,5 ml Plasma, 2 x 1,5 ml Serum, 1 ml Restblut und 1 ml DNA (ca. 0,5-0,7 mg) pro Patient gewonnen und eingelagert. Die Lagerung von Serum und Plasma erfolgt dann in Gefriertruhen bei -80°C (siehe auch Kap. 2.3), während DNA und Restblut bei -20°C eingelagert werden. Die Gefrierschränke stehen in einem abgesicherten temperierten Raum, zu dem nur autorisierte Personen Zugang haben.[22-25]

2.5 Biomarker

Die 16 Biomarker, deren Stabilität analysiert wurde, lassen sich in 11 Subgruppen unterteilen. Alle 16 Werte sind wichtige Bestandteile einer umfassenden Charakterisierung von Patienten mit Herzinsuffizienz, um klinische Aussagen über verschiedene Pathologien, diagnostische Entitäten und Prognose zu treffen.

Die Konzentrationen der Elektrolyte **Natrium** und **Kalium** sind unverzichtbar, um einen Erklärungsansatz für eventuell vorliegende Rhythmusstörungen zu erbringen. Bei zu hohen oder zu niedrigen Werten verändert sich als Folge die Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels. Natrium ist darüber hinaus ein wichtiger Prognosemarker.[26, 27]

Harnstoff und **Kreatinin** bieten zusammen mit der errechneten glomerulären Filtrationsrate eine Abschätzung der Nierenfunktion; eine schlechte Nierenfunktion korreliert hierbei stark mit der Mortalität bei fortgeschrittener chronischer Herzinsuffizienz.[28] Die Leberparameter **AST**, **ALT** und **GGT** sowie das Plasmaprotein **Albumin** sind ebenso mit der chronischen Herzinsuffizienz verknüpft. GGT ist hierbei mit der kardiovaskulären Mortalität, eine Hypalbuminämie mit einer höheren 1-Jahres-Mortalität bei akuter Herzinsuffizienz assoziiert.[29-31]

Erhöhte **Harnsäurespiegel** sind ebenfalls unabhängige Prädiktoren für erhöhte Morbidität und Mortalität bei chronischer Herzinsuffizienz.[32, 33] Die Lipoproteine **HDL** und **LDL**, das **Gesamtcholesterin** und die **Triglyzeride** im Serum spielen nach wie vor eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Koronarer Herzkrankheit, die wiederum die häufigste Ursache einer Herzinsuffizienz darstellt.[34, 35] Bezüglich der chronischen Herzinsuffizienz herrscht momentan noch kein einheitlicher Konsens, was es umso

wichtiger erscheinen lässt, diese Parameter mit in die Qualitätskontrolle aufzunehmen.[36, 37] Die beiden Proteine **high-sensitivity C-reactive Protein** (hsCRP) und **NT-proBNP** sind bei der Diagnose, Verlaufskontrolle und prognostischer Bewertung der Herzinsuffizienz unverzichtbar[15, 38] und spielen deswegen eine sehr große Rolle in dieser Qualitätsanalyse. Zusätzlich spiegeln alle diese Biomarker die Bandbreite der klinischen Chemie wider: Es finden sich sowohl reine Ionen (Na, K), kleine Moleküle (z. B. Harnstoff, Harnsäure), Enzyme (z. B. AST, ALT, GGT) und Proteine (z. B. NT-proBNP). Nachfolgend werden die Analyte kurz im klinisch-diagnostischen Kontext vorgestellt.

2.5.1 Natrium und Kalium

Natrium ist als Elektrolyt entscheidend für die Osmolarität der extrazellulären Flüssigkeit. Verschiebungen im Gleichgewicht zwischen Extra- und Intrazellulärraum führen zu schwerwiegenden Veränderungen im Organismus. Kalium spielt als Elektrolyt im intrazellulären Raum die entscheidende Rolle für eine Aufrechterhaltung der membranösen Spannungspotentiale und des osmotischen Drucks. Die Bestimmung im Zentrallabor erfolgt üblicherweise mittels Flammenphotometrie oder der ionenselektiven Elektrode.[39] Der Referenzbereich für Natrium im Serum liegt zwischen 135 und 145 mmol/L, und für Kalium bei 3,5 – 5,0 mmol/L.[40] Bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz können die Konzentrationen der Elektrolyte in den Erythrozyten verändert sein.[41, 42]

2.5.2 Harnstoff und Kreatinin

Harnstoff wird im sogenannten Harnstoffzyklus als Endprodukt gebildet, um die Ammoniumkonzentration in den Körperflüssigkeiten niedrig zu halten. Kreatinin als zweiter Parameter für die Nierenfunktion ist das Abbauprodukt von Phosphokreatin aus der Muskelzelle. Beide werden über die Nieren ausgeschieden.[43] Die labortechnische Bestimmung von Harnstoff erfolgt entweder vollenzymatisch mit Messung des NADPH-Verbrauchs oder mit der Berthelot-Reaktion, bei der Ammoniak zu einem blauen Farbstoff umgesetzt wird. Kreatinin wird mit der sogenannten Jaffé-Reaktion im Serum

oder Plasma bestimmt, bei der es ebenfalls zu einem Farbumschlag kommt. Bei Erwachsenen kann die Harnstoffkonzentration zwischen 12 und 48 mg/dL schwanken, der Referenzbereich für Kreatinin liegt zwischen 0,66 und 1,25 mg/dL.[39]

2.5.3 Aspartat-Aminotransferase (ASAT) und Alanin-Aminotransferase (ALAT)

Die ASAT, auch Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) genannt, bildet zusammen mit der ALAT, auch als Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) bezeichnet, die Gruppe der Transaminasen. Beide Enzyme sind am Abbau von Aminosäuren beteiligt und finden sich in unterschiedlicher Konzentration in Leber- und Muskelzellen. Im Serum oder Plasma wird der NADH-Verbrauch bei der Enzymreaktion photometrisch gemessen, physiologisch sind Werte < 59 U/L bzw. < 50 U/L bei Männern und Werte < 35 U/L bei Frauen.[39]

2.5.4 Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT)

Das Glykoprotein GGT beteiligt sich wahrscheinlich am Aminosäuretransport in die Zelle hinein. Die Messung der Enzymaktivität erfolgt laborchemisch durch photometrische Bestimmung der p-Nitranilin-Zunahme, physiologisch sind Werte von < 60 U/L (Männer) bzw. < 40 U/L (Frauen).[39]

2.5.5 Harnsäure

Harnsäure ist ein Produkt, das beim Abbau der Purinbasen Adenin und Guanin entsteht. Die Bestimmung erfolgt entweder durch eine photometrische Messung der NADPH-Bildung nach vorangegangener Reaktion mit Aldehyddehydrogenase oder durch Messung der Farbbildung von dabei entstehendem Wasserstoffperoxid, das bei vorherigen enzymatischen Reaktionen entsteht. Der Referenzbereich für Harnsäure liegt bei 3,5–7,0 mg/dL für Männer und bei 2,5–5,9 mg/dL für Frauen.[39]

2.5.6 Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR)

Die eGFR (e = estimated) ist eine Abschätzung der Nierenfunktion, vor allem bei einer Filtrationsrate von <60 ml/min/1,73 qm.

$$\text{Serumkreatinin}^{-1,154} * \text{Alter}^{-0,203} * \text{Faktor}$$

Abb. 4: Formel zur Berechnung der eGFR, nach [11]

Der in der Formel genannte Faktor beträgt 186 bei der Einheit (mg/dL). Bei Frauen muss das Ergebnis mit 0,742 multipliziert werden, bei Menschen mit schwarzer Hautfarbe zusätzlich noch mit 1,21. Bei besserer Nierenfunktion zeigt die eGFR eine Abweichung von wirklichen Werten, da die Formelwerte bei Niereninsuffizienten ermittelt wurden.[11, 39]

2.5.7 Triglyzeride und Gesamtcholesterin

Diese beiden bei den eingeschlossenen Patienten bestimmten Parameter sind dem Fettstoffwechsel im menschlichen Körper zuzuordnen. Triglyzeride, auch Triacylglycerine genannt, machen den größten Anteil der Nahrungslipide aus und können bei Nahrungskarenz in der Lipolyse verstoffwechselt werden, um Energie für den Organismus zu liefern. Cholesterin wird ebenfalls über die Nahrung aufgenommen, mit der Galle ausgeschieden und erfüllt diverse Funktionen: Es ist Bestandteil zellulärer Membranen, Vorläufer aller Steroidhormone und Ausgangssubstanz für die Biosynthese von Gallensäuren.[43]

Triglyzeride werden beim nüchternen Patienten bestimmt, indem der NADH-Verbrauch bei diversen enzymatischen Reaktionen photometrisch bestimmt wird. Bei intravenöser Ernährung oder Hepatopathien können sich falsch erhöhte Werte zeigen. Cholesterin wird laborchemisch durch eine Verseifungsreaktion und eine anschließende Oxidationsreaktion bestimmt. Das hierbei freiwerdende Wasserstoffperoxid bildet mit Chromogen einen Farbstoff, der quantitativ gemessen werden kann.[39] Die Referenzwerte der Triglyzeride und des Gesamtcholesterins sind stark alters- und geschlechtsabhängig.

2.5.8 High Density Lipoprotein (HDL-Cholesterin) und Low Density Lipoprotein (LDL-Cholesterin)

HDL- und LDL-Cholesterin gehören zur Gruppe der Lipoproteine, die nach ihrer Dichte eingeteilt werden. Während HDL den Transport von Cholesterin zur Leber und die Ausscheidung über die Galle vermitteln, transportieren die LDL Cholesterin zu den verschiedenen Zielgeweben, wo dieses dann die in Kap. 2.5.7 genannten Funktionen erfüllt.[43]

Die Bestimmung erfolgt durch gezielte Zersetzung von entweder HDL-Cholesterin oder LDL-Cholesterin und einer nachfolgenden Bestimmung des hierdurch freiwerdenden Cholesterins. Bezüglich der physiologischen Werte gilt auch hier eine starke Geschlechts- und Altersabhängigkeit.[39] Eine Übersicht der Referenzwerte der Triglyzeride, des Gesamtcholesterins und der Lipoproteine findet sich in Tab. 5 und Tab. 6.

Tab. 5: Referenzwerte Triglyzeride und Gesamtcholesterin, modifiziert nach [39]

Alter		Referenzwerte	Referenzwerte
Männer	30	44 – 185 mg/dL	150 – 220 mg/dL
	40	49 – 284 mg/dL	160 – 240 mg/dL
	50	56 – 298 mg/dL	170 – 240 mg/dL
	60	62 – 288 mg/dL	175 – 240 mg/dL
Frauen	30	40 – 128 mg/dL	150 – 240 mg/dL
	40	38 – 160 mg/dL	160 – 240 mg/dL
	50	44 – 186 mg/dL	170 – 260 mg/dL
	60	55 – 247 mg/dL	195 – 275 mg/dL

Tab. 6: Referenzwerte HDL und LDL, modifiziert nach [39]

Alter		Referenzwerte HDL	Referenzwerte LDL
Männer	30	27 – 65 mg/dL	60 – 175 mg/dL
	40		80 – 190 mg/dL
	50		90 – 205 mg/dL
	60		90 – 215 mg/dL
Frauen	30	33 – 77 mg/dL	60 – 160 mg/dL
	40		70 – 170 mg/dL
	50		80 – 190 mg/dL
	60		100 – 235 mg/dL

2.5.9 Albumin

Albumin hat als Plasmaprotein die größte Bedeutung als unspezifisches Transportprotein für wasserunlösliche Substanzen. Die Bestimmung kann durch die Biuret-Methode erfolgen, bei der Kupfer-Ionen mit je 4 Stickstoffatomen farbige Komplexe bilden, die dann photometrisch gemessen werden. Eine andere Möglichkeit ist die quantitative photometrische Bestimmung im Serum oder Plasma mit Bromkresolgrün oder Bromkresolpurpur. Der Referenzbereich liegt bei 35 – 53 g/L und nimmt mit zunehmendem Alter ab.[39]

2.5.10 High-Sensitivity C-reactive Protein (hsCRP)

Das CRP wird in der Leber gebildet und gilt als unspezifisches Akute-Phase-Protein, das bei Entzündungen freigesetzt wird. Es wird mittels Turbidimetrie (photometrische Messung der Trübheit) im Serum oder Plasma bestimmt, ein Wert bis 0,5 mg/dL gilt als physiologisch.[39] Schon Mitte der 1990er Jahre konnte festgestellt werden, dass bei instabiler Angina Pectoris und bei akuter KHK das CRP erhöht sein kann.[44-46]

Das hsCRP spielt heutzutage als weiterentwickelter Biomarker in der Kardiologie eine Rolle. Laut einer großen Metaanalyse von 2010 [47] geht eine Erhöhung des CRP um eine logarithmierte Standardabweichung (entspricht einer dreifach erhöhten CRP-Konzentration) mit einem relativen Risiko von 1,37 (95%-KI 1,27 – 1,48) für KHK und von

1,55 (95%-KI 1,37 – 1,76) für vaskuläre Mortalität einher. Eine Statintherapie führt zu einer Verringerung des hsCRP. Eine Therapie mit Statinen bei Patienten mit normalem LDL-Cholesterin aber mit Werten von hsCRP > 0,2 mg/dL hat einen positiven Effekt auf Herzinfarktrate und Gesamtmortalität.[46, 48-50] Yin et al konnten einen signifikanten Anstieg von hsCRP bei schwererer Herzinsuffizienz feststellen und vermuteten eine entzündliche Komponente bei der Entstehung der Herzinsuffizienz.[51] Bezüglich der Krankheit Herzinsuffizienz zeigte eine retrospektive Analyse der CORONA-Studie einen positiven Einfluss von Rosuvastatin auf die hsCRP-Werte von Patienten mit Herzinsuffizienz.[52] Ob hsCRP ebenso wie NT-proBNP als Biomarker im klinischen Alltag einsetzbar ist, müssen künftige Studien allerdings erst noch zeigen.

2.5.11 NT-proBNP

BNP („brain natriuretic peptide“ oder „B-type natriuretic peptide“) wurde ursprünglich im Gehirn entdeckt, später aber auch im Myokardgewebe nachgewiesen.[53-55] Die Synthese von BNP wird mechanisch durch Veränderung der Wandspannung und durch Stimulation von Noradrenalin oder Angiotensin II getriggert.[53, 56] Nach der Sekretion aus den Myokardzellen wird das Pro-BNP in das biologisch aktive BNP und das biologisch inaktive NT-proBNP gespalten, die beide frei im Blut zirkulieren.[57, 58] Dieser Stoffwechselweg ist in Abbildung 5 grafisch dargestellt. BNP senkt die Aldosteronausschüttung, senkt den Blutdruck, führt zu einer peripheren Vasodilatation und erhöht die GFR in der Niere mit daraus folgender Mehrausscheidung von Flüssigkeit.[59] NT-proBNP kann als freies Hormon im Zentrallabor bestimmt werden, die physiologischen Grenzwerte für Patienten ohne Niereninsuffizienz sind < 125 pg/mL bei chronischer Herzinsuffizienz und < 300 pg/mL bei akuter Herzinsuffizienz. Es wird empfohlen, die natriuretischen Peptide nur zum Ausschluss der Herzinsuffizienz zu verwenden, nicht aber zur Diagnosebestätigung.[39, 60, 61]

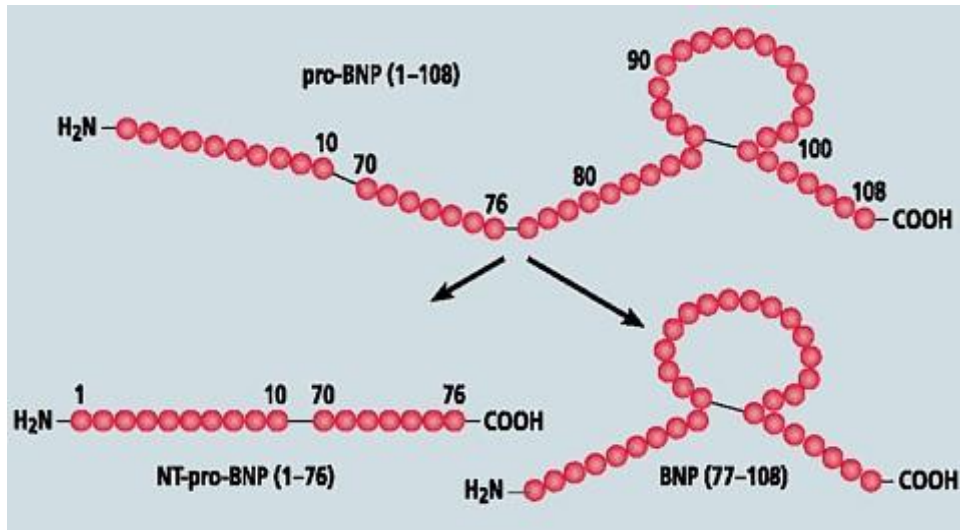


Abb. 5: Spaltung von Pro-BNP in NT-proBNP und BNP, modifiziert nach [53]

De Lemos et al konnten zeigen, dass NT-proBNP Konzentrationen im Plasma von Patienten mit systolischer Dysfunktion der Ventrikel oder einer linksventrikulären Hypertrophie gegenüber gesunden Normalpersonen signifikant erhöht sind.[62] Als Prognosemarker bei chronischer Herzinsuffizienz eignet sich NT-proBNP genauso wie zur Feststellung einer kardialen Belastung oder Herzinsuffizienz bei Patienten mit akuter Dyspnoe; zusätzlich korrelieren die Plasmaspiegel von NT-proBNP mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz.[63-68] Im Vergleich der Biomarker BNP und NT-proBNP zeigte sich das inaktive Fragment als Prädiktor der Mortalität, Morbidität und Hospitalisierung der Patienten signifikant überlegen.[69] Als Biomarker für die Herzinsuffizienz nimmt NT-proBNP demnach den größten Stellenwert ein [70, 71] und ist auch im Diagnosealgorithmus bei Verdacht auf Herzinsuffizienz fest enthalten.[7]

3 Material und Methoden

3.1 Relevante Studien

3.1.1 INH-Studie

Die Interdisciplinary Network for Heart Failure Study (INH-Studie) ist eine multizentrische offene, stratifiziert randomisierte, kontrollierte, monozentrische Parallelgruppenstudie mit verblindeter Endpunkt-Evaluation durch externes Endpunkt-Komitee. Die Einschlusskriterien waren eine Herzinsuffizienz während eines stationären Aufenthalts ($EF \leq 40\%$) und klinische Zeichen/Symptome der Herzinsuffizienz. Ferner mussten die Patienten volljährig sein und ihr Einverständnis zur Studienteilnahme schriftlich erklärt haben. Insgesamt wurden 1022 Patienten in diese Studie eingeschlossen. [72, 73]

3.1.2 Diast-CHF-Studie

Die Diast-CHF-Studie ist eine multizentrische, prospektive, offene Zwei-Kohortenstudie im Quer- und Längsschnitt. Die Einschlusskriterien waren arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Schlafapnoesyndrom, Zeichen der Arteriosklerose sowie die Diagnose Herzinsuffizienz. Die insgesamt 1734 Patienten waren alle zwischen 50 und 85 Jahren alt und hatten schriftlich ihr Einverständnis zur Studienteilnahme erklärt.[73, 74]

3.2 Biomaterial

Das für die Messungen benötigte Biomaterial war im Rahmen der INH-Studie sowie der Diast-CHF-Studie entnommen worden. Nach schriftlicher Einwilligung des jeweiligen Patienten wurde dieses Material etikettiert, verpackt und mit einem pseudonymisierten Probenbegleitschein ins zentrale Labor in das Krankenhaus Berlin-Buch geschickt, wo die Probenidentität geprüft und die Qualität der Biosamples erfasst wurde; dann zentrifugierte das Personal alle Proben, bereitete das Blut auf, um daraus das Serum und das EDTA-Plasma zu gewinnen, und lagerte sämtliches Biomaterial ein, das den vorher

3 Material und Methoden

3.2 Biomaterial

aufgestellten Qualitätskriterien entsprach. Die ausgewählten Proben wurden von Patienten und Patientinnen mit Herzinsuffizienz in unterschiedlichstem Alter gewonnen. Für die gesamte Personengruppe existieren außerdem die in Kapitel 3.1 genannten einheitlichen klinischen Angaben.[75]

Die im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit ausgewerteten Proben stammen von 215 Patienten der INH-Studie und 224 Patienten der Diast-CHF-Studie. Die Entnahme der Blutproben war in den Jahren 2004-2008 erfolgt. Nach Blutentnahme waren die Samples von Würzburg bzw. Göttingen gemäß der Biomaterial-SOP nach Berlin verschickt und dort in einem Ultra-Low Temperature V.I.P.[™] MDF-U72V Freezer bei minus 80°C gelagert worden.[76] Alle Bioproben unterlagen einem streng kontrollierten Temperatur-Ausfallkonzept: bei Abfall der Temperatur auf Werte wärmer als -60°C in den Gefrierschränken, wurde das Alarmsystem aktiviert. In diesem Fall springt die Notfallstromversorgung an und es wird sofort der diensthabende Mitarbeiter der Biomaterialbank automatisch per Telefon informiert. In Berlin gab es während des relevanten Zeitraums insgesamt einen solchen Notfall, dem auf die o.g. Weise effektiv begegnet werden konnte.[75]

Im Rahmen des hier bearbeiteten Qualitätssicherungsprojektes wurden aus Berlin komplementäre Biosamples gemessen und zu diesem Zweck nach Würzburg überführt. Insgesamt wurden aus der INH-Studie 149 EDTA-Plasmaproben und 174 Serumproben gemessen, sowie aus der Diast-CHF-Studie 192 EDTA-Plasmaproben und 132 Serumproben.

Des Weiteren wurden 135 EDTA-Plasmaproben und 139 Serumproben aus der INH-Studie gemessen, die in Würzburg verblieben waren. Diese Proben werden im Folgenden als „Serum lokal“ und „Plasma lokal“ bezeichnet. Hier wurde ein Thermo Scientific Herafreeze[®] TOP HD Freezer zum Einfrieren verwendet.[77] Die nachfolgende Abbildung 6 veranschaulicht den Biomaterial-Fluss.

3 Material und Methoden 3.3 Messung

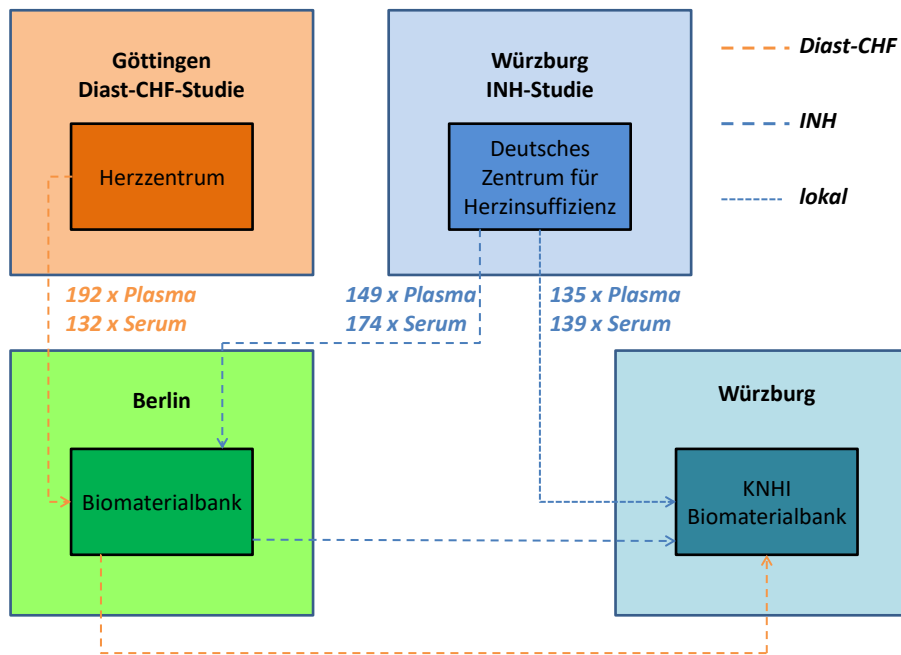


Abb. 6: Lagerung des Biomaterials

3.3 Messung

3.3.1 Basismessung

Als sogenannte **Basismessung** wird im Folgenden die Messung bezeichnet, die **zwischen 2004 und 2008 direkt nach Blutabnahme** und Zentrifugierung, also **am jeweiligen Standort der Blutentnahme**, durchgeführt wurde. Hier wurde nur das Serum analysiert, um einen Basiswert zu generieren, der eine Betrachtung der in den Jahren stattgefundenen Veränderung der einzelnen Parameter erlaubt.

3.3.2 Nachmessung

Als **Nachmessung** wird die **2013** durchgeführte Analyse der Serum- und Plasmaproben bezeichnet, also die **Messung nach Auftauen der Bioproben**. Sämtliches Biomaterial wurde für die Nachmessung im Zentrallabor der Universitätsklinik Würzburg gemessen.

3 Material und Methoden

3.3 Messung

Hierzu wurde eine eigene Materialprozedur aufgesetzt: Nach der Auftragserzeugung mit dem Laborsystem Lauris® und dem Etikettieren sogenannter „False Bottom“ Tubes wurden die Proben mit dem Vortex Mixer durchgemischt und danach kurz abzentrifugiert. Zum Füllen der Tubes wurden Eppendorf Research® Plus Pipetten (1000 µl) verwendet. Der Transport ins Zentrallabor erfolgte in isolierten, mit Eis gefüllten Kisten (Temperatur ca. 4°C), nach Ankunft lagerte das Material bei 4°C im Kühlschrank vor Ort. Zur Analyse des Biomaterials wurde das System Cobas Integra® 800 von Roche benutzt.[78] Anschließend lagerte das Material wieder in Würzburg in 2 ml Kryoröhrchen, die mit Zebra® 8000T Kryocool Etiketten versehen wurden. Da die in Berlin durchgeführte Qualitätskontrolle der Blutproben nicht mehr sinnvoll zu evaluieren war, wurden alle Kryoröhrchen noch einmal aufgetaut und makroskopisch auf Hämolyse und Lipämie untersucht.

3.3.3 Parameter

Die für die Qualitätskontrolle entscheidenden gemessenen Parameter sind in Tab. 7 dargestellt. Die Gesamtsumme beläuft sich auf 16 Werte im Serum/Serum lokal und auf 14 Werte im Plasma/Plasma lokal. Die Gründe für die Auswahl der Analyte ist im Kapitel 3.6 beschrieben.

3 Material und Methoden
3.3 Messung

Tab. 7: Im Biomaterial gemessene Parameter

Parameter	Serum	EDTA-Plasma
Natrium (mmol/l)	•	•
Kalium(mmol/l)	•	-
Harnstoff (mg/dl)	•	•
Kreatinin (mg/dl)	•	•
ASAT (GOT) (U/l)	•	•
ALAT (GPT) (U/l)	•	•
GGT (U/l)	•	•
Harnsäure (mg/dl)	•	•
eGFR (ml/min/1,73m ²)	•	•
Triglyzeride (mg/dl)	•	•
Gesamtcholesterin (mg/dl)	•	•
HDL-Cholesterin (mg/dl)	•	•
LDL-Cholesterin (mg/dl)	•	-
Albumin (g/dl)	•	•
hsCRP (mg/dl)	•	•
NT-proBNP (pg/ml)	•	•

3.3.4 Proben und Probenpaare

In den folgenden vier Tabellen (Tab. 8 - Tab. 11) ist die Zahl aller Proben und Laborparameter aufgeführt, die im vorliegenden Projekt analysiert wurden. Zudem wird die Anzahl der vorhandenen Probenpaare dargestellt, also das Vorhandensein von sowohl Basis- als auch Nachmessung mit der gleichen Identitätsnummer.

Es wurde versucht, eine große Zahl an Patienten aus den in Kap. 3.1 erwähnten Studien und damit eine hohe Zahl an Probenpaaren zu gewinnen. In diesen Studien wurden alle für diese Arbeit ausgewählten 16 Laborparameter mehrfach untersucht, was eine Analyse der Stabilität dieser Parameter über einen Zeitraum von 6-10 Jahren bei einer Lagertemperatur von -80°C erlaubte. Um eventuelle Störfaktoren zu beseitigen, wurden nur Proben ausgewählt, die mit der höchsten Qualität bewertet worden waren (siehe auch Kapitel 3.2). Zusätzlich wurde geprüft, ob Abweichungen bestimmter Parameter aufgrund z. B. Probentransport auftraten. Durch eine höhere Zahl an Probenpaaren ist es wahrscheinlicher, die reelle Situation abzubilden und Zusammenhänge signifikant abzubilden.[1] Zudem werden zukünftige Untersuchungen auch an einer großen Patientenzahl durchgeführt, da die Biobank des KNHI bereits eine sehr große Anzahl an Proben beinhaltet, was für verwertbare Ergebnisse unerlässlich ist.[79]

Tab. 8: Proben und Probenpaare im Serum

Parameter	Proben im Serum		Probenpaare im Serum
	Basismessung	Nachmessung	
Natrium (mmol/l)	422	309	303
Kalium (mmol/l)	420	309	302
Harnstoff (mg/dl)	209	177	173
Kreatinin (mg/dl)	420	309	302
ASAT (GOT) (U/l)	211	176	173
ALAT (GPT) (U/l)	214	176	175
GGT (U/l)	212	177	175
Harnsäure (mg/dl)	405	309	289
eGFR (ml/min/1,73m ²)	420	309	302
Triglyzeride (mg/dl)	202	309	165
Gesamtcholesterin (mg/dl)	405	309	288
HDL-Cholesterin (mg/dl)	374	309	264
LDL-Cholesterin (mg/dl)	374	308	263
Albumin (g/dl)	165	176	133
hsCRP (mg/dl)	389	304	270
NT-proBNP (pg/ml)	390	309	276

Tab. 9: Proben und Probenpaare im Plasma

Parameter	Proben im Plasma		Probenpaare im Plasma
	Basismessung	Nachmessung	
Natrium (mmol/l)	422	339	322
Kalium(mmol/l)	420	-	-
Harnstoff (mg/dl)	209	149	146
Kreatinin (mg/dl)	420	339	320
ASAT (GOT) (U/l)	211	148	144
ALAT (GPT) (U/l)	214	149	148
GGT (U/l)	212	149	147
Harnsäure (mg/dl)	405	339	310
eGFR (ml/min/1,73m ²)	420	339	320
Triglyzeride (mg/dl)	202	338	138
Gesamtcholesterin (mg/dl)	405	339	308
HDL-Cholesterin (mg/dl)	374	339	287
LDL-Cholesterin (mg/dl)	374	-	-
Albumin (g/dl)	165	148	115
hsCRP (mg/dl)	389	338	298
NT-proBNP (pg/ml)	390	338	298

Tab. 10: Proben und Probenpaare im Serum lokal

Parameter	Proben im Serum lokal		Probenpaare im Serum lokal
	Basismessung	Nachmessung	
Natrium (mmol/l)	422	139	139
Kalium(mmol/l)	420	139	139
Harnstoff (mg/dl)	209	139	135
Kreatinin (mg/dl)	420	139	139
ASAT (GOT) (U/l)	211	139	137
ALAT (GPT) (U/l)	214	139	138
GGT (U/l)	212	139	137
Harnsäure (mg/dl)	405	139	127
eGFR (ml/min/1,73m ²)	420	139	139
Triglyzeride (mg/dl)	202	139	129
Gesamtcholesterin (mg/dl)	405	139	128
HDL-Cholesterin (mg/dl)	374	139	112
LDL-Cholesterin (mg/dl)	374	139	112
Albumin (g/dl)	165	139	103
hsCRP (mg/dl)	389	139	139
NT-proBNP (pg/ml)	390	139	139

Tab. 11: Proben und Probenpaare im Plasma lokal

Parameter	Proben im Plasma lokal		Probenpaare im Plasma lokal
	Basismessung	Nachmessung	
Natrium (mmol/l)	422	135	135
Kalium (mmol/l)	420	-	-
Harnstoff (mg/dl)	209	135	132
Kreatinin (mg/dl)	420	135	135
ASAT (GOT) (U/l)	211	134	131
ALAT (GPT) (U/l)	214	134	134
GGT (U/l)	212	135	133
Harnsäure (mg/dl)	405	135	124
eGFR (ml/min/1,73m ²)	420	135	135
Triglyzeride (mg/dl)	202	135	124
Gesamtcholesterin (mg/dl)	405	135	123
HDL-Cholesterin (mg/dl)	374	135	104
LDL-Cholesterin (mg/dl)	374	-	-
Albumin (g/dl)	165	135	104
hsCRP (mg/dl)	389	135	135
NT-proBNP (pg/ml)	390	135	135

3.4 Biometrische Auswertestrategie

Die aus dem Labor erhaltenen Werte der einzelnen Parameter wurden als Microsoft Excel Dateien in IBM® SPSS® Statistics (Version 22.0.0.0 64 Bit/Version 23.0.0.0 64 Bit/Version 24.0.0.0 64 Bit) importiert und dann mit den schon vorhandenen Werten aus der ersten Messung bei Blutabnahme zusammengeführt. Jeder Parameter wurde auf eine einheitliche Maßeinheit angeglichen (Tab. 7), danach doppelt vorkommende Patientennummern herausgenommen. Im Folgenden wurden einzelne Variablen erstellt, die eine Aufteilung nach Serum und EDTA-Plasma für die Proben aus Berlin sowie die in Würzburg verbliebenen Proben ermöglichten. Die gemessenen Parameter bei Blutentnahme wurden genauso wie die nachgemessenen Werte zur Basis 10 logarithmiert. Zwischen der Basismessung und der Nachmessung wurden außerdem die Differenz und der Mittelwert gebildet, danach wurden alle Variablen zur Basis 10 logarithmiert. Ein Logarithmieren zur Basis 10 ist bei Daten sinnvoll, die in ihrer Verteilung eine inhomogene, häufige eine zu den Maxima oder Minimal hin schiefe Verteilung aufweisen. Über die Transformation der Daten wird eine Annäherung an eine Normalverteilung erreicht, die wiederum – in Abhängigkeit vom gewählten Testverfahren – für die statistische Testung vorliegen muss. Die Überprüfung der Normalverteilung erfolgte in der vorliegenden Arbeit mit grafischen Methoden (Histogramm, Q-Q Plot).

Ferner wurden Variablen für potenzielle Einflussfaktoren auf die Veränderung der Nachmessung im Vergleich zur Basismessung berücksichtigt, sogenannte Störgrößen oder „Confounder“. Folgende potenzielle Confounder wurden ausgewertet:

- Probenqualität → hämolytisch; lipämisch
- NYHA-Klasse
- Jahreszeit der Probenentnahme
- Lagerzeit der jeweiligen Probe
- Dauer des Transports zum jeweiligen Lagerungsort, sogenannte „Traveltime“.

Diese Einflussfaktoren wurden aus verschiedenen Gründen ausgewählt: Die beiden Qualitätskriterien „hämolytisch“ und „lipämisch“ sowie „Jahreszeit“, „Lagerzeit“ und

„Traveltime“ können bei einer Lagerung von Biomaterial ohne Qualitätskontrolle eine Abweichung der Werte verursachen.[80, 81] Die NYHA-Klasse wurde als möglicher Confounder geprüft, da sie mit der Krankheit Herzinsuffizienz eng verknüpft ist.[82]

Die nachfolgende Tab. 12 beschreibt die Variablennamen und –labels.

Tab. 12: Einflussfaktoren

Einflussfaktor	Variablenname	Variablenlabel
Qualität (hämolysiert)	haemolyse_ser haemolyse_pla haemolyse_ser_w haemolyse_pla_w	Qualität der Proben im Serum (Hämolyse) Plasma (Hämolyse) Serum lokal (Hämolyse) Plasma lokal (Hämolyse)
Qualität (lipämisch)	lipaemie_ser lipaemie_pla lipaemie_ser_w lipaemie_pla_w	Qualität der Proben im Serum (Lipämie) Plasma (Lipämie) Serum lokal (Lipämie) Plasma lokal (Lipämie)
NYHA-Klasse	bh_nyha	NYHA-Klasse
Jahreszeit	qs_season	Jahreszeit der Probenabnahme
Lagerzeit	qs_ser_lager qs_pla_lager qs_ser_lager_w qs_pla_lager_w	Lagerungszeit der Serumproben Plasmaproben lokalen Serumproben lokalen Plasmaproben (Jahre)
Traveltime	qs_travel	Traveltime der verschickten Proben (Tage)

Tests wurden als statistisch signifikant angesehen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit bei kleiner als 0,05 (=5 %) lag.

3.4.1 Graphische Darstellung und Bestimmtheitsmaß

Mit Hilfe von Scatterplots wurden die Beziehungen innerhalb der Variablen jeweils graphisch dargestellt. Die Scatterplots der einzelnen gemessenen Parameter zeigen die Beziehung zwischen den Variablen der Basismessung und Nachmessung, jeweils für die Subgruppierungen Serum, Plasma, Serum lokal und Plasma lokal. Zudem wurde für jeden Scatterplot eine Regressionsgerade erstellt und als Gütemaß der linearen Regression das sogenannte Bestimmtheitsmaß R^2 berechnet. Dieses gibt den Zusammenhang zwischen Basismessung und Nachmessung wider. Die möglichen Werte des R^2 liegen zwischen 0 und 1. Ein Wert von 0,9 bedeutet, dass 90% der Varianz der abhängigen Variable (hier also die Nachmessung) durch die Werte der unabhängigen Variable (die Basismessung) erklärt werden können. Die erwartbar optimale Höhe von R^2 muss in Abhängigkeit von der jeweilig betrachteten Situation bzw. Disziplin (z.B. Marketing, menschliche Biologie oder Wettervorhersage) interpretiert werden und ist umso besser, je weniger Einflüsse das Modell tatsächlich bestimmen und je besser die einzelnen Faktoren messbar sind. Während in der Physik höhere R^2 die Regel sind (=Situation des um Störgrößen bereinigten Experiments), sind in der Humanmedizin deutlich niedrigere R^2 zu erwarten. Das Bestimmtheitsmaß R^2 wurde einheitlich in allen Ergebnisdarstellungen verwendet.[1]

3.4.2 Bland-Altman-Analyse

Die Bland-Altman-Analyse ermöglicht im Gegensatz zum oben beschriebenen Bestimmtheitsmaß R^2 eine Beurteilung, inwieweit einzelne Differenzen vom Übereinstimmungsintervall von 95% ($\pm 1,96 \cdot \sigma$) abweichen und bietet damit eine wichtige Zusatzinformation. Hintergrund ist, dass eine hohe Korrelation nicht

zwangsläufig eine hohe Übereinstimmung der Werte bedeuten muss, die jedoch für den klinischen Einsatz von großer Bedeutung ist. In einem Bland-Altman-Plot wird der Mittelwert aus Basis- und Nachmessung gegen die Differenz aus Nachmessung minus Basismessung aufgetragen. Weicht die Differenz in akzeptablem Rahmen ab, so ist ein Nutzen für die Klinik wahrscheinlich.[83] Wichtig ist die Unterscheidung des oben genannten Übereinstimmungsintervalls von dem Konfidenzintervall, welches lediglich die Schwankung der mittleren Differenz beziehungsweise des mittleren Quotienten angibt. Das Übereinstimmungsintervall im Bland-Altman-Plot zeigt den Bereich auf, in dem 95% aller Werte liegen.[1]

Im Ergebnisteil werden die Ergebnisse der durchgeführten Bland-Altman-Analysen tabellarisch dargestellt, Diagramme werden nur exemplarisch dargestellt.

3.4.3 Einfluss- und Störgrößen der Messungen

Die Auswirkung auf die Parameter durch die oben beschriebenen Einflussfaktoren wurde mit unterschiedlichen Methoden dargestellt. Die Einflussfaktoren „Jahreszeit der Probenabnahme“ sowie „Qualität der Proben“ konnten durch zwei Kategorien zusammengefasst werden, aus diesem Grund wurde hier ein Levene-Test durchgeführt. Mit dieser statistischen Testmethode wird auf eine sogenannte Homogenität der Varianzen geprüft. Die Nullhypothese geht davon aus, dass in zwei Gruppen die Varianzen nicht wesentlich voneinander abweichen. Lässt sich eine Signifikanz feststellen, wird diese Hypothese verworfen und davon ausgegangen, dass sich die beiden Gruppen in ihren Varianzen unterscheiden.[1] Damit lässt sich im konkreten Fall eine Aussage treffen ob obengenannte Einflussfaktoren einen Varianzenunterschied in der Differenz zwischen Nachmessung und Basismessung bewirken.

Die übrigen geprüften Einflussfaktoren „Lagerzeit“, „Traveltime“ und „NYHA-Klasse“ bestehen aus multiplen Kategorien. Die Auswirkung auf die Differenz aus Nachmessung und Basismessung wurde daher mittels Regression untersucht. Die annähernde Abweichung vom Zusammenhang zwischen Einflussfaktor und Differenz wird als Residuum bezeichnet. Von diesen Residuen wurden die absoluten Beträge gebildet und anschließend eine Korrelation nach Spearman-Rho durchgeführt. Eine Korrelation von

annähernd Null zeigt ein Gleichbleiben der Differenz, unabhängig vom Wert des Einflussfaktors.[1] Aufgrund einer besseren Abbildung der Verteilung wurden für die Parameter hsCRP und NT-proBNP eine zur Basis 10 logarithmierte Darstellung der Differenzen gewählt.

3.5 Datenschutzkonzept

Sämtliche Patientendaten wurden bei Entnahme der Blutproben mit einem Barcode pseudonymisiert, sodass bei der Durchführung der Qualitätskontrolle der Datenschutz der Studienteilnehmer gewahrt werden konnte. Die Bereitstellung der Patientennummern und dazugehörigen Proben erfolgte mit Hilfe und Genehmigung durch die Biodatenbankverantwortliche des Kompetenznetz Herzinsuffizienz (Fr. Dr. C. Prettin von der Universität Leipzig). Das Zusammenführen („merging procedure“) der entsprechenden Dateien wurde kontrolliert durch Dr. M. Kaspar aus der DataWareHouse Projektgruppe am Deutschen Zentrum für Herzinsuffizienz Würzburg.

3.6 Ziele und Hypothesen

Die vorliegende Arbeit soll die Qualität der Biobank des KNHI bezüglich ausgewählter Biomarker beurteilen. In dieser Qualitätskontrolle wird von der Hypothese der Konstanz aller miteinander verglichenen Parameter ausgegangen. Dies bedeutet, dass die gemessenen Werte der Basis- und Nachmessung ausschließlich eine Abweichung im festgelegten 95%-Übereinstimmungsintervall zeigen, da es in der Kühlkette keinerlei Unterbrechung gab und sich auch keine weiteren Einflüsse auf die Veränderung ergaben. Das Ziel soll eine Darstellung folgender Fragestellungen sein:

1. Welches Maß an Übereinstimmung haben Basis- und Nachmessung?
2. Zeigen die Werte der einzelnen Probenpaare systematische Abweichungen? In welchem Bereich befinden sich 95% der gemessenen Paare?
3. Welche Störfaktoren beeinflussen diese Abweichungen?

Alle drei Fragestellungen wurden für 16 verschiedene Laborparameter an insgesamt 4 Gruppen untersucht (vgl. Tab. 7). Am Beispiel Natrium als erstem der 16 gemessenen Werte bedeutete dies konkret die Durchführung folgender Arbeitsschritte:

1. Erstellen von 4 Scatterplots zur Ermittlung der Korrelation der Basis- und Nachmessung von Natrium für die 4 Gruppen „Serum“, „Plasma“, „Serum lokal“ und „Plasma lokal“.
2. Durchführen von 8 Bland-Altman-Analysen zusätzlich zu den Scatterplots, um ein 95%-Übereinstimmungsintervall sowie den stärksten Ausreißer nach oben bzw. nach unten zu ermitteln. Auch hier wurde zwischen den 4 Gruppen „Serum“, „Plasma“, „Serum lokal“ und „Plasma lokal“ unterschieden.
3. Durchführung von 12 Levene-Tests und 12 Regressionen zur Ermittlung von Faktoren, die sich (positiv oder negativ) auf die Analyst-Stabilität von Natrium auswirken (siehe Tab. 12).

4 Ergebnisse
4.1 Scatterplots mit Korrelation

4 Ergebnisse

4.1 Scatterplots mit Korrelation

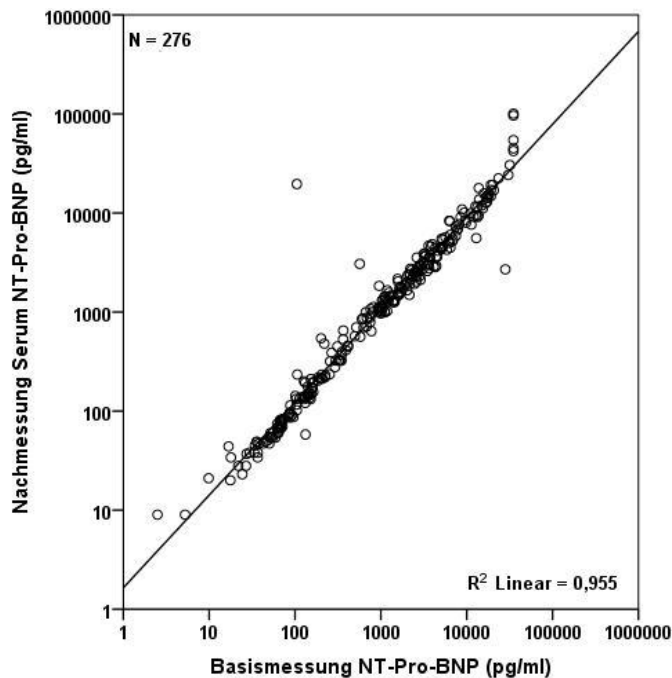


Abb. 7: Scatterplot von NT-proBNP als Beispielgrafik

Abb. 7 zeigt einen durchgeführten Scatterplot als Beispiel. Die Basismessung des jeweiligen Parameters (hier NT-proBNP) wird der Nachmessung gegenübergestellt und grafisch das Bestimmtheitsmaß R^2 bestimmt.

In den nachfolgenden Tabellen 13 und 14 ist die Korrelation der Basis- und Nachmessung jedes einzelnen Parameters in den vier Untersuchungsgruppen „Serum“, „Plasma“, „Serum lokal“ und „Plasma lokal“ zusammengefasst. N gibt dabei die Anzahl zusammenpassender Probenpaare an, d. h. es werden nur Messergebnisse von Aliquots berichtet, die sowohl in der Basis- als auch in der Nachmessung vorhanden waren. In den Untersuchungsgruppen „Plasma“ und „Plasma lokal“ finden sich keine Werte für Kalium und LDL-Cholesterin, da diese dort nicht gemessen wurden.

Es zeigt sich eine große Varianz im Hinblick auf die Korrelationen der jeweiligen Parameter: das Bestimmtheitsmaß rangiert zwischen $R^2 = 0,009$ für Natrium im Serum und $R^2 = 0,955$ für NT-proBNP im Serum. Es finden sich keine nennenswerten

4 Ergebnisse
4.1 Scatterplots mit Korrelation

Unterschiede der Korrelation der Parameter in den verschiedenen vier Untersuchungsgruppen „Serum“, „Plasma“, „Serum lokal“ und „Plasma lokal“ (zur Definition der genannten Begriffe siehe Kap. 3.4).

Tab. 13: Assoziation zwischen Basis- und Nachmessung (Bestimmtheitsmaß R^2)

Parameter	Serum		EDTA-Plasma	
	R^2	N	R^2	N
Natrium (mmol/l)	0,009	303	0,021	322
Kalium(mmol/l)	0,097	302	-	-
Harnstoff (mg/dl)	0,400	173	0,438	146
Kreatinin (mg/dl)	0,722	302	0,749	320
ASAT (GOT) (U/l)	0,195	173	0,151	144
ALAT (GPT) (U/l)	0,406	175	0,415	148
GGT (U/l)	0,745	175	0,707	147
Harnsäure (mg/dl)	0,478	289	0,477	310
eGFR (ml/min/1,73m ²)	0,611	302	0,615	320
Triglyzeride (mg/dl)	0,418	165	0,401	138
Gesamtcholesterin (mg/dl)	0,633	288	0,613	308
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,590	264	0,587	287
LDL-Cholesterin (mg/dl)	0,577	263	-	-
Albumin (g/dl)	0,421	133	0,337	115
hsCRP (mg/dl)	0,937	270	0,920	298
NT-proBNP (pg/ml)	0,955	276	0,919	298

4 Ergebnisse
4.1 Scatterplots mit Korrelation

**Tab. 14: Assoziation zwischen Basis- und Nachmessung der lokal bestimmten Proben
(Bestimmtheitsmaß R²)**

Parameter	Serum lokal		EDTA-Plasma lokal	
	R ²	N	R ²	N
Natrium (mmol/l)	0,183	139	0,143	135
Kalium(mmol/l)	0,014	139	-	-
Harnstoff (mg/dl)	0,460	135	0,547	132
Kreatinin (mg/dl)	0,735	139	0,801	135
ASAT (GOT) (U/l)	0,141	137	0,155	131
ALAT (GPT) (U/l)	0,409	138	0,442	134
GGT (U/l)	0,766	137	0,668	133
Harnsäure (mg/dl)	0,379	127	0,455	124
eGFR (ml/min/1,73m ²)	0,637	139	0,683	135
Triglyzeride (mg/dl)	0,433	129	0,395	124
Gesamtcholesterin (mg/dl)	0,571	128	0,481	123
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,540	112	0,572	104
LDL-Cholesterin (mg/dl)	0,479	112	-	-
Albumin (g/dl)	0,367	103	0,313	104
hsCRP (mg/dl)	0,970	139	0,927	135
NT-proBNP (pg/ml)	0,863	139	0,759	135

4.2 Bland-Altman-Analysen

Die zu jedem Parameter durchgeführten Bland-Altman-Analysen sind in den Tab. 15 bis Tab. 22 zusammengefasst. Angegeben sind jeweils die mittlere Differenz mit dem dazugehörigen 95%-Konfidenzintervall. Zusätzlich ist das 95%-Übereinstimmungsintervall aufgeführt, welches sich aus der mittleren Differenz \pm dem 1,96-fachen der Standardabweichung Sigma zusammensetzt. Sämtliche Bland-Altman-Analysen werden mit absoluten Zahlen sowie mit logarithmierten Werten dargestellt. Es ist zu beachten, dass die logarithmierten Werte wieder in absolute Werte umgerechnet werden müssen um eine faktorielle Darstellung der Veränderung zu erreichen.

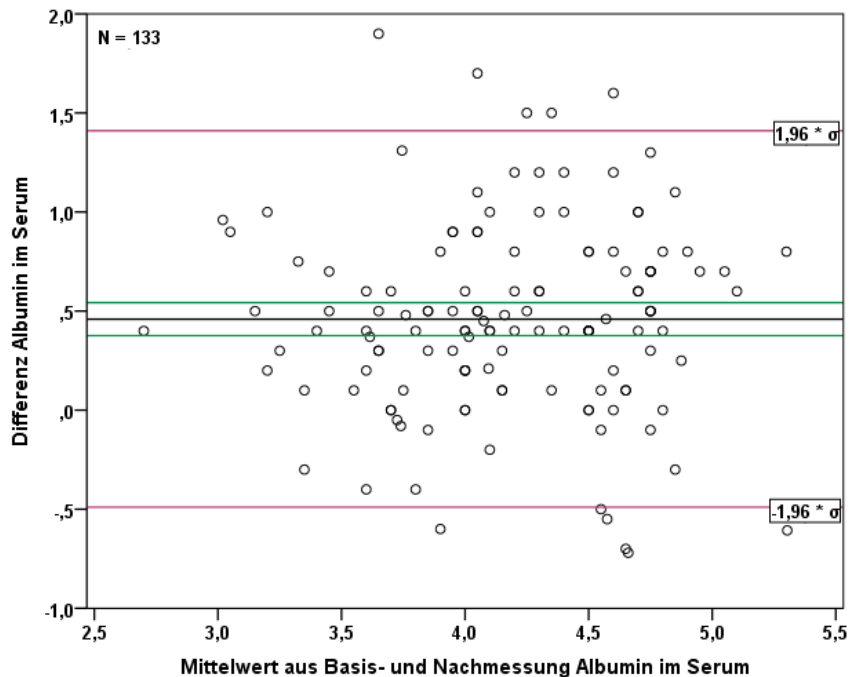


Abb. 8: Bland-Altman-Plot als Beispiel für eine Darstellung mit absoluten Werten

In Abb. 8 ist ein Bland-Altman-Plot von Albumin im Serum mit nicht logarithmierten Werten dargestellt. Die mittlere Differenz ist durch die schwarze Linie, das 95%-Konfidenzintervall der Differenz durch die beiden grünen Linien gekennzeichnet. Das 95%-Übereinstimmungsintervall wird durch die zwei violetten Linien begrenzt.

4 Ergebnisse

4.2 Bland-Altman-Analysen

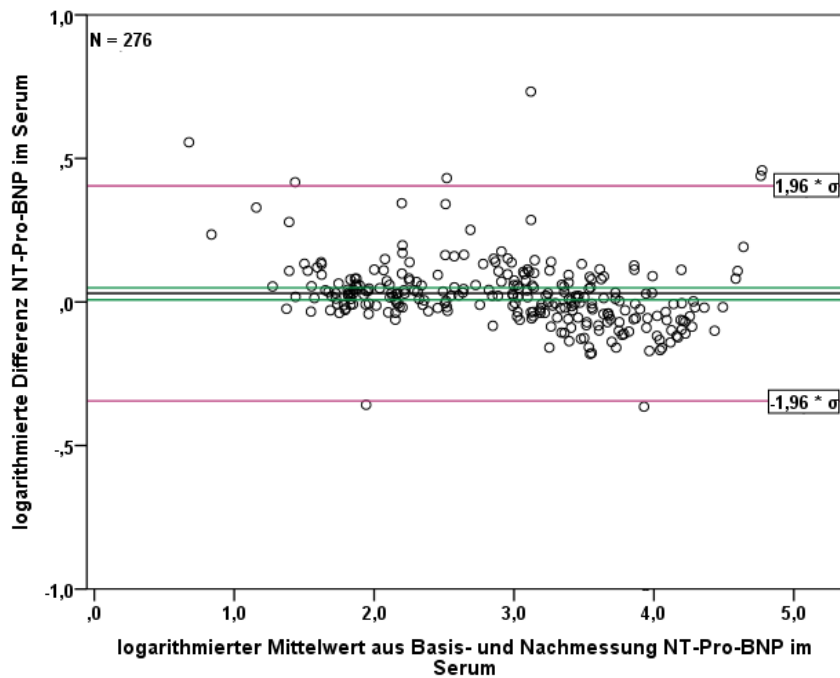


Abb. 9: Bland-Altman-Plot als Beispiel für eine Darstellung mit logarithmierten Werten

Ähnlich verhält es sich mit einem ausgewählten Bland-Altman-Plot für eine logarithmierte Darstellung, hier am Beispiel NT-proBNP. Der entscheidende Unterschied im Vergleich zur nicht logarithmierten Darstellung besteht in einer Umrechnung der zur Basis 10 logarithmierten Ergebnisse. Konkret bedeutet dies ein Ergebnis von 1,07 für die mittlere Differenz ($10^{0,03}$) von NT-proBNP. Im Mittel beträgt die Nachmessung von NT-proBNP in der Gruppe „Serum“ das 1,07-fache des Ausgangswertes. Das 95%-Übereinstimmungsintervall (violette Linien) ist ebenfalls faktoriell angegeben und liegt im vorliegenden Beispiel zwischen dem 0,45-fachen und dem 2,54-fachen des Ausgangswertes.

Die Interpretation der Plots der übrigen Biomarker ist nach dem gleichen Muster vorzunehmen.

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 15: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum (nicht logarithmiert)

Parameter	Mittlere Differenz	95% CI der Differenz	$\Delta (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	7,30	6,08 – 8,52	21,22	7,30 ± 21,22
Kalium(mmol/l)	0,55	0,43 – 0,66	1,96	0,55 ± 1,96
Harnstoff (mg/dl)	0,50	-6,19 – 7,20	87,44	0,50 ± 87,44
Kreatinin (mg/dl)	-0,03	-0,07 – 0,02	0,80	-0,03 ± 0,80
ASAT (GOT) (U/l)	-3,35	-9,08 – 2,37	74,71	-3,35 ± 74,71
ALAT (GPT) (U/l)	-6,83	-20,30 – 6,65	176,99	-6,83 ± 176,99
GGT (U/l)	15,30	5,67 – 24,93	126,53	15,30 ± 126,53
Harnsäure (mg/dl)	0,30	0,11 – 0,50	3,28	0,30 ± 3,28
eGFR (ml/min/1,73m ²)	12,88	10,88 – 14,87	34,56	12,88 ± 34,56
Triglyzeride (mg/dl)	34,30	24,36 – 44,25	126,77	34,30 ± 126,77
Gesamtcholesterin (mg/dl)	29,60	25,79 – 33,41	64,35	29,60 ± 64,35
HDL-Cholesterin (mg/dl)	-0,24	-1,53 – 1,06	20,93	-0,24 ± 20,93
LDL-Cholesterin (mg/dl)	17,51	14,28 – 20,75	52,21	17,51 ± 52,21
Albumin (g/dl)	0,46	0,38 – 0,54	0,95	0,46 ± 0,95
hsCRP (mg/dl)	0,11	-0,07 – 0,29	2,90	0,11 ± 2,90
NT-proBNP (pg/ml)	286,01	-427,34 – 999,36	11799,10	286,01 ± 11799,10

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 16: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum (logarithmiert)

Parameter	Mittlerer Quotient	95% CI des Quotienten	$\Phi (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	1,05	1,04 – 1,06	1,15	0,91 – 1,22
Kalium(mmol/l)	1,12	1,10 – 1,14	1,37	0,82 – 1,53
Harnstoff (mg/dl)	1,06	0,99 – 1,13	2,38	0,45 – 2,52
Kreatinin (mg/dl)	0,96	0,94 – 0,99	1,51	0,64 – 1,45
ASAT (GOT) (U/l)	1,02	0,94 – 1,11	2,97	0,34 – 3,03
ALAT (GPT) (U/l)	1,10	1,00 – 1,20	3,35	0,33 – 3,69
GGT (U/l)	1,18	1,10 – 1,27	2,49	0,47 – 2,94
Harnsäure (mg/dl)	1,05	1,02 – 1,08	1,60	0,66 – 1,68
eGFR (ml/min/1,73m ²)	1,20	1,16 – 1,24	1,73	0,69 – 2,08
Triglyzeride (mg/dl)	1,28	1,20 – 1,37	2,34	0,55 – 3,00
Gesamtcholesterin (mg/dl)	1,17	1,14 – 1,19	1,40	0,84 – 1,64
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,99	0,96 – 1,02	1,60	0,62 – 1,58
LDL-Cholesterin (mg/dl)	1,17	1,13 – 1,20	1,62	0,72 – 1,90
Albumin (g/dl)	1,12	1,10 – 1,14	1,26	0,89 – 1,41
hsCRP (mg/dl)	0,97	0,93 – 1,01	2,00	0,49 – 1,94
NT-proBNP (pg/ml)	1,07	1,02 – 1,13	2,37	0,45 – 2,54

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 17: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma (nicht logarithmiert)

Parameter	Mittlere Differenz	95% CI der Differenz	$\Delta (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	-2,06	-2,89 – -1,22	14,93	-2,06 ± 14,93
Harnstoff (mg/dl)	-2,38	-9,22 – 4,46	81,93	-2,38 ± 81,93
Kreatinin (mg/dl)	-0,09	-0,13 – -0,06	0,61	-0,09 ± 0,61
ASAT (GOT) (U/l)	-0,44	-7,09 – 6,22	79,17	-0,44 ± 79,17
ALAT (GPT) (U/l)	-4,59	-20,05 – 10,87	186,56	-4,59 ± 186,56
GGT (U/l)	4,62	-4,65 – 13,89	111,45	4,62 ± 111,45
Harnsäure (mg/dl)	-0,94	-1,11 – -0,77	2,97	-0,94 ± 2,97
eGFR (ml/min/1,73m ²)	16,29	14,19 – 18,39	37,44	16,29 ± 37,44
Triglyzeride (mg/dl)	1,58	-9,53 – 12,69	129,31	1,58 ± 129,31
Gesamtcholesterin (mg/dl)	23,67	19,55 – 27,79	72,00	23,67 ± 72,00
HDL-Cholesterin (mg/dl)	-0,51	-2,01 – 0,99	25,35	-0,51 ± 25,35
Albumin (g/dl)	0,29	0,20 – 0,38	0,99	0,29 ± 0,99
hsCRP (mg/dl)	0,08	-0,08 – 0,24	2,75	0,08 ± 2,75
NT-proBNP (pg/ml)	478,89	-277,31 – 1235,09	13001,01	478,89 ± 13001,01

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 18: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma (logarithmiert)

Parameter	Mittlerer Quotient	95% CI des Quotienten	$\Phi (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	0,98	0,98 – 0,99	1,12	0,88 – 1,10
Harnstoff (mg/dl)	1,01	0,94 – 1,08	2,33	0,43 – 2,35
Kreatinin (mg/dl)	0,91	0,89 – 0,93	1,48	0,62 – 1,35
ASAT (GOT) (U/l)	1,11	1,01 – 1,22	3,15	0,35 – 3,50
ALAT (GPT) (U/l)	1,17	1,05 – 1,30	3,63	0,32 – 4,25
GGT (U/l)	1,07	0,98 – 1,15	2,65	0,40 – 2,84
Harnsäure (mg/dl)	0,87	0,84 – 0,89	1,60	0,54 – 1,39
eGFR (ml/min/1,73m ²)	1,25	1,22 – 1,29	1,70	0,74 – 2,13
Triglyzeride (mg/dl)	1,02	0,95 – 1,10	2,37	0,43 – 2,42
Gesamtcholesterin (mg/dl)	1,12	1,10 – 1,15	1,42	0,79 – 1,59
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,98	0,95 – 1,01	1,63	0,60 – 1,60
Albumin (g/dl)	1,08	1,05 – 1,10	1,28	0,84 – 1,38
hsCRP (mg/dl)	0,94	0,90 – 0,99	2,14	0,44 – 2,01
NT-proBNP (pg/ml)	1,08	1,01 – 1,15	3,22	0,34 – 3,48

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 19: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum lokal (nicht logarithmiert)

Parameter	Mittlere Differenz	95% CI der Differenz	$\Delta (=1,96 \cdot \sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	0,34	-0,31 – 0,99	7,62	0,34 ± 7,62
Kalium(mmol/l)	0,28	-0,19 – 0,75	5,49	0,28 ± 5,49
Harnstoff (mg/dl)	-6,19	-13,37 – 0,99	82,62	-6,19 ± 82,62
Kreatinin (mg/dl)	0,02	-0,07 – 0,11	1,00	0,02 ± 1,00
ASAT (GOT) (U/l)	-7,74	-14,87 – -0,61	82,72	-7,74 ± 82,72
ALAT (GPT) (U/l)	-9,81	-26,74 – 7,13	197,19	-9,81 ± 197,19
GGT (U/l)	5,58	-4,74 – 15,90	119,74	5,58 ± 119,74
Harnsäure (mg/dl)	-0,30	-0,65 – 0,05	3,89	-0,30 ± 3,89
eGFR (ml/min/1,73m ²)	8,44	5,51 – 11,37	34,25	8,44 ± 34,25
Triglyzeride (mg/dl)	15,12	4,85 – 25,38	115,47	15,12 ± 115,47
Gesamtcholesterin (mg/dl)	2,08	-3,31 – 7,47	60,38	2,08 ± 60,38
HDL-Cholesterin (mg/dl)	-6,25	-8,23 – -4,27	20,71	-6,25 ± 20,71
LDL-Cholesterin (mg/dl)	4,29	-0,97 – 9,55	55,05	4,29 ± 55,05
Albumin (g/dl)	0,17	0,07 – 0,27	0,97	0,17 ± 0,97
hsCRP (mg/dl)	-0,11	-0,36 – 0,15	2,95	-0,11 ± 2,95
NT-proBNP (pg/ml)	404,45	-697,01 – 1505,91	12872,38	404,45 ± 12872,38

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 20: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Serum lokal (logarithmiert)

Parameter	Mittlerer Quotient	95% CI des Quotienten	$\Phi (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	1,00	1,00 – 1,01	1,06	0,94 – 1,06
Kalium(mmol/l)	1,02	0,98 – 1,06	1,65	0,62 – 1,68
Harnstoff (mg/dl)	0,94	0,88 – 1,01	2,19	0,43 – 2,06
Kreatinin (mg/dl)	1,02	0,98 – 1,06	1,56	0,65 – 1,59
ASAT (GOT) (U/l)	0,90	0,81 – 1,00	3,35	0,27 – 3,02
ALAT (GPT) (U/l)	1,07	0,96 – 1,19	3,42	0,31 – 3,66
GGT (U/l)	1,09	1,01 – 1,18	2,41	0,45 – 2,63
Harnsäure (mg/dl)	0,97	0,93 – 1,02	1,70	0,57 – 1,65
eGFR (ml/min/1,73m ²)	1,16	1,10 – 1,22	1,86	0,62 – 2,16
Triglyzeride (mg/dl)	1,15	1,07 – 1,23	2,17	0,53 – 2,50
Gesamtcholesterin (mg/dl)	1,02	0,99 – 1,06	1,45	0,70 – 1,48
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,87	0,83 – 0,92	1,66	0,52 – 1,44
LDL-Cholesterin (mg/dl)	1,06	1,00 – 1,12	1,77	0,60 – 1,88
Albumin (g/dl)	1,05	1,02 – 1,07	1,28	0,82 – 1,34
hsCRP (mg/dl)	0,80	0,77 – 0,83	1,56	0,51 – 1,25
NT-proBNP (pg/ml)	1,03	0,94 – 1,11	2,64	0,39 – 2,72

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 21: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma lokal (nicht logarithmiert)

Parameter	Mittlere Differenz	95% CI der Differenz	$\Delta (=1,96 \cdot \sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	-4,99	-5,75 – -4,22	8,80	-4,99 ± 8,80
Harnstoff (mg/dl)	-3,10	-10,33 – 4,12	82,24	-3,10 ± 82,24
Kreatinin (mg/dl)	0,13	0,06 – 0,19	0,72	0,13 ± 0,72
ASAT (GOT) (U/l)	-6,49	-13,64 – 0,66	81,11	-6,49 ± 81,11
ALAT (GPT) (U/l)	-9,62	-26,36 – 7,12	191,99	-9,62 ± 191,99
GGT (U/l)	-1,87	-11,87 – 8,12	114,19	-1,87 ± 114,19
Harnsäure (mg/dl)	-0,28	-0,63 – 0,07	3,81	-0,28 ± 3,81
eGFR (ml/min/1,73m ²)	3,05	-0,81 – 6,92	44,53	3,05 ± 44,53
Triglyzeride (mg/dl)	5,05	-7,72 – 17,82	140,81	5,05 ± 140,81
Gesamtcholesterin (mg/dl)	-6,40	-13,64 – 0,84	79,47	-6,40 ± 79,47
HDL-Cholesterin (mg/dl)	-8,99	-11,28 – -6,70	23,09	-8,99 ± 23,09
Albumin (g/dl)	0,22	0,13 – 0,32	0,97	0,22 ± 0,97
hsCRP (mg/dl)	-0,05	-0,36 – 0,26	3,56	-0,05 ± 3,56
NT-proBNP (pg/ml)	739,16	-648,63 – 2126,96	15979,43	739,16 ± 15979,43

4 Ergebnisse
4.2 Bland-Altman-Analysen

Tab. 22: Ergebnisse der Bland-Altman-Analysen im Plasma lokal (logarithmiert)

Parameter	Mittlerer Quotient	95% CI des Quotienten	$\Phi (=1,96*\sigma)$	95% Übereinstimmungsintervall
Natrium (mmol/l)	0,96	0,96 – 0,97	1,07	0,90 – 1,03
Harnstoff (mg/dl)	1,01	0,94 – 1,08	2,15	0,47 – 2,17
Kreatinin (mg/dl)	1,08	1,04 – 1,12	1,51	0,72 – 1,63
ASAT (GOT) (U/l)	0,91	0,82 – 1,01	3,20	0,28 – 2,91
ALAT (GPT) (U/l)	1,09	0,97 – 1,21	3,53	0,31 – 3,85
GGT (U/l)	0,98	0,90 – 1,08	2,91	0,34 – 2,85
Harnsäure (mg/dl)	0,98	0,93 – 1,03	1,69	0,58 – 1,66
eGFR (ml/min/1,73m ²)	1,06	1,00 – 1,11	1,84	0,58 – 1,95
Triglyzeride (mg/dl)	1,09	1,01 – 1,18	2,36	0,46 – 2,57
Gesamtcholesterin (mg/dl)	0,98	0,94 – 1,02	1,55	0,63 – 1,52
HDL-Cholesterin (mg/dl)	0,82	0,78 – 0,86	1,70	0,48 – 1,39
Albumin (g/dl)	1,06	1,04 – 1,09	1,28	0,83 – 1,36
hsCRP (mg/dl)	0,80	0,75 – 0,85	2,03	0,39 – 1,62
NT-proBNP (pg/ml)	0,92	0,81 – 1,03	3,97	0,23 – 3,65

4.3 Einflussfaktoren

In Tab. 23 sind die Häufigkeiten der Confounder „Hämolyse“ und „Lipämie“ dargestellt, zusätzlich ist in Tab. 24 der Median und der Interquartilbereich (IQR) zwischen 25. und 75. Perzentile für die Confounder „Lagerzeit“ und „Traveltime“ angegeben.

Tab. 23: Hämolyse und Lipämie in den untersuchten Proben

Probenqualität	Serum	Plasma	Serum lokal	Plasma lokal
Unauffällig	189 (61,2%)	151 (44,3%)	56 (40,3%)	70 (51,9%)
Hämolytisch	39 (12,6%)	78 (22,9%)	33 (23,7%)	9 (6,6%)
Lipämisch	72 (23,3%)	85 (24,9%)	35 (25,2%)	40 (29,6%)
Hämolytisch und Lipämisch	9 (2,9%)	27 (7,9%)	15 (10,8%)	16 (11,9%)
Gesamt	309 (100%)	341 (100%)	139 (100%)	135 (100%)

Tab. 24: Analyse der Confounder Lagerzeit und Traveltime

Confounder	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Interquartilbereich
Lagerzeit im Serum (Jahre)	7,78	1,13	7,60	7,17 – 8,69
Lagerzeit im Plasma (Jahre)	7,42	0,83	7,58	7,12 – 7,98
Lagerzeit im Serum lokal (Jahre)	7,84	1,44	7,75	6,83 – 9,23
Lagerzeit im Plasma lokal (Jahre)	7,14	1,05	7,26	6,32 – 7,86
Traveltime in Tagen	1,90	1,22	2,00	1,00 – 3,00

4 Ergebnisse

4.3 Einflussfaktoren

In Tab. 25 bis Tab. 28 finden sich die geprüften Einflussfaktoren und deren Auswirkung auf die Veränderung von Basis- und Nachmessung. In jeder Tabelle sind für die Confounder „Hämolyse“, „Lipämie“ und „Jahreszeit“ die p-Werte der durchgeführten Levene-Tests aufgeführt, Werte $<0,05$ wurden hervorgehoben. Zusätzlich beinhalten die Tabellen die nach Spearman-Rho gemessenen Korrelationen. Signifikante Korrelationen sind ebenfalls hervorgehoben. Jede Tabelle entspricht einer Probengruppe (Serum, Plasma, Serum lokal oder Plasma lokal).

Generell gilt: Ist im Levene-Test eine Signifikanz festzustellen, kann von einer Heterogenität der Varianzen in der gemessenen Differenz zwischen Basis- und Nachmessung ausgegangen werden. Konkret bedeutet dies am Beispiel Natrium im Serum, dass eine hämolytische Probe zu einer Änderung der Differenz führt.

Eine signifikante positive Korrelation nach Spearman-Rho bedeutet im Fall von ALAT (GPT) im Serum, dass mit zunehmender Reisezeit der Proben eine Zunahme der Differenz beobachtet werden kann (siehe hierzu auch Kapitel 3.4.3).

4 Ergebnisse
4.3 Einflussfaktoren

Tab. 25: Einfluss der Confounder im Serum

Parameter	Confounder					
	Levene-Test (p-Wert)			Korrelation nach Spearman		
	Hämolyse	Lipämie	Jahreszeit	Lagerzeit	Traveltime	NYHA
Natrium	0,004	0,09	0,37	-0,04	-0,03	0,11
Kalium	0,65	0,04	0,37	-0,03	-0,08	-0,06
Harnstoff	0,34	0,62	0,09	0,01	0,09	0,07
Kreatinin	0,48	0,02	0,57	-0,08	-0,05	0,07
ASAT(GOT)	0,64	0,07	0,08	-0,10	0,23	0,39
ALAT(GPT)	0,50	0,86	0,46	-0,02	0,37	0,51
GGT	0,46	0,03	0,17	0,04	-0,17	0,28
Harnsäure	0,85	0,80	0,89	-0,05	0,08	0,18
eGFR	0,72	0,21	0,65	-0,06	-0,07	-0,07
Triglyzeride	0,79	<0,001	0,82	-0,05	0,06	-0,07
Gesamtcholesterin	0,27	0,55	0,99	-0,01	-0,08	-0,10
HDL-Cholesterin	0,03	0,01	0,80	-0,02	-0,01	0,11
LDL-Cholesterin	0,01	0,65	0,91	-0,02	-0,04	0,03
Albumin	0,37	0,87	0,42	-0,13	0,01	0,04
hsCRP	0,11	0,16	0,21	-0,01	-0,02	0,14
NT-proBNP	0,96	0,64	0,49	0,01	-0,05	0,01

4 Ergebnisse
4.3 Einflussfaktoren

Tab. 26: Einfluss der Confounder im Plasma

Parameter	Confounder					
	Levene-Test (p-Wert)			Korrelation nach Spearman		
	Hämolyse	Lipämie	Jahreszeit	Lagerzeit	Traveltime	NYHA
Natrium	0,51	0,21	0,09	0,22	-0,04	-0,01
Harnstoff	0,79	0,02	0,11	-0,04	0,07	0,14
Kreatinin	0,81	0,03	0,78	-0,07	0,01	0,10
ASAT(GOT)	0,046	0,06	0,43	0,00	0,16	0,22
ALAT(GPT)	0,15	0,35	0,96	0,14	0,25	0,46
GGT	0,997	0,01	0,71	-0,03	0,23	0,05
Harnsäure	0,001	0,15	0,85	-0,18	0,02	0,15
eGFR	0,77	0,03	0,73	-0,04	0,002	-0,002
Triglyzeride	0,08	<0,001	0,74	0,05	0,03	0,01
Gesamtcholesterin	0,45	0,87	0,35	-0,03	-0,02	-0,09
HDL-Cholesterin	0,61	0,04	0,65	-0,02	0,01	0,12
Albumin	0,33	0,96	0,55	0,17	-0,07	0,06
hsCRP	0,61	0,16	0,17	-0,08	-0,14	0,21
NT-proBNP	0,30	0,003	0,63	-0,04	-0,16	-0,03

4 Ergebnisse
4.3 Einflussfaktoren

Tab. 27: Einfluss der Confounder im Serum lokal

Parameter	Confounder				
	Levene-Test (p-Wert)			Korrelation nach Spearman	
	Hämolyse	Lipämie	Jahreszeit	Lagerzeit	NYHA
Natrium	0,99	0,08	0,82	-0,08	0,25
Kalium	0,77	0,31	0,11	-0,46	-0,30
Harnstoff	0,60	0,08	0,07	-0,08	0,15
Kreatinin	0,15	0,79	0,70	0,04	0,08
ASAT(GOT)	0,50	0,06	0,20	-0,04	0,43
ALAT(GPT)	0,56	0,86	0,84	0,19	0,58
GGT	0,02	0,046	0,57	-0,03	0,12
Harnsäure	0,84	0,53	0,97	0,16	0,26
eGFR	0,65	0,49	0,50	0,05	-0,12
Triglyzeride	0,03	<0,001	0,86	0,02	-0,04
Gesamtcholesterin	0,45	0,94	0,30	-0,05	-0,26
HDL-Cholesterin	0,37	0,14	0,17	0,09	0,11
LDL-Cholesterin	0,22	0,85	0,36	-0,08	-0,04
Albumin	0,13	0,36	0,63	0,01	-0,13
hsCRP	0,88	0,48	0,24	0,09	0,21
NT-proBNP	0,53	0,91	0,93	0,02	-0,05

4 Ergebnisse
4.3 Einflussfaktoren

Tab. 28: Einfluss der Confounder im Plasma lokal

Parameter	Confounder				
	Levene-Test (p-Wert)			Korrelation nach Spearman	
	Hämolyse	Lipämie	Jahreszeit	Lagerzeit	NYHA
Natrium	0,12	0,09	0,36	-0,03	0,07
Harnstoff	0,69	0,89	0,07	-0,11	0,12
Kreatinin	0,09	0,09	0,81	0,03	0,15
ASAT(GOT)	0,81	0,25	0,24	0,01	0,45
ALAT(GPT)	0,19	0,33	0,49	0,14	0,50
GGT	0,96	0,053	0,47	-0,04	0,02
Harnsäure	0,09	0,93	0,70	0,07	0,17
eGFR	0,22	0,78	0,93	-0,09	-0,05
Triglyzeride	0,75	<0,001	0,80	-0,01	-0,07
Gesamtcholesterin	0,36	0,74	0,90	0,19	-0,12
HDL-Cholesterin	0,28	0,57	0,33	0,07	0,23
Albumin	0,73	0,32	0,69	0,07	-0,003
hsCRP	0,03	0,11	0,11	0,14	0,21
NT-proBNP	0,45	0,88	0,95	0,08	-0,01

5 Diskussion

5.1 Ergebnisdiskussion

5.1.1 Scatterplots mit Korrelation

In den verschiedenen untersuchten Probengruppen zeigte sich je nach Parameter eine große Varianz für das Bestimmtheitsmaß R^2 (Tab. 13 und Tab. 14): Natrium sowie Kalium veränderten sich in der Nachmessung so stark, dass sich hier nur ein R^2 zwischen 0,009 und 0,183 ergab. Ob sich die gemessenen Konzentrationen erhöhten oder verminderten, wird im folgenden Kapitel deutlich. Durch die errechnete Korrelation ergibt sich nur eine Abweichung der einzelnen Werte. Auch das Enzym ASAT zeigt sich nur mit einem R^2 zwischen 0,141 und 0,195. Als sehr stark korrelierend präsentierten sich dagegen die Proteine hsCRP und NT-proBNP mit einem R^2 zwischen 0,759 und 0,970. Die übrigen 12 untersuchten Werte reihten sich dazwischen mit Bestimmtheitsmaßen von 0,313 bis 0,801 ein.

Es kann also die Aussage getroffen werden, dass jeder untersuchte Parameter eine völlig unterschiedlich starke Werteveränderung vollzog, die Veränderung jedes einzelnen Parameters war aber in allen vier untersuchten Gruppen Serum, Plasma, Serum lokal und Plasma lokal sehr ähnlich, unabhängig von höheren oder niedrigeren Werten bei der Nachmessung. Beide Möglichkeiten konnten festgestellt werden. Außerdem war auffällig, dass immer wieder einzelne Blutproben extrem von der Norm abwichen.

5.1.2 Bland-Altman-Analysen

In den Bland-Altman-Analysen ließen sich wie bei den im vorigen Kapitel beschriebenen Scatterplots große Unterschiede bezüglich der einzelnen Parameter feststellen, allerdings völlig unabhängig von dem Bestimmtheitsmaß R^2 dieser im Serum oder Plasma gemessenen Laborwerte. So schwankten 95% der gemessenen Probenpaare von Natrium, das in den Streudiagrammen ein sehr niedriges R^2 aufwies, nur zwischen einer Veränderung von 88 % bis 122 % der Ausgangsmessung. Das Protein NT-proBNP als

Vertreter der Parameter mit einem sehr hohen R^2 schwankte in 95% der Fälle zwischen 23 % und 365 % der Ausgangsmessung. Es fanden sich hier also mehrere sehr starke Werteveränderungen. Die übrigen gemessenen Parameter zeigten eine Veränderung der Nachmessung im Vergleich zur Basismessung auf 27 % bis 425 % im 95%-Übereinstimmungsintervall.

Die mittlere Differenz zwischen Nachmessung und Basismessung präsentiert sich relativ stabil, die größte Verringerung zeigte das hochsensitive CRP im Serum und Plasma lokal. Die Nachmessung betrug im Mittel nur 80 % der Ausgangsmessung. Bei der Messung der Triglyzeride im Serum wurde mit mittleren 128 % der Basismessung die größte Abweichung nach oben beobachtet. Zur Diskussion möglicher Einflussfaktoren siehe Kapitel 5.1.3.

Gemeinsamkeiten mit den Scatterplots fanden sich bezüglich der Ähnlichkeit von Parametern in den vier Untersuchungsgruppen „Serum“, „Plasma“, „Serum lokal“ und „Plasma lokal“: Hier veränderte sich das 95%-Übereinstimmungsintervall von einem Parameter kaum.

5.1.3 Einflüsse der Confounder

Bei der Prüfung der vorher festgelegten Einflussfaktoren (Kap. 3.4.3) zeigte sich, dass oft kein signifikanter Einfluss festzustellen war. Zusätzlich traten diese signifikanten Änderungen nur äußerst selten in allen vier Probengruppen gleichzeitig auf.

Am Beispiel Natrium zeigte sich konkret, dass die Einflussfaktoren „Hämolyse“, „Lagerzeit“ und „NYHA-Klasse“ nur in jeweils einer Probengruppe einen signifikanten Einfluss ausübten. Im Serum konnte ein Unterschied der Varianzen zwischen den unauffälligen und hämolytischen Proben nachgewiesen werden, im Plasma wurde eine Vergrößerung der Messdifferenzen mit zunehmender Lagerdauer deutlich und im Serum lokal ließ sich eine Differenzzunahme bei höherer NYHA-Klasse feststellen.

Bezogen auf alle 16 Parameter fand sich bei nur einem Laborwert eine signifikante Änderung in allen Probengruppen, nämlich bei den gemessenen Triglyzeriden. Durch den Faktor „Lipämie“ wurde überall eine stark signifikante Heterogenität der Varianzen

nachgewiesen. Einen nicht ganz so starken Einfluss hatte dieser Confounder auf das Enzym GGT, in 3 von 4 Probengruppen zeigten sich Signifikanzen.

Bei Betrachtung des Einflussfaktors „Travelttime“, welcher nur in den beiden Gruppen Serum und Plasma aufgrund des Transports dieser Proben nach Berlin eine Veränderung herbeiführen hätte können, stachen die Leberenzyme GOT, GPT und GGT heraus. Bei zunehmender Transportdauer nimmt die Wertedifferenz bei GOT und GPT zu, bei GGT ab. Ebenso schienen sich diese Enzyme durch die NYHA-Klasse beeinflussen zu lassen. Blutproben von Patienten mit höherer NYHA-Klasse wiesen eine größere Messdifferenz bezogen auf diese Parameter auf.

Ein Einfluss der NYHA Klasse auf den Parameter NT-proBNP konnte in keiner Probengruppe gezeigt werden.

Die Jahreszeit der Probenabnahme stellte sich als ein Faktor heraus, der in keinem Fall einen signifikanten Einfluss ausübte.

Der Confounder „Lagerzeit“ schien nur in den seltensten Fällen eine signifikante Veränderung der Differenz zwischen Nachmessung und Basismessung zu verursachen.

5.2 Beurteilung der Ergebnisse

Nach eingehender Literaturrecherche des Autors ist dies die wohl erste Arbeit zu den in Kap. 3.6 genannten Zielen und Hypothesen. Für die insgesamt 16 verschiedenen Laborparameter zeigte sich eine völlig unterschiedliche Übereinstimmung zwischen Basis- und Nachmessung je nach Beschaffenheit des Wertes. Auffällig war, dass die Elektrolyte Natrium und Kalium ein äußerst schlechtes Bestimmtheitsmaß hatten, während sich kleine Proteine wie das hsCRP und auch das NT-proBNP als sehr stabil präsentierten. Leberenzyme wie GOT, GPT und GGT zeigten stark heterogene Stabilität, die Blutfette Triglyzeride, HDL, LDL und Gesamtcholesterin eine mittlere Stabilität. Albumin als Vertreter eines Proteins mit hohem Molekulargewicht bot ebenso wie die Nierenparameter eGFR, Kreatinin, Harnstoff und Harnsäure eine mittlere bis gute Stabilität der gemessenen Werte.

5 Diskussion

5.2 Beurteilung der Ergebnisse

Die teils extreme Abweichung der Werte einzelner Serum- oder Plasmaproben in Basismessung und Nachmessung kann auf die Qualität des Biomaterials und auf statistisch nicht vermeidbare Messfehler zurückgeführt werden (siehe auch Kap. 5.3).

Bei der Betrachtung der Abweichung einzelner Probenpaare mit Hilfe von Bland-Altman-Analysen wurden deutliche Unterschiede zu den Streudiagrammen sichtbar. Unabhängig von der Korrelation der beiden Messungen zeigten 95% der eingeschlossenen Paare eine geringe prozentuale Schwankung, durch exorbitante Ausreißer vergrößerte sich dieses 95%-Übereinstimmungsintervall allerdings erheblich. Scatterplots und Bland-Altman-Analysen differierten also in großem Maße: Parameter mit einer fast nicht vorhandenen Korrelation bewegten sich in einem geringen Schwankungsfenster in den Bland-Altman-Analysen. Parameter mit einem Korrelationskoeffizienten, der sich nahezu bei 1,0 befand (perfekte positive Korrelation), schwankten dagegen in einem viel größeren 95%-Übereinstimmungsintervall.

Die Testung von insgesamt 6 Einflussfaktoren ergab nur bei dem Blutwert Triglyzeride einen Anhalt für eine starke Auswirkung durch den Confounder „Lipämie“. Ein statistisch signifikanter Einfluss ergab sich nur in 52 von 330 Testungen und erklärt somit nicht hinreichend die beobachteten Veränderungen zwischen Basis- und Nachmessung.

Es lässt sich also feststellen, dass einige eingeschlossene Probenpaare starke Abweichungen aufwiesen, die Veränderungen für den Hauptteil der Blutproben-Pärchen sich aber in einem akzeptablen Bereich bewegten.

Boyanton et al konnten zeigen, dass sich Werte der klinischen Chemie bei Raumtemperatur schon nach 30 Minuten signifikant verändern, wenn keine Zentrifugation stattfindet und damit weiterhin Erythrozyten in Kontakt mit den jeweiligen Parametern stehen.[84] Da Blutzellen 37-50% des gesamten Blutvolumens ausmachen, wird der Metabolismus dieser Zellen von Kamlage et al als Ursache für Veränderungen von Parametern besonders im EDTA-Plasma verantwortlich gemacht. Als Konsequenz sollte sowohl das Zentrifugieren als auch die Zeit bis zum Einfrieren so kurz wie irgend möglich gehalten werden.[85] Nach Bernini et al sollte die Verarbeitungszeit von Serumproben die 30 Minuten, die für die Gerinnung gefordert werden, nur so kurz wie möglich überschreiten und niemals länger als 2 Stunden dauern.

5 Diskussion

5.2 Beurteilung der Ergebnisse

Die Lagertemperatur zwischen Blutabnahme und Einfrieren der Proben darf die gesamte Zeit über nicht mehr als 4°C betragen und die Proben sollten so bald wie möglich bei -80°C eingelagert werden.[86, 87] Su et al konnten zeigen, dass die Temperatur bei Kühlschränken in der Nähe der Tür die größte Abweichung von -80°C sowie den wärmsten Punkt im jeweiligen Kühlschrank bilden.[88] Dies legt eine Qualitätsminderung durch häufiges Öffnen der Tür nahe. Nach Haslacher et al hat das wiederholte Öffnen der Türen des Gefrierschranks keine signifikante Auswirkung auf die Probenqualität.[89] Hier muss allerdings erwähnt werden, dass das Biomaterial in dieser prospektiven Studie vor dem Einfrieren mindestens 3 Tage bei 2-10°C gelagert wurden, zudem betrug die Gesamttestungszeit nur 21 Tage.

Gislefoss et al untersuchten 3x130 Proben mit Analysen nach einmonatiger, zweijähriger und 25-jähriger Lagerung. Die Elektrolyte Natrium und Kalium zeigten sich hier nach 25 Jahren signifikant erhöht, was auf Verdunstung während der Lagerung zurückgeführt wurde. Zudem wurde vermutet, dass gerade im Falle von Kalium eine kurze Lagerung bei 4°C (<8 h) erforderlich ist, um falsch erhöhte Konzentrationen im Serum durch einen Ausfall der Na⁺-K⁺-ATPase zu vermeiden.[90, 91] Zusätzlich wurde eine signifikante Veränderung der Parameter Albumin und Harnsäure beobachtet.[91, 92]

Nach Kachhawa et al gab es nach 30 Tagen Lagerung bei -20°C keine signifikanten Änderungen der Parameter Natrium, Kalium, Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Albumin, Gesamtcholesterin und Triglyzeride, die Enzyme AST und ALT zeigten sich dagegen erniedrigt.[93, 94] Brinc et al untersuchten die Veränderungen von gängigen Serumparametern nach Lagerung bei -80°C für bis zu 13 Monate und konnten eine Stabilität der Parameter Natrium, Kalium, Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Albumin, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeride, GGT, AST und ALT aufzeigen.[95]

Abschließend konnte gezeigt werden, dass Serumenzyme (AST, ALT, GGT), Elektrolyte, das Gesamtprotein im Blut, Triglyzeride, Harnsäure und Harnstoff besonders anfällig für Werteveränderungen sind, wenn die Blutzellen nicht rechtzeitig entfernt werden.[84]

Für eine Veränderung der eGFR konnte keine Literatur zum Vergleich herangezogen werden, nach Meinung des Autors ist es bei diesem Parameter sinnvoll, sich am Laborwert Kreatinin zu orientieren. Der Parameter high-sensitivity CRP wies auch nach

mehreren Jahren Lagerung bei -80°C kaum Veränderungen und damit eine gute Stabilität auf.[96, 97] NT-proBNP als letzter gemessener Wert zeigte schon in der Vergangenheit bei -20°C eine gute Stabilität bei einer Lagerung von 4 Monaten [98] bzw. 2 Jahren.[99] Nach Nowatzke et al ergibt sich eine Haltbarkeit von mindestens 1 Jahr für NT-proBNP, falls die Lagerung bei -80°C erfolgt.[100]

Im Kontext der bisherigen Literatur lässt sich somit schlussfolgern, dass die Rahmenbedingungen vermutlich noch nicht optimal erfüllt worden sind. Die Stabilität der einzelnen Parameter in der Literatur zeigt sich konsistent mit den in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen. Während Elektrolyte und Enzyme sehr häufig von Erstmessungen abweichen, zeigen sich kleine Proteine wie die für die Herzinsuffizienz sehr wichtigen Biomarker high-sensitivity CRP und NT-proBNP über eine lange Zeit stabil.

5.3 Limitationen der Ergebnisse

Trotz Versuchen, die Beschaffung des Biomaterials so fehlerarm wie möglich zu gestalten, liegt die Vermutung nahe, dass diese Schritte noch Potential zur Optimierung bieten. Schon im makroskopisch nicht sichtbaren Bereich können sowohl eine Hämolyse als auch eine Lipämie der jeweiligen Blutprobe zu Verfälschungen bei der Laboranalyse führen.[101-103] In der hier vorliegenden Untersuchung wurden diese Effekte in 17,21% bzw. 25,11% des Gesamtkollektivs beobachtet. Eine Hämolyse kombiniert mit einer Lipämie wurde in 7,25% aller Proben beobachtet. Auch die Art der Blutentnahme bietet Raum für Verbesserungen. Das Blut wurde den Patienten ohne einheitliche Bedingungen im Rahmen diverser Studien an zwei unterschiedlichen Orten in Deutschland entnommen. Ein weiteres Problem ist die Qualitätseinstufung sämtlichen Biomaterials. Laut Studienzentrale in Leipzig wurde jede in dieser Arbeit eingeschlossene Probe mit dem höchsten Qualitätsmerkmal bewertet (siehe Kap. 3.2), was die Realität nicht abbildete, da manche Proben bereits makroskopisch sichtbar hämolysiert bzw. lipämisch waren. Zudem mussten alle Proben für die Nachmessung in andere Röhrchen des Zentrallabors Würzburg ca. 5 Sekunden zentrifugiert, umpipettiert

und 1-3 Tage bei 4°C zwischengelagert werden, was die Qualität verschlechtert haben könnte.

5.4 Klinische Relevanz der Abweichungen

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Betrachtung der Schwankungsbereiche im klinischen Kontext, die laborchemischen Referenzbereiche eines jeden Parameters sind bereits in Kapitel 2.5 dargestellt worden. Es wird nun in diesem Kapitel versucht, einen Akzeptanzbereich für jeden Parameter festzulegen, um eine Anleitung zur Verwendung des gelagerten Biomaterials zu erstellen. Bei Parameterveränderungen wird sich am aktuell gültigen Referenzbereich orientiert, bei den in Kapitel 4.2 bestimmten 95%-Übereinstimmungsintervallen wird die größte Spanne aus allen vier Probengruppen (Serum, Plasma, Serum lokal, Plasma lokal) gebildet.

Für die Elektrolyte Natrium und Kalium war eine vergleichsweise geringe Schwankungsbreite festgestellt worden. Für Natrium treten bei Werten zwischen 125 und 134 mmol/l bereits Symptome wie kognitive Einschränkungen auf [104], eine Hypernatriämie wird bei älteren Patienten oft erst bei Werten >160 mmol/l symptomatisch [105]. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz sind Kaliumwerte bis 7 mmol/l meist unproblematisch [106], eine Hypokaliämie ist bei Werten <3,5 mmol/l anzunehmen, der ideale Bereich für Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion liegt zwischen 4,5 und 5,5 mmol/l.[107] Bei Nachmessung der Elektrolyte wird empfohlen, keine hämolytischen oder lipämischen Proben zu verwenden. Für Natrium können Proben im Bereich 125 – 160 mmol/l verwendet werden, der Akzeptanzbereich für Kalium liegt zwischen 3,5 mmol/l und 7 mmol/l.

Die für eine Niereninsuffizienz unverzichtbaren Parameter Harnstoff und Kreatinin liegen mit ihrem 95%-Übereinstimmungsintervall der Messänderung zwischen 4,6 mg/dl und 126 mg/dl bzw. 0,41 mg/dl und 1,91 mg/dl, wenn man von Ausgangswerten im Normalbereich ausgeht. Da diese Werte durchaus im klinischen Alltag vorkommen können [108], kann die Messschwankung akzeptiert werden. Die aus den beiden Parametern errechnete glomeruläre Filtrationsrate kann bei möglichen Unstimmigkeiten noch einmal nachträglich berechnet werden.

Die Leberenzyme GOT, GPT können aus den verschiedensten Gründen erhöht sein, als moderate Erhöhung werden das 5- bis 10-fache des oberen Normbereichs angegeben, das Enzym GGT kann häufig das 3-fache des oberen Normbereichs betragen.[109] Das 95%-Übereinstimmungsintervall der Parameter GOT und GPT bleibt mit einer maximalen Erhöhung auf das 4,25-fache bei GPT unter dieser Erhöhung, es kann also als Akzeptanzbereich gelten. Auch bei dem Parameter GGT kann das 95%-Übereinstimmungsintervall als Akzeptanzbereich verwendet werden.

Ein Zusammenhang zwischen der Harnsäurekonzentration im Blut und dem kardiovaskulären Outcome ist schon seit längerem nachgewiesen.[110] Ein genauer Wert wird jedoch nicht verwendet, sondern nur eine Konzentration von $>7,0$ mg/dl als pathologische Erhöhung angenommen.[111] Eine Hypourikämie scheint klinisch bisher eine untergeordnete Rolle zu spielen.[112] Aus diesen Gründen scheint es vertretbar, das 95%-Übereinstimmungsintervall der Messdifferenz der Harnsäure, welches zwischen 54% und 168% der Ausgangsmessung schwankt, als Akzeptanzbereich zu etablieren.

Für die Parameter des Fettstoffwechsels Triglyzeride, Gesamtcholesterin sowie HDL und LDL sind gerade im kardiovaskulären Kontext eine pathologische Erhöhung bzw. im Fall von HDL eine pathologische Erniedrigung wichtig.[113] Bei allen vier Werten treten keine physiologisch unmöglichen Konzentrationen in der Nachmessung auf, wenn man das 95%-Übereinstimmungsintervall zugrunde legt. Dieses kann also als Akzeptanzintervall angenommen werden, die therapeutisch wichtigen Grenzwerte [114] müssen allerdings verstärkt beachtet werden.

Ein niedriges Albumin im Serum ist mit einer erhöhten Mortalität assoziiert, symptomatisch werden Werte $<2,0$ mg/dl.[115] In dieser Arbeit schwanken 95% der Messdifferenzen zwischen dem 0,82-fachen und 1,41-fachen der Ausgangsmessung. Dieser Bereich kann verwendet werden, die untere Grenze von 2,0 mg/dl wird bei einer Basismessung im Normbereich nicht unterschritten.

Abschließend wird auf die klinische Relevanz der beiden Parameter hsCRP und NT-proBNP eingegangen. Beide sind mit der Progression der Herzinsuffizienz eng verknüpft [70, 116] und spielen daher eine große Rolle in der Biomaterialbank des Deutschen

Zentrums für Herzinsuffizienz. Für das C-reaktive Protein ist bisher noch keine Obergrenze bekannt, bei Akutinfektionen kann es bis auf das 10000-fache des Ausgangswertes steigen.[117] Für den Marker NT-proBNP gibt es ebenfalls keine verlässliche Obergrenze, zudem muss dieser Wert immer im Zusammenhang mit Alter und Geschlecht interpretiert werden.[118] Als Untergrenze für Patienten mit Herzinsuffizienz setzten Waldum et al den Cutoff-Wert von <495 pg/ml [119], an diesem Wert wird sich orientiert. Als Akzeptanzbereiche werden die jeweiligen 95%-Übereinstimmungsintervalle (39% – 201% sowie 23% – 365% der Basismessung) verwendet. Als absolute Untergrenze soll für NT-proBNP dann der o. g. Wert von 495 pg/ml gelten, da die Blutproben ausschließlich von Patienten mit Herzinsuffizienz stammen.

Mit Ausnahme der Elektrolyte Natrium und Kalium kann also bei allen Parametern das 95%-Übereinstimmungsintervall aller 4 Probengruppen verwendet werden. Es wird noch einmal betont, dass eine genaue Betrachtung und Einordnung jeder Nachmessung unverzichtbar sind, um verlässliche statistische Analysen zu gewährleisten.

5.5 Ausblick: Mögliche Verbesserungen der Probenqualität?

Durch verschiedene Lösungsansätze könnte es möglich sein, die Qualität von künftig gewonnenen Blutproben zu verbessern und damit eine noch größere Stabilität aller gemessenen und für Studien wichtige Parameter zu erreichen.

In dieser Arbeit wurden die Einflussfaktoren „Lipämie“ und „Hämolyse“ nur makroskopisch durch manuelle Prüfung der Trübung oder Rotfärbung der jeweiligen Serum- oder Plasmaprobe definiert. Eine maschinelle Bestimmung des Hämolytischen Index (HI) [120] und des Hämoglobins [121] ist präziser und ebenso zu empfehlen wie die Bestimmung des Gesamtcholesterins und der Triglyzeride. Sind letztere Werte erhöht, bietet dies eine Erklärung für stärkere Abweichungen in den betroffenen Proben.[101]

Sowohl die Hämolyse als auch die Lipämie einer Probe kann mittels Streuung von sichtbarem Licht bestimmt werden; hier wird die Hämolyse oder die Trübung der zentrifugierten Probe mittels Mikro-Spektrophotometrie bei 522-750 nm

(hämolytischer Index) oder bei 700 nm (Trübung) bestimmt.[122-124] Auf diese Weise können schon kleinste Verunreinigungen des Serums bzw. des Plasmas entdeckt werden und eine genauere qualitative Einordnung aller Proben in der Biobank erfolgen. Wichtig ist auch eine einheitliche Blutentnahme mit genauen Anweisungen (Standard Operating Procedures, SOPs) für die das Blut entnehmende Person, um dabei mögliche Fehlerquellen zu minimieren. So sollten die Blutproben immer mit einer ausreichend großen Kanüle abgenommen und zeitnah, das heißt am selben Ort, in einer einzigen Maschine unter gleicher Temperatur zentrifugiert werden.[125] Lippi et al. konnten zwar keinen signifikanten Unterschied zwischen einem Butterfly-System versus einer herkömmlichen Nadel feststellen [126], bevorzugen aber die herkömmliche starre Nadel für eine standardisierte Blutentnahme.[127] Äußerst wichtig ist die Etablierung eines für das gesamte KNHI geltenden Qualitätssystems, in dem jede einzelne Probe je nach Hämolyse- oder Lipämiegrad eingeteilt werden kann. Hier legen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nahe, dass die makroskopische Bestimmung, wie bisher geschehen, nicht ausreicht und eine maschinelle Analyse zur Qualitätsverbesserung beitragen würde (siehe Kap. 5.5 oben).

6 Zusammenfassung

Herzinsuffizienz ist ein häufiges klinisches Syndrom, das insbesondere im höheren Lebensalter auftritt. Biomarker wie NT-proBNP oder hsCRP haben in Diagnose, Verlaufskontrolle und Prognose der Herzinsuffizienz einen wichtigen Stellenwert. Um für zukünftige Studien eine genügende Zahl von Patienten zu generieren, wurde in der Biomaterialbank des Kompetenznetz Herzinsuffizienz eine Möglichkeit geschaffen, Serum- und Plasmaproben bei -80°C für eine lange Zeitdauer einzulagern. In der Vergangenheit wurde bereits untersucht, wie stabil sich DNA und RNA bei diesen Temperaturen erweisen. Unklar war jedoch, ob und welche Qualitätsänderungen bei Serum- und EDTA-Proben allgemein bzw. bei bestimmten Analyten im Besonderen unter diesen Lagerungsbedingungen eintritt.

In der vorliegenden Arbeit wurden 16 Parameter analysiert, die im Rahmen der Herzinsuffizienzdiagnostik eine wichtige Rolle spielen. Alle Bioproben waren an den KNHI-Standorten Würzburg und Göttingen gewonnen worden. Ein Teil der so gewonnenen Biomaterialien wurde lokal analysiert und bei -80°C eingelagert (Erstmessung oder Basismessung), ein Teil wurde nach Berlin versandt und dort unter standardisierten Bedingungen in der KNHI-Biobank bei -80°C eingelagert. Nach 6-8 Jahren wurden gezielt Samples aus der KNHI-Biobank angefordert, nach Würzburg versandt, aufgetaut, und zum zweiten Mal gemessen (Nachmessung).

Die Messergebnisse aus Pärchen von Serum- und EDTA-Proben aus den lokalen und zentral gelagerten Bioproben wurden verglichen (insgesamt somit 4 Gruppen) und statistisch analysiert (Korrelation, Bestimmtheitsmaß R^2 , Streudiagramme, Bland-Altman-Analysen, Regression, 95%-Übereinstimmungsintervalle, Confounderanalyse). Je nach Parameter wurden zwischen 103 und 322 Probenpaare in die Analyse eingeschlossen.

Je nach Parameter zeigten sich Konsistenzen (R^2) zwischen 0,009 für Natrium und 0,979 für NT-proBNP (Tab. 13, Tab. 14). Völlig unabhängig davon zeigten sich die Veränderungen von 95% der Probenpaare weitestgehend stabil, einzelne Extremausreißer verursachten allerdings eine deutliche Ausweitung des Übereinstimmungsintervalls (Tab. 15 bis Tab. 22). Relevante Einflüsse auf diese

Veränderungen konnten im Hinblick auf die vorab festgelegten potenziellen Störgrößen (Confounder) nur bei dem Parameter Triglyzeride festgestellt werden (Tab. 25 bis Tab. 28). Als Confounder waren dabei präspezifiziert: makroskopisch feststellbare Hämolyse oder Lipämie in den Proben, NYHA-Klasse, Jahreszeit der Probenabnahme, Einlagerungsdauer, oder die Dauer bis zum Einfrieren der einzelnen Proben nach Probenversand zur zentralen KNHI-Biobank in Berlin („Traveltime“).

Es konnte gezeigt werden, dass die Lagerung von Biomaterial bei -80°C sinnvoll ist, um in der Zukunft eine genügende Zahl an Patientenwerten für Studien und Analysen bezüglich des Krankheitsbilds Herzinsuffizienz zur Verfügung zu haben. Die Qualität gerade der prognostisch wichtigen Marker hsCRP und NT-proBNP ist als sehr gut zu bewerten, was es dem KNHI ermöglichen dürfte, fast alle eingelagerten Proben zu nutzen. Es wurden verschiedene Akzeptanzbereiche definiert, die sich bei allen Parametern mit Ausnahme von Natrium und Kalium aus den 95%-Übereinstimmungsintervallen der durchgeführten Bland-Altman-Analysen bilden (Kap. 5.4).

Bezüglich der Qualität lässt sich feststellen, dass gerade bei der Blutentnahme am Patienten und der Zentrifugation des Bluts noch Verbesserungspotential besteht. Hier sollten einheitliche und standardisierte Abläufe eingeführt werden, um die Qualitätsminderung der Biosamples im Verlauf zu minimieren. Außerdem sollte jede Blutprobe vor Einlagerung systematisch makroskopisch, im besten Fall laboranalytisch, bezüglich Veränderungen wie Hämolyse und Lipämie überprüft werden und anschließend in einem zentralen Qualitätsregister eingeordnet werden. Dies wird in Zukunft ermöglichen, die Probenzahl an die geforderten Qualitätsansprüche anzupassen und dem jeweils besten Studienmodell gerecht zu werden.

7 Verzeichnisse

7.1 Literaturverzeichnis

1. Field, A.P.a., *Discovering statistics using SPSS : (and sex and drugs and rock 'n' roll)*. Third edition. ed. 2013.
2. Lecak, J., Scott, K., Young, C., Hannon, J., and Acker, J.P., *Evaluation of red blood cells stored at -80 degrees C in excess of 10 years*. *Transfusion*, 2004. **44**(9): p. 1306-13.
3. Rolandsson, O., Marklund, S.L., Norberg, M., Agren, A., and Hagg, E., *Hemoglobin A1c can be analyzed in blood kept frozen at -80 degrees C and is not commonly affected by hemolysis in the general population*. *Metabolism*, 2004. **53**(11): p. 1496-9.
4. Pereira, M., Azevedo, A., Severo, M., and Barros, H., *Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide after storage at -20 degrees C or -80 degrees C*. *Clin Chem Lab Med*, 2008. **46**(8): p. 1171-4.
5. Doumatey, A.P., Zhou, J., Adeyemo, A., and Rotimi, C., *High sensitivity C-reactive protein (Hs-CRP) remains highly stable in long-term archived human serum*. *Clinical biochemistry*, 2014. **47**(4): p. 315-318.
6. Devanapalli, B., Bermingham, M.A., and Mahajan, D., *Effect of long-term storage at -80 degrees C on the various lipid parameters in stored plasma samples*. *Clin Chim Acta*, 2002. **322**(1-2): p. 179-81.
7. Ponikowski, P., Voors, A.A., Anker, S.D., Bueno, H., Cleland, J.G., Coats, A.J., Falk, V., Gonzalez-Juanatey, J.R., Harjola, V.P., Jankowska, E.A., Jessup, M., Linde, C., Nihoyannopoulos, P., Parissis, J.T., Pieske, B., Riley, J.P., Rosano, G.M., Ruilope, L.M., Ruschitzka, F., Rutten, F.H., van der Meer, P., Authors/Task Force, M., and Document, R., *2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC*. *Eur J Heart Fail*, 2016. **18**(8): p. 891-975.
8. Stoerk, S., et al, *In Press*. *Clinical Research in Cardiology*, 2017.
9. Mosterd, A. and Hoes, A.W., *Clinical epidemiology of heart failure*. *Heart*, 2007. **93**(9): p. 1137-46.
10. Bleumink, G.S., Knetsch, A.M., Sturkenboom, M.C., Straus, S.M., Hofman, A., Deckers, J.W., Witteman, J.C., and Stricker, B.H., *Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study*. *Eur Heart J*, 2004. **25**(18): p. 1614-9.
11. Herold, G., *Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung : unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung : mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2015: Herold, Gerd.
12. Ceia, F., Fonseca, C., Mota, T., Morais, H., Matias, F., de Sousa, A., Oliveira, A., and Investigators, E., *Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study*. *Eur J Heart Fail*, 2002. **4**(4): p. 531-9.

13. Raphael, C., Briscoe, C., Davies, J., Ian Whinnett, Z., Manisty, C., Sutton, R., Mayet, J., and Francis, D.P., *Limitations of the New York Heart Association functional classification system and self-reported walking distances in chronic heart failure*. *Heart*, 2007. **93**(4): p. 476-82.
14. Association, C.C.o.t.N.Y.H., *Diseases of the heart and blood vessels: nomenclature and criteria for diagnosis*. 1964: Little Brown.
15. Angermann, C.E. and Ertl, G., *[Natriuretic peptides--new diagnostic markers in heart disease]*. *Herz*, 2004. **29**(6): p. 609-17.
16. Rahimi, K., Bennett, D., Conrad, N., Williams, T.M., Basu, J., Dwight, J., Woodward, M., Patel, A., McMurray, J., and MacMahon, S., *Risk prediction in patients with heart failure: a systematic review and analysis*. *JACC Heart Fail*, 2014. **2**(5): p. 440-6.
17. Lupon, J., de Antonio, M., Vila, J., Penafiel, J., Galan, A., Zamora, E., Urrutia, A., and Bayes-Genis, A., *Development of a novel heart failure risk tool: the barcelona bio-heart failure risk calculator (BCN bio-HF calculator)*. *PLoS One*, 2014. **9**(1): p. e85466.
18. Pocock, S.J., Ariti, C.A., McMurray, J.J., Maggioni, A., Kober, L., Squire, I.B., Swedberg, K., Dobson, J., Poppe, K.K., Whalley, G.A., Doughty, R.N., and Meta-Analysis Global Group in Chronic Heart, F., *Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies*. *Eur Heart J*, 2013. **34**(19): p. 1404-13.
19. Mozaffarian, D., Anker, S.D., Anand, I., Linker, D.T., Sullivan, M.D., Cleland, J.G., Carson, P.E., Maggioni, A.P., Mann, D.L., Pitt, B., Poole-Wilson, P.A., and Levy, W.C., *Prediction of mode of death in heart failure: the Seattle Heart Failure Model*. *Circulation*, 2007. **116**(4): p. 392-8.
20. Levy, W.C., Mozaffarian, D., Linker, D.T., Sutradhar, S.C., Anker, S.D., Cropp, A.B., Anand, I., Maggioni, A., Burton, P., Sullivan, M.D., Pitt, B., Poole-Wilson, P.A., Mann, D.L., and Packer, M., *The Seattle Heart Failure Model: prediction of survival in heart failure*. *Circulation*, 2006. **113**(11): p. 1424-33.
21. Ertl, G., Störk, S., and Börste, R., *Kompetenznetz Herzinsuffizienz*. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 2016. **59**(4): p. 506-513.
22. Posch, M.G., Gelbrich, G., Pieske, B., Lehmkuhl, E., Angermann, C.E., Stork, S., Neumann, T., Dungen, H.D., Scheffold, T., Muller-Tasch, T., Maisch, B., Rauchhaus, M., Dietz, R., Ozcelik, C., and Competence Network of Heart, F., *The Biomaterialbank of the German Competence Network of Heart Failure (CNHF) is a valuable resource for biomedical and genetic research*. *Int J Cardiol*, 2009. **136**(1): p. 108-11.
23. Mehrhof, F., Löffler, M., Gelbrich, G., Ozcelik, C., Posch, M., Hense, H.W., Keil, U., Scheffold, T., Schunkert, H., Angermann, C., Ertl, G., Jahns, R., Pieske, B., Wachter, R., Edelmann, F., Wollert, K.C., Maisch, B., Pankuweit, S., Erbel, R., Neumann, T., Herzog, W., Katus, H., Muller-Tasch, T., Zugck, C., Dungen, H.D., Regitz-Zagrosek, V., Lehmkuhl, E., Stork, S., Siebert, U., Wasem, J., Neumann, A., Gohler, A., Anker, S.D., Kohler, F., Mockel, M., Osterziel, K.J., Dietz, R., Rauchhaus, M., and Competence Network Heart, F., *A network against failing hearts--introducing the German "Competence Network Heart Failure"*. *Int J Cardiol*, 2010. **145**(1): p. 135-8.
24. *Schlüsselergebnisse, Netzwerkressourcen, Forschungsperspektiven*. 2012 09/03/2017]; Available from: <http://knhi.de/wp-content/uploads/2013/06/KNHI-Broschuere.pdf>.
25. Waldmüller, S., Erdmann, J., Binner, P., Gelbrich, G., Pankuweit, S., Geier, C., Timmermann, B., Haremza, J., Perrot, A., Scheer, S., Wachter, R., Schulze-Waltrup, N., Dermintzoglou, A., Schonberger, J., Zeh, W., Jurmann, B., Brodherr, T., Borgel, J., Farr,

- M., Milting, H., Blankenfeldt, W., Reinhardt, R., Ozcelik, C., Osterziel, K.J., Loeffler, M., Maisch, B., Regitz-Zagrosek, V., Schunkert, H., Scheffold, T., and German Competence Network Heart, F., *Novel correlations between the genotype and the phenotype of hypertrophic and dilated cardiomyopathy: results from the German Competence Network Heart Failure*. Eur J Heart Fail, 2011. **13**(11): p. 1185-92.
26. Klinke, R., Pape, H.-C., Kurtz, A., and Silbernagl, S., *Physiologie*. 2009: Georg Thieme Verlag.
27. Deubner, N., Berliner, D., Frey, A., Guder, G., Brenner, S., Fenske, W., Allolio, B., Ertl, G., Angermann, C.E., and Stork, S., *Dysnatraemia in heart failure*. Eur J Heart Fail, 2012. **14**(10): p. 1147-54.
28. Hillege, H.L., Girbes, A.R.J., de Kam, P.J., Boomsma, F., de Zeeuw, D., Charlesworth, A., Hampton, J.R., and van Veldhuisen, D.J., *Renal Function, Neurohormonal Activation, and Survival in Patients With Chronic Heart Failure*. Circulation, 2000. **102**(2): p. 203-210.
29. Ruttmann, E., Brant, L.J., Concin, H., Diem, G., Rapp, K., Ulmer, H., Vorarlberg Health, M., and Promotion Program Study, G., *Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality: an epidemiological investigation in a cohort of 163,944 Austrian adults*. Circulation, 2005. **112**(14): p. 2130-7.
30. Poelzl, G., Ess, M., Mussner-Seeber, C., Pachinger, O., Frick, M., and Ulmer, H., *Liver dysfunction in chronic heart failure: prevalence, characteristics and prognostic significance*. Eur J Clin Invest, 2012. **42**(2): p. 153-63.
31. Uthamalingam, S., Kandala, J., Daley, M., Patvardhan, E., Capodilupo, R., Moore, S.A., and Januzzi, J.L., Jr., *Serum albumin and mortality in acutely decompensated heart failure*. Am Heart J, 2010. **160**(6): p. 1149-55.
32. Gotsman, I., Keren, A., Lotan, C., and Zwas, D.R., *Changes in uric acid levels and allopurinol use in chronic heart failure: association with improved survival*. J Card Fail, 2012. **18**(9): p. 694-701.
33. Anker, S.D., Doehner, W., Rauchhaus, M., Sharma, R., Francis, D., Knosalla, C., Davos, C.H., Cicoira, M., Shamim, W., Kemp, M., Segal, R., Osterziel, K.J., Leyva, F., Hetzer, R., Ponikowski, P., and Coats, A.J., *Uric acid and survival in chronic heart failure: validation and application in metabolic, functional, and hemodynamic staging*. Circulation, 2003. **107**(15): p. 1991-7.
34. Sharrett, A.R., Ballantyne, C., Coady, S., Heiss, G., Sorlie, P., Catellier, D., and Patsch, W., *Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein (a), apolipoproteins AI and B, and HDL density subfractions*. Circulation, 2001. **104**(10): p. 1108-1113.
35. Sarwar, N., Danesh, J., Eiriksdottir, G., Sigurdsson, G., Wareham, N., Bingham, S., Boekholdt, S.M., Khaw, K.-T., and Gudnason, V., *Triglycerides and the risk of coronary heart disease*. Circulation, 2007. **115**(4): p. 450-458.
36. Okuyama, H., Langsjoen, P.H., Hamazaki, T., Ogushi, Y., Hama, R., Kobayashi, T., and Uchino, H., *Statins stimulate atherosclerosis and heart failure: pharmacological mechanisms*. Expert Review of Clinical Pharmacology, 2015. **8**(2): p. 189-199.
37. Rauchhaus, M., Clark, A.L., Doehner, W., Davos, C., Bolger, A., Sharma, R., Coats, A.J.S., and Anker, S.D., *The relationship between cholesterol and survival in patients with chronic heart failure*. Journal of the American College of Cardiology, 2003. **42**(11): p. 1933-1940.

38. Windram, J.D., Loh, P.H., Rigby, A.S., Hanning, I., Clark, A.L., and Cleland, J.G.F., *Relationship of high-sensitivity C-reactive protein to prognosis and other prognostic markers in outpatients with heart failure*. American Heart Journal, 2007. **153**(6): p. 1048-1055.
39. Dörner, K., *Taschenlehrbuch Klinische Chemie und Hämatologie*. 2013: Thieme.
40. Schreiber, H.D.B.R.J.H.S.S., *LaborMedizin*. 2011: Schattauer.
41. Burck, H.C., [*Electrolyte content of erythrocytes in the diagnosis of heart failure*]. Verh Dtsch Ges Inn Med, 1971. **77**: p. 140-4.
42. Wessels, F., Samizadeh, A., and Losse, H., *Diagnose der Digitalisintoxikation durch Bestimmung der Erythrocyten-Elektrolyte*. Klinische Wochenschrift, 1974. **52**(9): p. 451-453.
43. Heinrich, P.C., Müller, M., and Graeve, L., *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. 2014: Springer Berlin Heidelberg.
44. Liuzzo, G., Biasucci, L.M., Gallimore, J.R., Grillo, R.L., Rebuffi, A.G., Pepys, M.B., and Maseri, A., *The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina*. N Engl J Med, 1994. **331**(7): p. 417-24.
45. Berk, B.C., Weintraub, W.S., and Alexander, R.W., *Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease*. Am J Cardiol, 1990. **65**(3): p. 168-72.
46. Ridker, P.M., *A Test in Context: High-Sensitivity C-Reactive Protein*. J Am Coll Cardiol, 2016. **67**(6): p. 712-23.
47. Emerging Risk Factors, C., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Lowe, G., Pepys, M.B., Thompson, S.G., Collins, R., and Danesh, J., *C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis*. Lancet, 2010. **375**(9709): p. 132-40.
48. Ridker, P.M., Rifai, N., Pfeffer, M.A., Sacks, F.M., Moye, L.A., Goldman, S., Flaker, G.C., and Braunwald, E., *Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators*. Circulation, 1998. **98**(9): p. 839-44.
49. Ridker, P.M., Rifai, N., Clearfield, M., Downs, J.R., Weis, S.E., Miles, J.S., Gotto, A.M., Jr., and Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study, I., *Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events*. N Engl J Med, 2001. **344**(26): p. 1959-65.
50. Ridker, P.M., Danielson, E., Fonseca, F.A., Genest, J., Gotto, A.M., Jr., Kastelein, J.J., Koenig, W., Libby, P., Lorenzatti, A.J., MacFadyen, J.G., Nordestgaard, B.G., Shepherd, J., Willerson, J.T., Glynn, R.J., and Group, J.S., *Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein*. N Engl J Med, 2008. **359**(21): p. 2195-207.
51. Yin, W.H., Chen, J.W., Jen, H.L., Chiang, M.C., Huang, W.P., Feng, A.N., Young, M.S., and Lin, S.J., *Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure*. Am Heart J, 2004. **147**(5): p. 931-8.
52. McMurray, J.J., Kjekshus, J., Gullestad, L., Dunselman, P., Hjalmarsen, A., Wedel, H., Lindberg, M., Waagstein, F., Grande, P., Hradec, J., Kamensky, G., Korewicki, J., Kuusi, T., Mach, F., Ranjith, N., Wikstrand, J., and Group, C.S., *Effects of statin therapy according to plasma high-sensitivity C-reactive protein concentration in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA): a retrospective analysis*. Circulation, 2009. **120**(22): p. 2188-96.

53. Luchner, A., Holmer, S., Schunkert, H., and Riegger, G.A., *Bedeutung der Herzinsuffizienzmarker BNP und NT-proBNP für die Klinik*. DEUTSCHES ARZTEBLATT-KOLN-, 2003. **100**(50): p. 2577-2583.
54. Aburaya, M., Hino, J., Minamino, N., Kangawa, K., and Matsuo, H., *Isolation and identification of rat brain natriuretic peptides in cardiac atrium*. Biochemical and biophysical research communications, 1989. **163**(1): p. 226-232.
55. Sudoh, T., Kangawa, K., Minamino, N., and Matsuo, H., *A new natriuretic peptide in porcine brain*. 1988.
56. Nakagawa, O., Ogawa, Y., Itoh, H., Suga, S., Komatsu, Y., Kishimoto, I., Nishino, K., Yoshimasa, T., and Nakao, K., *Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload*. Journal of Clinical Investigation, 1995. **96**(3): p. 1280.
57. Hunt, P., Richards, A., Nicholls, M., Yandle, T., Doughty, R., and Espiner, E., *Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment*. Clinical endocrinology, 1997. **47**(3): p. 287-296.
58. Daniels, L.B. and Maisel, A.S., *Natriuretic peptides*. Journal of the American College of Cardiology, 2007. **50**(25): p. 2357-2368.
59. Levin, E.R., Gardner, D.G., and Samson, W.K., *Natriuretic peptides*. N Engl J Med, 1998. **339**(5): p. 321-8.
60. Roberts, E., Ludman, A.J., Dworzynski, K., Al-Mohammad, A., Cowie, M.R., McMurray, J.J., Mant, J., and Failure, N.G.D.G.f.A.H., *The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting*. BMJ, 2015. **350**: p. h910.
61. Maisel, A., Mueller, C., Adams, K., Anker, S.D., Aspromonte, N., Cleland, J.G., Cohen-Solal, A., Dahlstrom, U., DeMaria, A., and Di Somma, S., *State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice*. European journal of heart failure, 2008. **10**(9): p. 824-839.
62. de Lemos, J.A., McGuire, D.K., Khera, A., Das, S.R., Murphy, S.A., Omland, T., and Drazner, M.H., *Screening the population for left ventricular hypertrophy and left ventricular systolic dysfunction using natriuretic peptides: results from the Dallas Heart Study*. Am Heart J, 2009. **157**(4): p. 746-53 e2.
63. Sugiura, T., Takase, H., Toriyama, T., Goto, T., Ueda, R., and Dohi, Y., *Circulating levels of myocardial proteins predict future deterioration of congestive heart failure*. J Card Fail, 2005. **11**(7): p. 504-9.
64. Vickery, S., Price, C.P., John, R.I., Abbas, N.A., Webb, M.C., Kempson, M.E., and Lamb, E.J., *B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy*. Am J Kidney Dis, 2005. **46**(4): p. 610-20.
65. Januzzi, J.L., Jr., Camargo, C.A., Anwaruddin, S., Baggish, A.L., Chen, A.A., Krauser, D.G., Tung, R., Cameron, R., Nagurney, J.T., Chae, C.U., Lloyd-Jones, D.M., Brown, D.F., Foran-Melanson, S., Sluss, P.M., Lee-Lewandrowski, E., and Lewandrowski, K.B., *The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study*. Am J Cardiol, 2005. **95**(8): p. 948-54.
66. Maisel, A.S., Krishnaswamy, P., Nowak, R.M., McCord, J., Hollander, J.E., Duc, P., Omland, T., Storrow, A.B., Abraham, W.T., Wu, A.H., Clopton, P., Steg, P.G., Westheim, A., Knudsen, C.W., Perez, A., Kazanegra, R., Herrmann, H.C., McCullough, P.A., and

- Breathing Not Properly Multinational Study, I., *Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure*. N Engl J Med, 2002. **347**(3): p. 161-7.
67. Cleland, J.G., Taylor, J., Freemantle, N., Goode, K.M., Rigby, A.S., and Tendera, M., *Relationship between plasma concentrations of N-terminal pro brain natriuretic peptide and the characteristics and outcome of patients with a clinical diagnosis of diastolic heart failure: a report from the PEP-CHF study*. Eur J Heart Fail, 2012. **14**(5): p. 487-94.
68. Lainchbury, J.G., Campbell, E., Frampton, C.M., Yandle, T.G., Nicholls, M.G., and Richards, A.M., *Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(4): p. 728-35.
69. Masson, S., Latini, R., Anand, I.S., Vago, T., Angelici, L., Barlera, S., Missov, E.D., Clerico, A., Tognoni, G., and Cohn, J.N., *Direct comparison of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in a large population of patients with chronic and symptomatic heart failure: the Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) data*. Clinical chemistry, 2006. **52**(8): p. 1528-1538.
70. Palazzuoli, A., Gallotta, M., Quatrini, I., and Nuti, R., *Natriuretic peptides(BNP and NT-proBNP): measurement and relevance in heart failure*. Vascular health and risk management, 2010. **6**(1): p. 411-418.
71. Pfister, R., Scholz, M., Wielckens, K., Erdmann, E., and Schneider, C., *Use of NT-proBNP in routine testing and comparison to BNP*. European journal of heart failure, 2004. **6**(3): p. 289-293.
72. Angermann, C.E., Stork, S., Gelbrich, G., Faller, H., Jahns, R., Frantz, S., Loeffler, M., Ertl, G., and Competence Network Heart, F., *Mode of action and effects of standardized collaborative disease management on mortality and morbidity in patients with systolic heart failure: the Interdisciplinary Network for Heart Failure (INH) study*. Circ Heart Fail, 2012. **5**(1): p. 25-35.
73. Guder, G., Gelbrich, G., Edelmann, F., Wachter, R., Pieske, B., Pankuweit, S., Maisch, B., Prettin, C., Brenner, S., Morbach, C., Berliner, D., Deubner, N., Ertl, G., Angermann, C.E., Stork, S., and Competence Network Heart Failure, G., *Reverse epidemiology in different stages of heart failure*. Int J Cardiol, 2015. **184**: p. 216-24.
74. Edelmann, F., Stahrenberg, R., Polzin, F., Kocksammer, A., Dungen, H.D., Duvinage, A., Binder, L., Kunde, J., Scherer, M., Gelbrich, G., Hasenfuss, G., Pieske, B., Wachter, R., and Herrmann-Lingen, C., *Impaired physical quality of life in patients with diastolic dysfunction associates more strongly with neurohumoral activation than with echocardiographic parameters: quality of life in diastolic dysfunction*. Am Heart J, 2011. **161**(4): p. 797-804.
75. Lindner, M., *Kompetenznetz Herzinsuffizienz: Schlüsselergebnisse, Netzwerkressourcen, Forschungsperspektiven*. 2012. p. 9-13.
76. <http://richmondscientific.com/>. 2003 letzter Aufruf: 09/03/2017].
77. <http://www.thermofischer.com>. 2013 letzter Aufruf : 09/03/2017].
78. <https://www.roche.de/diagnostics/loesungen-fuer-labore/klinische-chemie-immundiagnostik.html>. 2012 letzter Aufruf: 09/03/2017].
79. Burton, P.R., Hansell, A.L., Fortier, I., Manolio, T.A., Khoury, M.J., Little, J., and Elliott, P., *Size matters: just how big is BIG?Quantifying realistic sample size requirements for*

- human genome epidemiology*. International Journal of Epidemiology, 2009. **38**(1): p. 263-273.
80. Heins, M., Heil, W., and Withold, W., *Storage of Serum or Whole Blood Samples? Effects of Time and Temperature on 22 Serum Analytes*, in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1995. p. 231.
81. Herpel, E., Schmitt, S., and Kiehntopf, M., *Qualität von Biomaterialien im Biobanking von Flüssig- und Gewebeproben*. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz, 2016. **59**(3): p. 325-335.
82. Störk, S., Hense, H.W., Zentgraf, C., Uebelacker, I., Jahns, R., Ertl, G., and Angermann, C.E., *Pharmacotherapy according to treatment guidelines is associated with lower mortality in a community-based sample of patients with chronic heart failure A prospective cohort study*. European journal of heart failure, 2008. **10**(12): p. 1236-1245.
83. Bland, J.M. and Altman, D.G., *Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement*. Lancet, 1986. **1**(8476): p. 307-10.
84. Boyanton, B.L. and Blick, K.E., *Stability Studies of Twenty-Four Analytes in Human Plasma and Serum*. Clinical Chemistry, 2002. **48**(12): p. 2242-2247.
85. Kamlage, B., Maldonado, S.G., Bethan, B., Peter, E., Schmitz, O., Liebenberg, V., and Schatz, P., *Quality Markers Addressing Preanalytical Variations of Blood and Plasma Processing Identified by Broad and Targeted Metabolite Profiling*. Clinical Chemistry, 2014. **60**(2): p. 399-412.
86. Bernini, P., Bertini, I., Luchinat, C., Nincheri, P., Staderini, S., and Turano, P., *Standard operating procedures for pre-analytical handling of blood and urine for metabolomic studies and biobanks*. Journal of Biomolecular NMR, 2011. **49**(3): p. 231-243.
87. Anton, G., Wilson, R., Yu, Z.H., Prehn, C., Zukunft, S., Adamski, J., Heier, M., Meisinger, C., Romisch-Margl, W., Wang-Sattler, R., Hveem, K., Wolfenbuttel, B., Peters, A., Kastenmuller, G., and Waldenberger, M., *Pre-analytical sample quality: metabolite ratios as an intrinsic marker for prolonged room temperature exposure of serum samples*. PLoS One, 2015. **10**(3): p. e0121495.
88. Su, S.C., Garbers, S., Rieper, T.D., and Toniolo, P., *Temperature variations in upright mechanical freezers*. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 1996. **5**(2): p. 139-140.
89. Haslacher, H., Szekeres, T., Gerner, M., Ponweiser, E., Repl, M., Wagner Oswald, F., and Perkmann, T., *The effect of storage temperature fluctuations on the stability of biochemical analytes in blood serum*, in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016.
90. Donnelly, J.G., Soldin, S.J., Nealon, D.A., and Hicks, J.M., *Stability of Twenty-Five Analytes in Human Serum at 22d°C, 4d°C, and -20d°C*. Pediatric Pathology & Laboratory Medicine, 1995. **15**(6): p. 869-874.
91. Gislefoss, R.E., Grimsrud, T.K., and Mørkrid, L., *Long-term stability of serum components in the Janus Serum Bank*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 2008. **68**(5): p. 402-409.
92. Gislefoss Randi, E., Grimsrud Tom, K., and Mørkrid, L., *Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank*, in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009. p. 596.

93. Cuhadar, S., Koseoglu, M., Atay, A., and Dirican, A., *The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples*. *Biochemia medica*, 2013. **23**(1): p. 70-77.
94. Kachhawa, K., Kachhawa, P., Varma, M., Behera, R., Agrawal, D., and Kumar, S., *Study of the stability of various biochemical analytes in samples stored at different predefined storage conditions at an accredited laboratory of India*. *Journal of Laboratory Physicians*, 2017. **9**(1): p. 11.
95. Brinc, D., Chan, M.K., Venner, A.A., Pasic, M.D., Colantonio, D., Kyriakopolou, L., and Adeli, K., *Long-term stability of biochemical markers in pediatric serum specimens stored at - 80 °C: A CALIPER Substudy*. *Clinical Biochemistry*, 2012. **45**(10-11): p. 816-826.
96. Ishikawa, S., Kayaba, K., Gotoh, T., Nakamura, Y., Kario, K., Ito, Y., and Kajii, E., *Comparison of C-reactive protein levels between serum and plasma samples on long-term frozen storage after a 13.8 year interval: the JMS Cohort Study*. *Journal of epidemiology/Japan Epidemiological Association*, 2007. **17**(4): p. 120-124.
97. Nilsson, T.K., Boman, K., Jansson, J.-H., Thøgersen, A.M., Berggren, M., Broberg, A., and Granlund, A., *Comparison of soluble thrombomodulin, von Willebrand factor, tPA/PAI-1 complex, and high-sensitivity CRP concentrations in serum, EDTA plasma, citrated plasma, and acidified citrated plasma (Stabilyte™) stored at -70 °C for 8-11 years*. *Thrombosis Research*, 2005. **116**(3): p. 249-254.
98. Mueller, T., Gegenhuber, A., Dieplinger, B., Poelz, W., and Haltmayer, M., *Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide (BNP) and amino terminal proBNP (NT-proBNP) in frozen plasma samples*. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2004. **42**(8): p. 942-944.
99. Cauliez, B., Guignery, J., Marinier, S., Mariau, I., and Lavoigne, A., *Two-year stability of NT-proBNP in frozen samples using the Roche Elecsys system*. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008. **45**(3): p. 318-319.
100. Nowatzke, W.L. and Cole, T.G., *Stability of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide after Storage Frozen for One Year and after Multiple Freeze-Thaw Cycles*. *Clinical Chemistry*, 2003. **49**(9): p. 1560-1562.
101. Walker, P.L. and Crook, M.A., *Lipaemia: causes, consequences and solutions*. *Clin Chim Acta*, 2013. **418**: p. 30-2.
102. Lippi, G., Blanckaert, N., Bonini, P., Green, S., Kitchen, S., Palicka, V., Vassault, A.J., and Plebani, M., *Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories*. *Clin Chem Lab Med*, 2008. **46**(6): p. 764-72.
103. Sonntag, O., *Hemolysis as an Interference Factor in Clinical Chemistry*, in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1986. p. 127.
104. Sterns, R.H., Silver, S.M., and Hix, J.K., *Treatment of hyponatremia*, in *Hyponatremia*. 2013, Springer. p. 221-250.
105. Adrogue, H.J. and Madias, N.E., *Hypernatremia*. *New England Journal of Medicine*, 2000. **342**(20): p. 1493-1499.
106. Delgado-Almeida, A. and Delgado-Leon, C., *Changes in plasma ionized calcium and RBC K content in severe hyperkalemia: new electrocardiographic concept*. 2006, Am Heart Assoc.

107. Bielecka-Dabrowa, A., Mikhailidis, D.P., Jones, L., Rysz, J., Aronow, W.S., and Banach, M., *The meaning of hypokalemia in heart failure*. International journal of cardiology, 2012. **158**(1): p. 12-17.
108. Liu, K.D., Himmelfarb, J., Paganini, E., Ikizler, T.A., Soroko, S.H., Mehta, R.L., and Chertow, G.M., *Timing of initiation of dialysis in critically ill patients with acute kidney injury*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2006. **1**(5): p. 915-919.
109. Giannini, E.G., Testa, R., and Savarino, V., *Liver enzyme alteration: a guide for clinicians*. Canadian medical association journal, 2005. **172**(3): p. 367-379.
110. Culleton, B.F., Larson, M.G., Kannel, W.B., and Levy, D., *Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: The framingham heart study*. Annals of Internal Medicine, 1999. **131**(1): p. 7-13.
111. Chen, J.H., Chuang, S.Y., Chen, H.J., Yeh, W.T., and Pan, W.H., *Serum uric acid level as an independent risk factor for all-cause, cardiovascular, and ischemic stroke mortality: a Chinese cohort study*. Arthritis Rheum, 2009. **61**(2): p. 225-32.
112. Ogino, K., Hisatome, I., Saitoh, M., Miyamoto, J., Ishiko, R., Hasegawa, J., Kotake, H., and Mashiba, H., *Clinical significance of hypouricemia in hospitalized patients*. J Med, 1991. **22**(2): p. 76-82.
113. Manninen, V., Tenkanen, L., Koskinen, P., Huttunen, J.K., Manttari, M., Heinonen, O.P., and Frick, M.H., *Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment*. Circulation, 1992. **85**(1): p. 37-45.
114. Catapano, A.L., Graham, I., De Backer, G., Wiklund, O., Chapman, M.J., Drexel, H., Hoes, A.W., Jennings, C.S., Landmesser, U., Pedersen, T.R., Reiner, Ž., Riccardi, G., Taskinen, M.-R., Tokgozoglul, L., Verschuren, W.M.M., Vlachopoulos, C., Wood, D.A., and Zamorano, J.L., *2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias*. European Heart Journal, 2016. **37**(39): p. 2999-3058.
115. Phillips, A., Shaper, A.G., and Whincup, P.H., *Association between serum albumin and mortality from cardiovascular disease, cancer, and other causes*. Lancet, 1989. **2**(8677): p. 1434-6.
116. Anand, I.S., Latini, R., Florea, V.G., Kuskowski, M.A., Rector, T., Masson, S., Signorini, S., Mocarelli, P., Hester, A., Glazer, R., and Cohn, J.N., *C-Reactive Protein in Heart Failure. Prognostic Value and the Effect of Valsartan*, 2005. **112**(10): p. 1428-1434.
117. Gabay, C. and Kushner, I., *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. N Engl J Med, 1999. **340**(6): p. 448-54.
118. Raymond, I., Groenning, B.A., Hildebrandt, P.R., Nilsson, J.C., Baumann, M., Trawinski, J., and Pedersen, F., *The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population*. Heart, 2003. **89**(7): p. 745-751.
119. Waldum, B., Stubnova, V., Westheim, A.S., Omland, T., Grundtvig, M., and Os, I., *Prognostic utility of B-type natriuretic peptides in patients with heart failure and renal dysfunction*. Clinical Kidney Journal, 2013. **6**(1): p. 55-62.
120. Soderberg, J., Jonsson, P.A., Wallin, O., Grankvist, K., and Hultdin, J., *Haemolysis index--an estimate of preanalytical quality in primary health care*. Clin Chem Lab Med, 2009. **47**(8): p. 940-4.
121. Plebani, M. and Lippi, G., *Hemolysis index: quality indicator or criterion for sample rejection?* Clin Chem Lab Med, 2009. **47**(8): p. 899-902.

7 Verzeichnisse

122. Kroll, M.H., *Evaluating interference caused by lipemia*. Clin Chem, 2004. **50**(11): p. 1968-9.
123. Pozharski, E.V., McWilliams, L., and MacDonald, R.C., *Relationship between Turbidity of Lipid Vesicle Suspensions and Particle Size*. Analytical Biochemistry, 2001. **291**(1): p. 158-162.
124. Knabbe, C., Ratge, D., Christen, K., and Sonntag, O., *Evaluation of sample integrity measurement with VITROS® 5, 1 FS chemistry system/Evaluation der Messung der Probenintegrität am VITROS® 5, 1 FS*. LaboratoriumsMedizin, 2009. **33**(1): p. 33-38.
125. Lippi, G., Salvagno, G.L., Montagnana, M., Franchini, M., and Guidi, G.C., *Phlebotomy issues and quality improvement in results of laboratory testing*. Clin Lab, 2006. **52**(5-6): p. 217-30.
126. Lippi, G., Salvagno, G.L., Brocco, G., and Guidi, G.C., *Preanalytical variability in laboratory testing: influence of the blood drawing technique*. Clin Chem Lab Med, 2005. **43**(3): p. 319-25.
127. Lippi, G., Salvagno, G.L., Montagnana, M., Brocco, G., and Guidi, G.C., *Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing*. Clin Chem Lab Med, 2006. **44**(3): p. 311-6.

Danksagung

Danksagung

Ich möchte mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Stefan Störk für die Anregung zu dem sehr interessanten Thema meiner Dissertation und die Betreuung bedanken.

Des Weiteren gilt mein besonderer Dank Herrn Andreas Nätscher für die Hilfe bei der Auswertung und Sortierung aller eingeschlossenen Proben. Ich bedaure sehr, dass Herr Nätscher das finale Resultat dieser Dissertation nicht mehr erleben konnte.

Herrn Dr. Mathias Kaspar danke ich für die Hilfe bei der Nutzung des Programms SPSS sowie für die hilfreichen Kommentare rund um das Thema „Statistische Auswertung“.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Georg Ertl, Ärztlicher Direktor, sowie Herrn Prof. Dr. med. Stefan Frantz, Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik I, für die Arbeitsmöglichkeit im Deutschen Zentrum für Herzinsuffizienz (DZHI).

Annika, ich danke Dir für die schöne Zeit zwischen den Zeilen!

Abschließend gilt mein besonderer Dank meiner Familie, insbesondere meinem Vater, und auch meinen Freunden, die mich stets motiviert haben diese Dissertation voranzubringen und mir immer den nötigen Rückhalt gegeben haben.

Lebenslauf

Lebenslauf

Name Jonas Andres Müntze

Geburtsdatum 17.12.1989

Geburtsort Würzburg

Akademischer Werdegang

1996 – 2008 Grundschule und Gymnasium in Cuxhaven

06/2008 Allgemeine Hochschulreife (Note: 1,3)

07/2008 – 03/2009 Ableistung des Grundwehrdienstes in Munster (Örtze)

10/2009 – 06/2016 Studium der Humanmedizin, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

07/2016 Approbation als Arzt

Seit 10/2016 Assistenzarzt und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Kardiologischen Abteilung der Universitätsklinik Würzburg,
Fabry-Zentrum

Promotion

08/2013 - 03/2019 „Die Biobank des Kompetenznetz Herzinsuffizienz – Eine Qualitätskontrolle“

Deutsches Zentrum für Herzinsuffizienz Würzburg

Doktorvater: Prof. Dr. med. Stefan Störk, PhD

Lebenslauf

Auslandserfahrungen

02/2013 – 03/2013	EILC Sprachkurs für Italienisch, Siena, Italien
03/2013 – 08/2013	ERASMUS Auslandssemester in Florenz, Italien
05/2015 – 09/2015	Auslandstertial Chirurgie in Lugano, Tessin, Schweiz

Zusatzqualifikationen

Fremdsprachen	Englisch: Selbstständige Sprachanwendung Italienisch: Kompetente Sprachverwendung
07/2014	Sprachzertifikat für Italienisch mit Niveau C1
EDV-Kenntnisse	Microsoft Office (Word, Power Point, Excel) SPSS Statistics Endnote