

**Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin  
der Universität Würzburg**

Direktor: Professor Dr. med. Chr. Reiners

**Bestimmung von Referenzbereichen für die  
Schilddrüsenhormonparameter TSH, fT3 und fT4 bei  
Neugeborenen, Kindern und Jugendlichen**

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius–Maximilians–Universität Würzburg

vorgelegt von

**Christoph Kirchgäßner**

aus Miltenberg

Würzburg, Juli 2010

Referent: Professor Dr. med. Chr. Reiners

Koreferent: Professor Dr. med. H. Hebestreit

Dekan: Professor Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 21.12.2010

Der Promovend ist Arzt.

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	Schilddrüsenerkrankungen im Kindesalter.....	1
1.2	Bestimmung der Schilddrüsenhormonparameter im Serum .....	2
1.3	Labortechniken und Testsysteme zur Bestimmung der Schilddrüsenhormone im Serum.....	5
1.4	Referenzbereiche in der Labormedizin .....	8
1.5	Aktuelle Problematik und Ziel der Arbeit .....	11
<b>2</b>	<b>Patienten und Methoden .....</b>	<b>14</b>
2.1	Patienten und Untersuchungsaufbau .....	14
2.2	Erhebung der Patientendaten und erfasste Parameter.....	15
2.3	Ein- und Ausschlusskriterien.....	15
2.4	Einteilung in Altersgruppen .....	17
2.5	Probengewinnung und Laboranalyse.....	17
2.6	Statistische Analyse.....	19
2.6.1	Einteilung in Subgruppen und Tests auf Unabhängigkeit .....	19
2.6.2	Korrelationsanalyse .....	19
2.6.3	Tests auf Normalverteilung und Transformation .....	20
2.6.4	Erkennung von Ausreißern .....	20
2.6.5	Bestimmung der Referenzbereiche.....	20
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>22</b>
3.1	Anzahl der Studienteilnehmer und Häufigkeitsverteilung in den Altersgruppen.....	22
3.2	Einfluss des Geschlechts auf die Hormonkonzentration .....	24
3.3	Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen und Korrelationsanalyse .....	25
3.4	Frühgeborene in der Studie .....	28
3.5	Erstellung von Referenzbereichen der Schilddrüsenhormonpara- meter TSH, fT4 und fT3 .....	29
3.5.1	Referenzbereiche für verschiedene Altersgruppen.....	29
3.5.1.1	Transformation und Tests auf Normalverteilung .....	29
3.5.1.2	Ausreißererkennung .....	30
3.5.1.3	TSH-Referenzbereich .....	32
3.5.1.4	FT4-Referenzbereich .....	34
3.5.1.5	FT3-Referenzbereich .....	35
3.5.2	Erstellung kontinuierlicher Referenzbereiche mittels LMS -Methode ..	37
3.5.2.1	TSH-Referenzbereich .....	37
3.5.2.2	FT4-Referenzbereich .....	40
3.5.2.3	FT3-Referenzbereich .....	42

4	Diskussion.....	45
4.1	Vergleich der Ergebnisse mit der aktuellen Literatur.....	45
4.1.1	Probleme beim Vergleich der Referenzbereiche unterschiedlicher Arbeitsgruppen.....	45
4.1.2	Einfluss des Geschlechts auf die Referenzintervalle .....	46
4.1.3	Schilddrüsenhormone bei Frühgeborenen.....	47
4.1.4	Referenzbereiche für Schilddrüsenhormone bei Kindern.....	48
4.1.4.1	TSH - Referenzbereich .....	49
4.1.4.2	FT4 - Referenzbereich .....	49
4.1.4.3	FT3 - Referenzbereich .....	50
4.1.5	Schilddrüsenhormonspiegel bei Neugeborenen .....	51
4.1.6	Vergleich der Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene .....	52
4.2	Methodenkritik.....	52
4.2.1	Referenzwertproblematik im Kindesalter .....	52
4.2.2	Selektion von Referenzindividuen.....	54
4.2.3	Referenzintervalle für verschiedenen Altersgruppen und konti- nuierliche altersabhängige Perzentilenkurven.....	55
4.3	Limitationen der vorliegenden Arbeit.....	56
4.4	Ausblick.....	57
4.5	Schlussfolgerung .....	57
5	Zusammenfassung.....	59

I. Literaturverzeichnis

II. Danksagung

III. Curriculum vitae

## Abkürzungsverzeichnis:

BMI	Body-Mass-Index
CF	Zystische Fibrose
CPS	Counts per second
FT3	freies Trijodthyronin
FT4	freies Thyroxin
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
ILMA	Immunoluminometric assay
IMA	Immunometric assay
RIA	Radioimmunoassay
TSH	Thyreoidea- stimulierendes- Hormon

# **1 Einleitung**

## **1.1 Schilddrüsenerkrankungen im Kindesalter**

Schilddrüsenerkrankungen zählen zu den häufigsten endokrinologischen Erkrankungen im Kindesalter. Etwa eines von 3000 Neugeborenen kommt mit einer Schilddrüsenunterfunktion zur Welt. Dabei kommen sowohl Entwicklungsstörungen des Organs, sog. Dysgenesien, als auch seltene Defekte innerhalb der Schilddrüsenhormonbiosynthese als Ursache in Frage. Da zahlreiche Stoffwechselprozesse im Organismus über Schilddrüsenhormone gesteuert werden, ist ein ausreichendes Vorhandensein dieser Botenstoffe für eine normale Reifung von Gehirn, Muskulatur und Knochen essentiell. Werden angeborene Schilddrüsenfunktionsstörungen nicht rechtzeitig erkannt oder behandelt, resultieren vor allem in den ersten zwei Lebensjahren irreversible Störungen der Myelinisierung, Migration und Interaktion von Nervenzellen. Klinisch zeigen sich bei den betroffenen Kindern neben Trinkschwäche, muskulärer Hypotonie und verlängertem Neugeborenenikterus eine verzögerte psychomotorische Entwicklung, mentale Retardierung und Wachstumsdefizite (Grüters und Krude 2007, Hotze und Schumm-Draeger 2003, Krude 2008, Reinhardt und Grüters 2008).

Die häufigste Ursache einer erworbenen Hypothyreose im Kindes- und Jugendalter stellt, mit einer Prävalenz von 5 % bis 10 %, die chronisch lymphozytäre Autoimmunthyreoiditis dar. Das klinische Erscheinungsbild zeigt sich hierbei sehr variabel und reicht, je nach Lebensalter bei Beginn, von Dystrophie und neurologischen Defiziten bis hin zu Symptomen wie Müdigkeit, Konzentrationsschwäche, Gewichtszunahme und Obstipation (Hotze und Schumm-Draeger 2003).

Ein Mangel des essentiellen Spurenelements Jod führt ebenfalls zu Störungen der Schilddrüsenfunktion. Während Deutschland bis vor wenigen Jahren als

Jodmangelgebiet galt, zeigen aktuelle Untersuchungen, wie das vom Robert-Koch-Institut initiierte Kinder- und Jugendgesundheitssurvey (KiGGS), dass sich die Jodversorgung durch Verwendung jodierten Speisesalzes verbessert hat. Allerdings liegt die alimentäre Jodversorgung auf relativ niedrigem Niveau, was letzten Endes weiterhin zum Vorkommen von Erkrankungen wie Knotenstruma und Hyperthyreose beiträgt, die durch Jodmangel ausgelöst bzw. begünstigt werden (Rendl et al. 2001, Thamm et al. 2007). Besonders schwerwiegende Folgen hat eine insuffiziente Jodversorgung während der Schwangerschaft. Verursacht durch mütterlichen Jodmangel, können so bereits Neugeborene Strumen aufweisen. Eine jodmangelassoziierte Schilddrüsenunterfunktion der Mutter kann zu endemischem Kretinismus führen, da der Fetus vor allem im ersten Trimenon von der transplazentaren, mütterlichen Hormonzufuhr abhängig ist (Krude et al. 2008, Hotze und Schumm-Draeger 2003). Da die meisten Schilddrüsenerkrankungen im Kindesalter unter suffizienter Behandlung z. B. durch Schilddrüsenhormonsubstitution eine gute Prognose aufweisen und somit irreversiblen Gesundheitsschäden relativ einfach vorgebeugt werden kann, kommt der Diagnose solcher Erkrankungen eine große Bedeutung zu. Die Einführung des Neugeborenen Screenings der Schilddrüse vor etwa 30 Jahren gilt als Meilenstein in der Früherkennung der kongenitalen Hypothyreose und hat einen hohen Stellenwert in der Prävention geistiger Behinderung (Rose 2006, Arenz et al. 2008, Reinhardt und Grüters 2008).

## ***1.2 Bestimmung der Schilddrüsenhormonparameter im Serum***

Zur Einschätzung des Schilddrüsenstatus stehen einige laborchemische Testmethoden zur Verfügung. Insbesondere die Bestimmung der basalen Serumkonzentrationen von Thyreoidea-stimulierendem-Hormon (TSH), freiem Trijodthyronin (fT3) und freiem Thyroxin (fT4) spielt dabei eine wichtige Rolle. Die optimale diagnostische Herangehensweise sowie der medizinisch geeignete, kosteneffektive Einsatz der unterschiedlichen Testverfahren ist patientenspezifisch und durch die Untersuchungsintention bedingt. So unter-

scheiden sich Art und Anzahl der Labortests in Abhängigkeit davon, ob lediglich eine mögliche Schilddrüsenerkrankung bei asymptomatischen Patienten ausgeschlossen werden soll (z. B. beim Neugeborenenenscreening), klinische Beschwerden eine Funktionsstörung wahrscheinlich machen, oder ob Verlauf und Therapie einer Thyreopathie der Evaluation bedürfen (Stockigt 2003, Kaplan 1999).

Die Bestimmung von TSH im Serum mit einem Testsystem geeigneter Sensitivität ist die wichtigste in-vitro-Untersuchung für die Beurteilung der Schilddrüsenfunktion (Stockigt 2003). Die TSH-Konzentration reagiert kompensatorisch auf kleinste Veränderungen der Schilddrüsenhormone. Ein Absinken der Schilddrüsenhormonkonzentration führt zum sofortigen Anstieg der TSH-Sekretion. Umgekehrt resultiert ein Anstieg der Effektorhormone in einem TSH-Abfall. Durch eine logarithmische Rückkopplungsverstärkung um das 10- bis 100fache gelten Abweichungen der TSH-Konzentration und Verschiebung der TSH-fT4-Relation als frühes Anzeichen einer Schilddrüsenerkrankung (Stockigt 2003, Masters und Simons 1996). Da eine basale TSH-Konzentration innerhalb des Referenzbereiches eine primäre Schilddrüsenfunktionsstörung weitgehend ausschließt, eignet sich die alleinige TSH-Bestimmung aufgrund des hohen negativen Vorhersagewerts bei niedriger Vortestwahrscheinlichkeit als ausgezeichneter Screeningtest (Stockigt 2003, Kaplan 1999, Masters und Simons 1996). Unter- oder Überschreitet die TSH-Konzentration jedoch die Grenzen des Referenzbereiches, ist immer die zusätzliche Bestimmung der Schilddrüsenhormonparameter zum Nachweis bzw. Ausschluss einer Hyper- oder Hypothyreose und definitiven Einschätzung des Schilddrüsenstatus erforderlich. Da nur die freien Schilddrüsenhormone die Versorgung der Körperperipherie widerspiegeln und sich weniger störanfällig gegenüber Änderungen der Transportproteinkonzentration zeigen, sind diese der Bestimmung von Gesamt-T3 und -T4 vorzuziehen (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Kaplan 1999).



Liegen fT4, fT3 und TSH außerhalb des Referenzbereiches spricht man von einer manifesten Schilddrüsenfunktionsstörung. Latente oder subklinische Dysfunktionen sind als laborchemische Konstellation definiert, bei der die fT3 und fT4 Konzentrationen noch im Referenzbereich liegen, TSH aber unter- oder oberhalb des Normbereiches gemessen wird (Brabant et al. 2006, Hotze und Schumm-Draeger 2003, Grütters 2003).

Erste Hinweise auf eine angeborene primäre Hypothyreose liefert heutzutage meist das Neugeborenencreening. Dabei wird innerhalb der ersten Lebensstage das TSH in getrockneten Blutropfen auf Filterpapier bestimmt. Zur definitiven Diagnosestellung und Ursachenabklärung bei pathologischem Ergebnis im Screening sind dann allerdings weitere diagnostische Maßnahmen indiziert (Grütters 2003). Bei einer manifesten primären Hypothyreose ist der TSH-Wert deutlich erhöht und die Schilddrüsenhormone liegen unterhalb des Referenzbereiches. Das ausschließlich in der Schilddrüse produzierte fT4 stellt den zentralen Hormonparameter bei der Diagnostik der primären Hypothyreose dar. Eine fT3-Bestimmung hat keine zusätzliche Aussagekraft (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Kaplan 1999).

Kennzeichen einer manifesten Hyperthyreose sind die vollständig supprimierte TSH-Konzentration und die über dem Referenzintervall liegenden freien Schilddrüsenhormone. Da jedoch eine Hyperthyreose durch eine isolierte fT3-Erhöhung verursacht werden kann, müssen zum Nachweis dieser Funktionsstörung immer fT4 und fT3 bestimmt werden (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Kaplan 1999).

Zur Ursachenabklärung der verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen und optimalen Therapieentscheidung sind neben der Analyse der basalen Hormonkonzentrationen oft weiterführende Maßnahmen, wie die Untersuchung von Schilddrüsenautoantikörpern oder bildgebende Diagnostik nötig (Masters und Simons 1996).

### **1.3 Labortechniken und Testsysteme zur Bestimmung der Schilddrüsenhormone im Serum**

Zur quantitativen Bestimmung der Schilddrüsenhormonparameter im Serum wurden früher Radioimmunoassays (RIAs) als Routineverfahren eingesetzt. Da diese Testsysteme der sog. „ersten Generation“ eine geringe Empfindlichkeit aufwiesen und die Bestimmungsgrenze für TSH anfangs nur bei 1-2 mU/l, und damit über den heute geltenden Untergrenzen des TSH Referenzbereiches lag, war es nicht sicher möglich niedrig normale von pathologischen TSH Werten abzugrenzen (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Masters und Simons 1996). Heutzutage wird die TSH-Konzentration mittels so genannter immunometrischer Testsysteme (IMA) der „dritten Generation“ bestimmt, die sich durch eine hohe Sensitivität mit einer unteren Nachweisgrenze von  $< 0,01$  mU/l auszeichnen und somit kleinste Hormonmengen detektieren können. Bei der Einteilung der Testsysteme in „Generationen“ entspricht jede nächst höhere Generation einer Verbesserung der Sensitivität um eine log-Konzentrationsstufe im Vergleich zur „Vorgängergeneration“ (Grüters 2003, Witherspoon 2005). Zu den Qualitätskriterien moderner, kommerzieller TSH-Testsysteme zählt unter anderem die vom Hersteller anzugebende funktionelle Assaysensitivität. Diese ist definiert als die niedrigste, mit einem Variationskoeffizienten von  $< 20$  %, messbare TSH- Konzentration und sollte unterhalb 0,1 mU TSH/l Serum liegen. Wird diese Anforderung an einen Assay erfüllt, kann von einer sicheren Trennung euthyreoter und hyperthyreoter Patientenkollektive ausgegangen werden. Zusätzlich erleichtern Testgeräte mit hoher Sensitivität das Therapiemonitoring und die Therapieentscheidung bei sehr niedrigen TSH-Konzentrationen in speziellen Situationen wie z. B. bei schweren, nicht-schilddrüsenbedingten Erkrankungen (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Sapin 1993, Witherspoon 2005).

Bei den neueren Verfahrensweisen kommen zwei monoklonale Anti-TSH-Antikörper zur Anwendung die gegen verschiedene Epitope des TSH Moleküls gerichtet sind. Einer dieser Antikörper, gekoppelt an eine Festphase (z. B. Polystyrolkugeln) extrahiert das in der Serumprobe befindliche TSH. Im

Anschluss bindet ein zweiter Anti-TSH-Antikörper, der in Abhängigkeit von der angewandten Methode wahlweise mit einem Enzym, einer fluoreszierenden oder lumineszierenden Substanz markiert wurde, an bestimmte Regionen des extrahierten TSH, um ein so genanntes „Sandwich-Molekül“ zu bilden (two-site- oder Sandwich-Assay). Je mehr TSH in der Probe enthalten ist, umso mehr Immunkomplexe entstehen, die wiederum mit Hilfe der Ligandenmarkierung quantitativ nachgewiesen werden können.

Der gekoppelt Stoff verleiht schließlich dem Testsystem den Namen (z. B. Lumineszenz - Immunoassay). Da nur monoklonale Antikörper zur Extraktion von TSH aus dem Serum verwendet werden, ist diese Testmethode hochspezifisch (Hotze und Schumm-Draeger 2003, Masters und Simons 1996, Emlinger 2003).

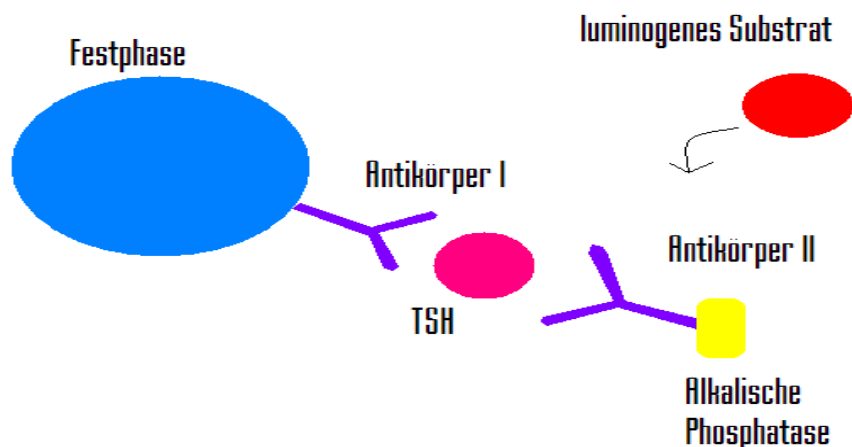


Abb. 1: Prinzip eines Lumineszenz-Immunoassays für TSH (modifiziert nach Hotze und Schumm-Draeger 2003)

Neuere Analyseverfahren basieren häufig auf dem Prinzip der Chemilumineszenz (Lumineszenz-Immunoassay). Es handelt sich hierbei um die chemische Produktion von Licht. Der Übergang eines Elektrons aus einem angeregten in einen energetisch ärmeren Zustand geht dabei einher mit der Emission von Photonen. Die Energie, welche die Moleküle in einen angeregten

Zustand überführt, resultiert aus einer chemischen Reaktion. Im Testsystem wird dabei ein luminogenes Substrat (z. B. Adamantylidioxetanphosphat) zu den in der Probe befindlichen Immunkomplexen gegeben und von einem an den zweiten Antikörper gekoppelten Enzym (z. B. alkalischer Phosphatase) in ein instabiles Zwischenprodukt umgesetzt. Beim Zerfall werden kontinuierlich Photonen ausgesandt. Das erzeugte Lichtsignal kann schließlich mit Hilfe eines Photoverstärkers in counts per second (CPS) gemessen werden, wobei die entstandene Lichtmenge dabei direkt proportional zur Menge der gebundenen alkalischen Phosphatase und damit auch zur Menge an TSH in der Serumprobe des Patienten ist. Mittels Eichkurve wird anschließend das Lumineszenzsignal in die korrespondierende Konzentration an TSH umgerechnet. Als Vorteile der Chemilumineszenzmethode im Vergleich zu früher verwendeten Verfahren gelten die hohe Sensitivität, die geringe benötigte Serummenge, die niedrige Toxizität der Reagenzien, die Verwendung nicht-radioaktiver Stoffe sowie die relativ kostengünstige und einfache Durchführung (Herstellerinformation Immulite 2000, Babson et al. 1991, Whitehead et al. 1979, Lamb et al. 1994, Kricka 1991).

Die fT3- und fT4-Tests sind häufig kompetitive Chemilumineszenz-Immunoassays, die auf ähnliche Weise funktionieren, allerdings mit geringem methodischen Unterschied. Eine zugegebene Reagenz enthält hierbei ein ligandmarkiertes fT4- bzw. fT3-Analogon das mit dem in der Patientenprobe enthaltenen fT4 bzw. fT3 um die Bindung an der Kugelmatrix konkurriert. Die fT4- bzw. fT3-Derivate werden nicht von den in der Serumprobe enthaltenen Bindungsproteinen gebunden. In einem zweiten Reaktionsschritt nach dem Waschvorgang wird ein mit alkalischer Phosphatase konjugierter Anti-Ligand hinzugegeben, der am ligand-markierten fT4- bzw. fT3-Analogon bindet. Die ausgesendete Lichtmenge nach Zugabe des luminogenen Substrats ist dabei indirekt proportional zur Menge an freiem Schilddrüsenhormon in der Patientenprobe (Herstellerinformation Immulite 2000, Hotze und Schumm-Draeger 2003, Kricka 1991).

## **1.4 Referenzbereiche in der Labormedizin**

Pathologisch abweichende Messwerte können nur identifiziert werden, indem Labortestergebnisse bestimmten Vergleichswerten gegenübergestellt werden. Zur adäquaten Beurteilung klinischer Fragestellungen spielen dabei sowohl die Daten früherer Testergebnisse des Patienten, als auch sog. Referenzbereiche eine entscheidende Rolle. Letztere gehören folglich zu den am häufigsten genutzten Hilfsmitteln bei der Entscheidungsfindung in der Medizin (Horn und Pesce 2003, Elmlinger 2003, Solberg und Petitclerc 1988). Ein Referenzbereich für labormedizinische Parameter stellt ein Intervall zwischen zwei Grenzwerten dar, die statistisch aus der Verteilung von Messwerten einer Referenzpopulation ermittelt wurden. Für die Validität eines Referenzbereiches ist es dabei wichtig, dass die Referenzpopulation bezüglich Alter, Geschlecht, Gewicht, Gesundheitsstatus, Schwangerschaft und weiterer Parameter aus präzise definierten Referenzindividuen zusammengesetzt ist. Die Selektionskriterien sind bei Gesundheitsfragen meist so konzipiert, dass all jene Probanden von der Untersuchung ausgeschlossen werden, die mögliche pathologische Einflussfaktoren auf die Messgröße aufweisen. Dies bedeutet jedoch nicht, dass alle in die Referenzgruppe aufgenommenen Individuen vollständig gesund sein müssen (Ceriotti und Henny 2008, Gräsbeck 2004, Elmlinger 2003). Vereinfacht gesagt liefert das Referenzintervall eines bestimmten Parameters typische Werte für gesunde Menschen der gleichen Bevölkerungsgruppe. Der Grad der Gesundheit muss dabei anhand der Selektionskriterien näher erklärt sein. Individuen deren Messergebnisse außerhalb der Grenzen liegen haben eine höhere Wahrscheinlichkeit nicht gesund zu sein (Sunderman 1975, Ceriotti 2007). Ursprünglich wurden solche Orientierungswerte als „Normalwerte“ bezeichnet. Da der Begriff „normal“ aber etwas unpräzise ist und unterschiedliche Bedeutungen im Sinne von häufig vorkommend, körperlich gesund, unauffällig oder mathematisch normalverteilt annehmen kann, wird er heutzutage nicht mehr verwendet. Der gegenwärtige Begriff „Referenzwert“ ist hingegen eindeutig dadurch definiert, dass die Kriterien für die Selektion der Referenzindividuen bekannt sein müssen und sowohl deren Gesundheits-

zustand, als auch der Laboranalyseprozess genau beschrieben werden (Sunderman et al. 1975, Gräsbeck 2004). In Abbildung Nr. 2 wurde der Prozess zur Erstellung von Referenzbereichen nochmals zusammenfassend in einem Schema dargestellt.

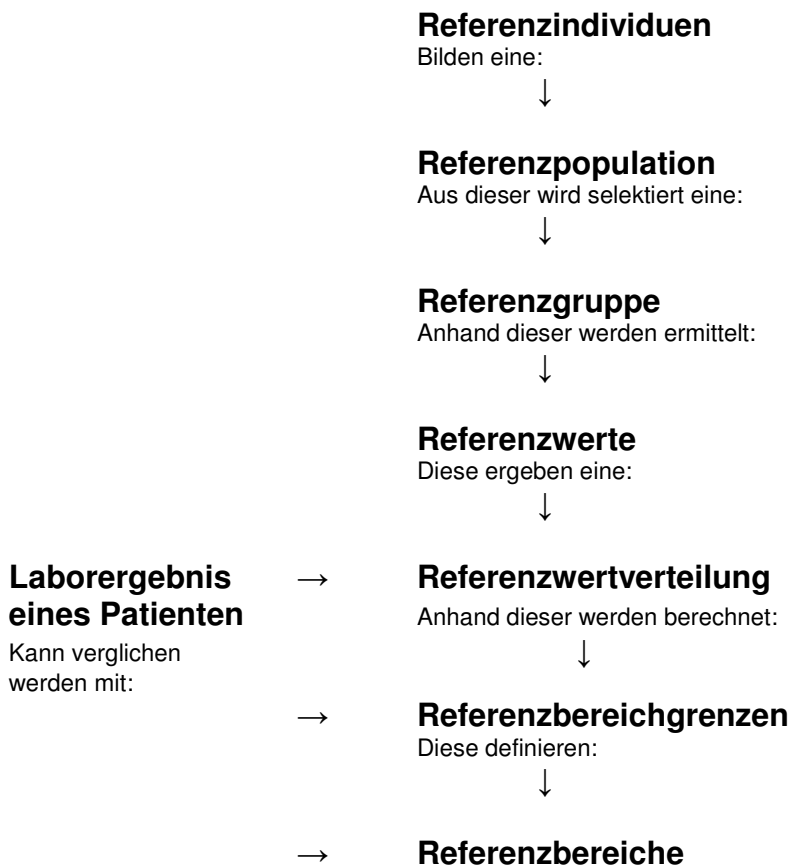


Abb. 2: Schema zur Erstellung von Referenzbereichen (modifiziert nach Horn und Pesce 2003)

Referenzbereiche können durch verschiedene statistische Methoden berechnet werden. Dabei kann das Ergebnis der Auswertung je nach verwendetem mathematischen Verfahren und der Verteilung der Messwerte variieren (Horn und Pesce 2003, Solberg 1983, Reed et al. 1971). Meist beinhaltet ein Referenzintervall in der klinischen Chemie die zentrale 95 %-Spanne einer Referenzverteilung. Entsprechend werden die Grenzen als 2,5. und 97,5. Perzentile berechnet. Vorzugsweise sollten zu diesen Quantilen noch die Konfidenzintervalle angegeben werden. Da die Genauigkeit eines Referenzbereiches

aber von der Anzahl der Referenzindividuen abhängig ist, werden bei abnehmender Gruppengröße die Grenzen unpräziser und die Konfidenzintervalle immer weiter (Solberg 1983, Wright und Royston 1999, Elmlinger 2003). Darüber hinaus nehmen ethnische, kulturelle und regionale Faktoren Einfluss auf Referenzbereiche. In lokal begrenzten Gebieten ermittelte Referenzintervalle sind somit nicht unbedingt für Menschen aus anderen Regionen geeignet. Zusätzlich sind Referenzbereiche testsystemspezifisch. Idealerweise sollte daher jedes Labor mit dem eigenen Testgerät für das Patientenkontext vor Ort repräsentative Referenzbereiche generieren (Elmlinger 2003, Ceriotti 2007, Hubl et al. 2002).

Weitere biologische und methodenspezifische Faktoren, die zu variablen Messwerten führen, können durch standardisierte präanalytische Vorgehensweisen minimiert werden (Solberg und Petittlerc 1988). Durch Einteilung der Referenzpopulation in homogene Subgruppen z. B. bezüglich des Alters oder Geschlechts können zusätzlich die interindividuellen Unterschiede der Messergebnisse verringert und somit die Genauigkeit und Eignung der Referenzbereiche verbessert werden (Ceriotti 2007, Harris und Boyd 1990).

Für die Interpretation von Laborergebnissen eines Patienten, insbesondere bei Werten, die am Rande des Referenzintervalls liegen, sollten die zahlreichen Faktoren, die Auswirkungen auf die Referenzbereichsgrenzen haben berücksichtigt werden. Die Schwellenwerte sind somit nicht als Maß für die hundertprozentige Entscheidung zwischen Gesundheit oder Krankheit zu verstehen, sondern vielmehr als Orientierungshilfe bei der medizinisch-klinischen Entscheidungsfindung und Funktionseinschätzung eines Organs. Außerdem repräsentieren Referenzbereiche meist nur etwa 95 % der Werte einer gesunden Bevölkerung, was bedeutet, dass ein gesundes Individuum mit einer statistischen Wahrscheinlichkeit von 5 % außerhalb der Grenzen liegt. Generell müssen Laborwerte im klinischen Kontext, das bedeutet unter Berücksichtigung sämtlicher Informationen wie Gesundheitsstatus des Patienten, Medikation,

Ergebnisse früherer Diagnostik etc. beurteilt werden (Ceriotti und Henny 2008, Wright und Royston 1999, Elmlinger 2003).

Die Interpretation von Testergebnissen erfolgt bei pädiatrischen Patienten auf ähnliche Art und Weise. Allerdings unterscheiden sich die Referenzbereiche der Kinder oft deutlich von denen Erwachsener. Ein bei Volljährigen als „normal“ eingeschätztes Laborresultat kann beim Kind ein pathologisches Geschehen bedeuten, und umgekehrt. Dieser Sachverhalt ist vor allem für Serumparameter wie Hormone wichtig, deren Referenzintervalle stark altersabhängig sind und sich eventuell mit Gewicht, Größe und Pubertätsstadien verändern (Ceriotti und Henny 2008, Elmlinger 2003). Bezüglich der Schilddrüse unterliegt das Hormongleichgewicht von der Geburt bis ins Erwachsenenalter deutlichen Veränderungen, da der Hypothalamus–Hypophysen–Schilddrüsen-Regelkreis noch ausreifen muss und sich der Körper in Wachstum und Entwicklung befindet. So unterscheiden sich die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Serum vor allem in den ersten Lebensmonaten deutlich von denen Erwachsener. Die für Erwachsene geltenden Referenzbereiche sind dementsprechend nicht unbedingt für Kinder geeignet. Daher ist es wichtig, spezifische altersabhängige pädiatrische Referenzbereiche zu erstellen und dann die Laborwerte unter Kenntnis der Schilddrüsenphysiologie vom Fetus bis ins Erwachsenenalter zu beurteilen (Grüters 2003, Kapelari et al. 2008).

## ***1.5 Aktuelle Problematik und Ziel der Arbeit***

Eine präzise Evaluation der Schilddrüsenfunktion im Kindesalter ist nur möglich, wenn die Labortestergebnisse anhand geeigneter Referenzintervalle beurteilt werden können. Die Erstellung altersabhängiger pädiatrischer Referenzbereiche für Schilddrüsenhormonparameter in Serum erweist sich allerdings als große Herausforderung, da hierfür eine hohe Anzahl an Referenzindividuen verschiedenen Alters und deren Blutproben benötigt werden. Vor allem bei gesunden Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern stellt die Blutabnahme



zu Studienzwecken ein ethisches Problem dar. Für wissenschaftliche Fragestellungen empfiehlt es sich daher Blutproben zu verwenden, die bereits im Rahmen von notwendigen Routineuntersuchungen bei pädiatrischen Patienten einer Kinderklinik abgenommen wurden. Die Selektion einer ausreichenden Anzahl schilddrüsengesunder Probanden, die Labordiagnostik und Ausarbeitung von Referenzbereichen zeigt sich dabei als logistisch anspruchsvoll sowie zeit- und kostenaufwändig.

Aus diesen Gründen sind wissenschaftliche Veröffentlichungen von Referenzbereichen der Schilddrüsenhormone bei Kindern rar. Hinzu kommt, dass Referenzbereiche, wie bereits oben erwähnt, testsystemspezifisch sind. Mit verschiedenen Analysegeräten und Reagenzien untersuchte Blutseren liefern aufgrund mangelnder Standardisierung unterschiedliche Messergebnisse. Die daraus generierten Referenzintervalle variieren oft stark und sind nicht ohne weiteres auf andere Gerätetypen und Reagenzien übertragbar. Darüber hinaus ist die Referenzpopulation, die zur Erstellung der Referenzbereiche herangezogen wurde, nicht unbedingt mit dem Patientenkontext an anderen Orten vergleichbar. Diese Aspekte schränken den Nutzen publizierter Referenzbereiche deutlich ein, vor allem für Labore, die über Geräte anderer Bauart verfügen oder andere Reagenzien verwenden.

Schon vor vielen Jahren forderte die International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), dass jedes Labor eigene Referenzbereiche für das verwendete Testsystem bestimmen sollte (Solberg 1983, Ceriotti 2007). Aufgrund der oben genannten Umstände nutzen jedoch viele Kliniken für ihre Testsysteme die Referenzintervalle aus der wissenschaftlichen Literatur oder die von den Herstellerfirmen mitgelieferten Daten. Oft wurden diese aber nur aus einer kleinen Anzahl an Probanden erstellt und wichtige Einflussfaktoren auf die Schilddrüsenfunktion wie Alter, Größe, Gewicht, Medikation und Begleiterkrankungen blieben unberücksichtigt oder die Ein- und Ausschlusskriterien der Referenzindividuen wurden nicht klar beschrieben. Darüber hinaus sind frühere Untersuchungen kritisch zu sehen, da nicht das gesamte

Altersspektrum von Geburt bis zum Erwachsenenalter eingeschlossen wurde oder ungeachtet der Hormonkonzentrationsänderungen mit zunehmendem Kindesalter, keine getrennten Referenzbereiche für adäquate Altersgruppen berechnet wurden.

Werden solche unzureichend überprüften, eventuell ungeeigneten Referenzbereiche verwendet, resultieren Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Laborparameter. So kommt es vor, dass vollkommen gesunde Kinder im Rahmen einer Abklärung von Schilddrüsenerkrankungen die altersabhängigen Referenzbereiche fälschlicherweise über- bzw. unterschreiten und diese Testergebnisse zu Fehlinterpretationen und zahlreichen kontrollbedürftigen Befunden führen. Unnötige Zusatzuntersuchungen wie Blutabnahmen oder bildgebende Diagnostik zur weiteren Abklärung und damit verbunden eine hohe Belastung der Kinder, Sorgen der Eltern und Kosten sind die Folgen. Aber auch eventuelle Pathologien können bei zu ungenauen Referenzbereichen unentdeckt bleiben. Folglich würde die Therapie nicht identifizierter, kranker Kinder verzögert oder eventuell ganz unterbleiben.

Zur sicheren Interpretation der Laborergebnisse und Einordnung pathologischer Befunde werden demzufolge Referenzbereiche für geeignete Altersgruppen benötigt, die zu einer bestimmten Testmethode passen. Daher ist es das Ziel dieser Arbeit, altersabhängige Referenzbereiche und entsprechende kontinuierliche Referenzbereichskurven der Schilddrüsenhormonparameter TSH, fT3 und fT4 für Kinder von der Geburt bis zum 18. Lebensjahr zu erstellen. Unter Verwendung des weit verbreiteten Lumineszenz-Immunoassays Immulite® 2000, soll dabei eine für die Würzburger Region typische Referenzpopulation untersucht werden.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Patienten und Untersuchungsaufbau**

Zur Erstellung geeigneter Referenzbereiche für Schilddrüsenhormone bei Kindern bot sich eine Auswertung von Blutproben an, die im Rahmen klinisch notwendiger Routineuntersuchungen bei Patienten der Universitäts-Kinderklinik Würzburg gewonnen worden waren. Dies ermöglichte die Analyse einer relativ großen Anzahl an Patientenseren, ohne eigens für die Studie veranlasste Blutabnahmen. Außer der Bestimmung der Schilddrüsenhormone aus den Blutprobenüberresten des Zentrallabors erfolgten keine weiteren diagnostischen Maßnahmen und es fand keine zusätzliche körperliche Untersuchung der Kinder statt. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission der Julius-Maximilians-Universität-Würzburg geprüft und zugelassen.

Die Schilddrüsenhormone konnten folglich in Serumproben gemessen werden, die zwischen Januar 2006 und Februar 2008 von pädiatrischen Patienten gewonnen wurden. Die Blutabnahmen erfolgten hierbei aus verschiedenen medizinischen Indikationen entweder im Rahmen einer ambulanten Vorstellung in der Poliklinik oder im Laufe eines stationären Aufenthaltes in der Kinderklinik. Nach Durchsicht der einzelnen Patientenanamnesen, wurden unter Berücksichtigung unten ausführlich beschriebener Ein- und Ausschlusskriterien nur Kinder in die Studie aufgenommen, deren Gesundheitszustand, Erkrankungen und Medikation die Schilddrüsenfunktion wahrscheinlich nicht beeinträchtigen und die Labormessergebnisse nicht beeinflussen. Somit konnte aus der Gesamtzahl der Patienten ein „schilddrüsengesundes“ Referenzkollektiv selektiert werden. Häufige Erkrankungen bzw. klinische Symptome der in die Untersuchung eingeschlossenen Kinder waren Husten, Pharyngitis, Fieber, Otitis, Bauchschmerzen, Gastroenteritis, Harnwegsinfekte, Dermatitis, Migräne, urogenitale Fehlbildungen, Herzfehler, Ikterus neonatorum, Gerinnungsstörungen, Lippen-Kiefer-Gaumenspalte, Zystische Fibrose, Z. n. Hydrocephalus mit Shuntanlage bei Meningomyelozele und orthopädische Erkran-

kungen. Bei einigen Patienten erfolgte die Blutabnahme nach Sturz oder Trauma sowie vor chirurgischen Eingriffen. Das Altersspektrum der Kinder reichte dabei von einem Tag alten Neugeborenen bis hin zu jungen Erwachsenen. Es wurden auch einige Frühgeborene, die zwischen der 24. und 36. Schwangerschaftswoche zur Welt kamen, mit in die Studie eingefasst.

## ***2.2 Erhebung der Patientendaten und erfasste Parameter***

Die Erhebung der relevanten Patientendaten erfolgte durch Auswertung der Krankenakten im Archiv der Kinderklinik sowie mittels Recherche in der digitalen Patientenakte der Universitätsklinik. Unter Einsicht in die einzelnen Krankengeschichten und Patientenbefunde konnten für die Studie geeignete Kinder ermittelt und deren Daten anonymisiert in Listen des Software-Programms Excel aufgenommen werden. Dokumentiert wurden Datum der Blutabnahme, Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Kopfumfang, Vorerkrankungen, aktuelle Symptomatik, Medikamente, Elektrolyt- und Kreatininwerte - soweit diese in den Krankenakten erfasst waren - sowie die Ergebnisse der TSH, fT3 und fT4 Bestimmung.

## ***2.3 Ein- und Ausschlusskriterien***

In die Studie wurden nur Patienten der Universitäts-Kinderklinik-Würzburg eingeschlossen, bei denen zwischen Januar 2006 und Februar 2008 eine venöse Blutabnahme aus medizinischer Indikation erfolgte und noch mindestens 100 µl Restserum für die Analyse der Schilddrüsenhormone zur Verfügung stand.

Alle Patienten bei denen zuvor eine Schilddrüsenerkrankung diagnostiziert worden war oder der Verdacht auf eine Funktionsstörung bestand wurden a posteriori, d. h. nach Schilddrüsenhormonmessung und Durchsicht der Krankenakten, aus der Untersuchung ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren bekannte endokrinologische, metabolische sowie schwere nicht-

endokrinologische Erkrankungen die möglicherweise die Schilddrüsenfunktion beeinträchtigen. Folglich wurden Kinder mit dekompensierten Leber- und Nierenerkrankungen, starkem renalem oder enteralem Proteinverlust, kataboler Stoffwechselsituation, Makroproteinurie, positiven Ketonkörpern im Urin sowie schweren akuten Infektionen nicht in die Studie eingeschlossen. Auch Kinder mit Syndromen wie beispielsweise M. Down und Turner-Syndrom oder kürzlich zurückliegenden chirurgischen Eingriffen wurden nicht zur Berechnung der Referenzwerte herangezogen. Ausschlusskriterium war auch die Einnahme von Medikamenten, welche die Schilddrüsenfunktion beeinflussen oder die Hormonmesswerte im Serum verändern. Entsprechend wurden keine Kinder in die Untersuchung aufgenommen, denen Pharmaka wie Glukokortikoide, Androgene, Amiodaron, Lithium, Cholestyramin, Sucralfat, Dopaminagonisten, Metoclopramid, Domperidon, Somatostatin, Rifampicin, Carbamazepin oder Phenytoin verordnet worden waren (Davies und Franklyn 1990, Surks und Sievert 1995, Wenzel 1996). Darüber hinaus stellten, soweit bekannt, Drogenkonsum und die Verabreichung jodhaltiger Kontrastmittel in den vergangenen drei Monaten Ausschlusskriterien dar.

A priori, d. h. vor Durchführung der Schilddrüsenhormonanalyse wurden bereits Patienten selektiert, die auffällige Laborwerte bei den verschiedenen Routineuntersuchungen aus den jeweiligen Serumproben aufwiesen. Dies betraf Kinder mit erhöhtem CRP, Elektrolytwerten außerhalb des Referenzbereiches, Hyperbilirubinämie >20 mg/dl und Hypertriglyceridämie. Darüber hinaus erfolgte keine Aufnahme von Kindern mit malignen Tumorerkrankungen bzw. Patienten des Stammzelltransplantationszentrums und der onkologischen Tagesklinik.

Die Messungen des Schilddrüsenhormons fT3 wurden im Beobachtungszeitraum mit zwei unterschiedlichen Testsystemen (Trinity Biotech Analyzer und Immulite® 2000) getätigt. Da die Referenzbereiche aber speziell für das Immulite® 2000 Testsystem erstellt werden sollten und eine mögliche Verfälschung des Datensatzes durch ein anderes Testsystem verhindert werden musste, wurden nur die mittels Immulite® 2000 gemessenen fT3

Hormonwerte in die weitere Bearbeitung eingeschlossen. Die Messwerte für TSH und fT4, die immer mit dem Immulite® - System erfolgten, blieben hiervon unbeeinflusst.

## ***2.4 Einteilung in Altersgruppen***

Initial wurden die Neugeborenen, Säuglinge, Kleinkinder, Schulkinder, Jugendlichen und jungen Erwachsenen in Altersgruppen unterteilt, die nach physiologischen Veränderungen in den jeweiligen Lebensabschnitten sinnvoll erschienen. Die Gruppenzuordnung wurde nach folgendem Schema unter Berücksichtigung des Lebensalters zum Zeitpunkt der Blutabnahme vorgenommen:

- **Gruppe 1:** 0 bis 7 Tage
- **Gruppe 2:** 8 bis 28 Tage
- **Gruppe 3:** 5 bis 12 Wochen
- **Gruppe 4:** 13 bis 52 Wochen
- **Gruppe 5:** 1 bis 3 Jahre
- **Gruppe 6:** 3 bis 6 Jahre
- **Gruppe 7:** 6 bis 12 Jahre
- **Gruppe 8:** 12 bis 18 Jahre

## ***2.5 Probengewinnung und Laboranalyse***

Die Blutabnahmen erfolgten in Monovetten® (Serum-Gel-4,9 ml- oder Serum-1,2 ml-Monovetten®, Firma Sarstedt, Nümbrecht). Innerhalb von Minuten bis wenigen Stunden wurden die Blutproben an das Zentrallabor des Universitätsklinikums Würzburg geliefert und dort bearbeitet. Nach vollständiger Gerinnung und Zentrifugation wurden die vom behandelnden Arzt angeforderten Laboruntersuchungen durchgeführt und anschließend die Serumröhrchen für eventuelle Nachbestimmungen aus der Kinderklinik bei 4° bis 8° C im Zentrallabor aufbewahrt. Nach drei Tagen erfolgte die Übergabe der

Proben an das Labor der Nuklearmedizin und umgehend nach Lieferung die Bestimmung der Schilddrüsenhormonparameter. Die Analyse von TSH, fT3 und fT4 aus unverdünnten Serumproben wurden mit dem automatischem Lumineszenz-Immunoassay (ILMA) Immulite® 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Germany), einem Testsystem der sog. „dritten Generation“ durchgeführt. TSH wurde dabei mittels „two-site“-Festphasen-Methode, fT3 und fT4 mittels kompetitiver Festphasen-Methode analysiert. Die Variationskoeffizienten dieser Immunoassays wurden im eigenen Labor bestimmt und lagen in Abhängigkeit von der jeweiligen gemessenen Konzentration bei 6,37 - 7,38 % für TSH, 4,50 - 6,82 % für fT3 und 4,23 - 5,7 % für fT4. Die Referenzintervalle des Labors für die schilddrüsengesunde Erwachsenenbevölkerung liegen bei 0,3 – 4,0 mIU/l für TSH, 11-23 pmol/l für fT4 und 2,7 – 7,6 pmol/l für fT3.

Die Messung und Auswertung der Blutproben wurde vorschriftsmäßig unter Beachtung der Herstellerangaben durchgeführt. Das Labor der Nuklearmedizin Würzburg nimmt vierteljährlich an nationalen Ringversuchen teil und eine routinemäßige, interne Qualitätskontrolle erfolgt arbeitstäglich.

Auffällige, von der Norm abweichende Ergebnisse im Rahmen der Studie wurden den Ärzten der Kinderklinik vom Laborpersonal zur weiteren Abklärung und Untersuchung mitgeteilt.

## **2.6 Statistische Analyse**

Nach vollständiger Datenerfassung erfolgte die Analyse mit den Statistikprogrammen Microsoft Excel 7.0, SPSS für Windows 17 und Statistica für Windows 8.

### **2.6.1 Einteilung in Subgruppen und Tests auf Unabhängigkeit**

Um Subgruppen zu identifizieren, die sich bezüglich der Hormonkonzentrationen unterscheiden, wurden die erhobenen Daten zunächst nach Alter und Geschlecht in verschiedene Untergruppen aufgeteilt. Mittels Mann–Whitney–U-Test wurde geprüft, ob die Hormonwerte der Jungen und Mädchen insgesamt und in den einzelnen Altersgruppen der gleichen Grundgesamtheit entstammen und eventuell beide Geschlechter zusammen in einer Gruppe betrachtet werden können. Ein p-Wert von  $< 0,05$  wurde dabei als statistisch signifikant angesehen. Beim Vergleich der einzelnen Altersgruppen musste das akzeptierte Fehlerniveau  $\alpha = 0,05$  mittels Bonferroni-Korrektur für multiples Testen auf  $\alpha^* = 0,05/8 = 0,00625$  verringert werden, da für jeden Hormonparameter pro Altersgruppe jeweils ein Mann–Whitney–U-Test durchgeführt wurde (Weiß 2005). Mittels Kruskal–Wallis-Tests wurde anschließend untersucht, ob reife Neugeborene, Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht  $>1500$  g und  $<1500$  g bezüglich der Schilddrüsenhormonparameter einer gemeinsamen Grundgesamtheit entstammen.

### **2.6.2 Korrelationsanalyse**

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den Hormonparametern TSH, fT4, fT3 und den Merkmalen Alter, Gewicht und Größe zu quantifizieren, wurde nach graphischer Darstellung in Scatterplots eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Als geeignete Methode erschien die Berechnung des Korrelationskoeffizienten „ $\rho$ “ nach Spearman (Weiß 2005).



### **2.6.3 Tests auf Normalverteilung und Transformation**

Zur Identifikation von Ausreißern wurde nach der Methode von Horn et al. (2001) und Wright und Royston (1999) zunächst eine Box–Cox-Transformation der Messergebnisse durchgeführt, um eine annähernde Normalverteilung zu erhalten. Die Formel für die Transformation der Messwerte lautete dabei:

$$x_{\text{transformiert}} = \begin{cases} \frac{x^\lambda - 1}{\lambda} & \text{für } \lambda > 0 \\ \ln(x + c) & \text{für } \lambda = 0, c \text{ konst.} \end{cases}$$

Anschließend wurde mittels Quantil–Quantil-Plots (QQ-Plots) und Shapiro-Wilk Test überprüft, ob sich die transformierten Daten tatsächlich als normalverteilt erwiesen.

### **2.6.4 Erkennung von Ausreißern**

Initial wurde graphisch mittels Box–Whisker-Plots nach extremen Werten gesucht. Nach Transformation der Daten wurde zur Identifikation von Ausreißern die Methode nach Tukey angewandt (Horn et al. 2001, Horn und Pesce 2003). Nach Überprüfung auf Übertragungsfehler erfolgte der Ausschluss der ermittelten Ausreißer aus den Datensätzen für die weitere Analyse.

### **2.6.5 Bestimmung der Referenzbereiche**

Da Referenzbereiche die zentralen 95 % der Messwerteverteilung einer Referenzpopulation enthalten sollen, dienen entsprechend die 2,5. und 97,5. Perzentile als Referenzbereichsgrenzen. Diese nicht-parametrische Methode der Berechnung setzt keine spezifische Verteilungsform, der in Reihenfolge angeordneten Messdaten voraus (Horn und Pesce 2003, Solberg 1983). Zur

Bestimmung der Referenzintervalle für die Schilddrüsenhormonparameter wurden in dieser Studie zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt.

Zunächst wurden die Referenzbereiche von TSH, fT4 und fT3 für jede der acht Altersgruppen einzeln ermittelt. Für Frühgeborene wurden hierbei separate Referenzintervalle bestimmt. Die Berechnung der 2,5. und 97,5. Perzentile erfolgte aus den transformierten, ausreißerfreien Datensätzen der verschiedenen Altersgruppen. Die Ergebnisse mussten anschließend rücktransformiert werden, um Referenzbereiche für die untransformierten Hormonwerte zu erhalten. Hierbei lautete die Umkehrfunktion für die Box–Cox-Transformation:

$$x = \exp\left(\frac{\ln(\lambda \cdot x_{\text{transformiert}} + 1)}{\lambda}\right), \lambda \neq 0$$

Im zweiten Ansatz sollten die Referenzbereiche der Schilddrüsenhormone als eine Funktion des Alters dargestellt werden. Hierfür wurde die, auf einer Box-Cox-Transformation basierende LMS-Methode (Cole und Green 1992) angewandt. Ziel dieses Verfahrens zur Korrektur von Linearität, Median und Schiefe der analysierten Parameter war es, altersabhängige Perzentilenkurven mit stetigem, glattem Funktionsverlauf zu erstellen und auf eine Einteilung in Altersklassen zu verzichten (Cole and Green 1992, Wright und Royston 1999). Die mittels LMS-Chartmaker (Download vom Medical Research Council UK; <http://homepage.mac.com/tjcole>) generierten und geglätteten Perzentilenkurven verdeutlichen dabei, wie sich die Referenzbereiche von TSH, fT4 und fT3 in Abhängigkeit vom Lebensalter kontinuierlich verändern. Das Zentrale 95 % Intervall wurde auch hier zur Bestimmung der Referenzbereiche verwendet. Die zugehörigen Diagramme wurden mittels Microsoft Excel 2003 und Analyse-it® Plug-in-Software erstellt. Frühgeborene wurden hier mit in die Berechnungen eingeschlossen, da die kontinuierlichen Referenzintervalle das gesamte Spektrum an Neugeborenen der Kinderklinik umfassen sollten.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Anzahl der Studienteilnehmer und Häufigkeitsverteilung in den Altersgruppen**

Nach Untersuchung der zugehörigen Krankengeschichten, Berücksichtigung der a-posteriori-Ausschlusskriterien und Selektion von Patienten, die durch wiederholte Blutabnahmen mehrfach im ursprünglichen Datensatz enthalten waren, wurden von den insgesamt 1650 analysierten Patientenseren 669 für die Studie verwendet. In diesem Datensatz waren 13 (1,9 %) Personen über 18 Jahre und 97 (13,9 %) Frühgeborene enthalten. 76 (10,8 %) durch das Trinity – Biotech-Testsystem ermittelte fT3-Werte wurden aus dem Datensatz eliminiert. Zur Erstellung der Referenzbereiche in den einzelnen Altersgruppen wurden 559 Kinder herangezogen und die Analyse der Frühgeborenen erfolgte zunächst getrennt. Die verschiedenen Altersgruppen enthielten minimal 29 (Gruppe 3), maximal 102 (Gruppe 4) und im Durchschnitt 70 Individuen. In die Berechnung der kontinuierlichen altersabhängigen Referenzbereiche mittels LMS-Methode wurden die Frühgeborenen mit eingeschlossen und es standen somit 656 Referenzindividuen zur Verfügung. Da bei einigen Laborproben die Serummenge nicht zur Analyse aller drei Hormone ausreichte und zusätzlich noch Ausreißer ausgeschlossen wurden, variiert die Anzahl der verwendeten Werte zwischen den einzelnen Berechnungen von TSH, fT4 und fT3.

Die Altersspanne der in die Studie aufgenommenen Patienten reichte vom Zeitpunkt unmittelbar nach der Geburt bis zum 18. Lebensjahr. Der Altersdurchschnitt lag bei  $4,42 \pm 5,22$  Jahren. Es gab keinen signifikanten Altersunterschied zwischen den ausgewerteten männlichen und weiblichen Kindern ( $p > 0,05$ ). Die Durchschnittswerte für Gewicht, Größe und BMI lagen bei  $18,7 \pm 16,8$  kg,  $97,2 \pm 37,8$  cm und  $16,3 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>.

Tabelle 1: absolute und relative Häufigkeitsverteilung sowie Anteil an Jungen und Mädchen in den einzelnen Altersgruppen.

Gruppe	Alter	Total	%	Jungen	%	Mädchen	%
1	0 - 7 Tage	48	8,6	33	68,8	15	31,3
2	8 - 28 Tage	34	6,1	19	55,9	15	44,1
3	5 -12 Wochen	29	5,2	19	65,5	10	34,5
4	13 - 52 Wochen	102	18,2	59	57,8	43	42,2
5	1 - 3 Jahre	89	15,9	54	60,7	35	39,3
6	3 - 6 Jahre	85	15,2	48	56,5	37	43,5
7	6 -12 Jahre	89	15,9	49	55,1	40	44,9
8	12 -18 Jahre	83	14,8	35	42,2	48	57,8
Gesamt	0 -18 Jahre	559	100	316	56,5	243	43,5

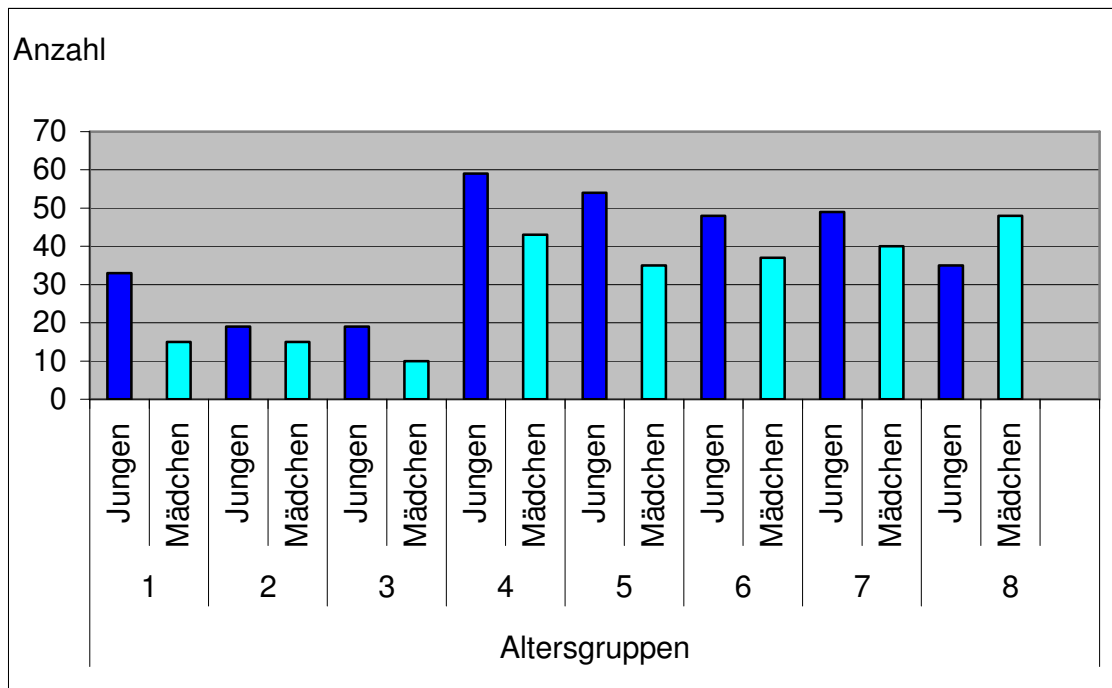


Abb. 3: Alters- und Geschlechtsverteilung der 559 untersuchten Kinder in den verschiedenen Gruppen

### **3.2 Einfluss des Geschlechts auf die Hormonkonzentration**

Ob die Hormonwerte TSH, fT4, fT3 von Jungen und Mädchen der gleichen Grundgesamtheit entstammen, wurde mittels Mann–Whitney–U-Test geprüft. Beim Vergleich aller Jungen und Mädchen, ungeachtet der Altersgruppen, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Hormonwerten beider Geschlechter nachgewiesen werden. Der Geschlechtsvergleich innerhalb der einzelnen Altersgruppen zeigte nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen mit resultierendem, akzeptiertem Fehlerniveau von  $\alpha^* = 0,00625$  lediglich in Gruppe 8 einen knapp signifikanten Unterschied zwischen den Medianen der fT3-Konzentrationen von Mädchen und Jungen. Sonst konnte in keiner Altersgruppe eine signifikante Abweichung für einen Parameter nachgewiesen werden, sodass für die weiteren Untersuchungen beide Geschlechter gemeinsam betrachtet und zu einer Gruppe zusammengefasst wurden.

### 3.3 Darstellung der Messwerte in Streudiagrammen und Korrelationsanalyse

Um eine erste Übersicht für den Zusammenhang zwischen den Hormonparametern TSH, fT4, fT3 und Lebensalter, Gewicht und Größe zu erhalten, wurde eine graphische Darstellung in Streudiagrammen (sog. Scatterplots) angefertigt.

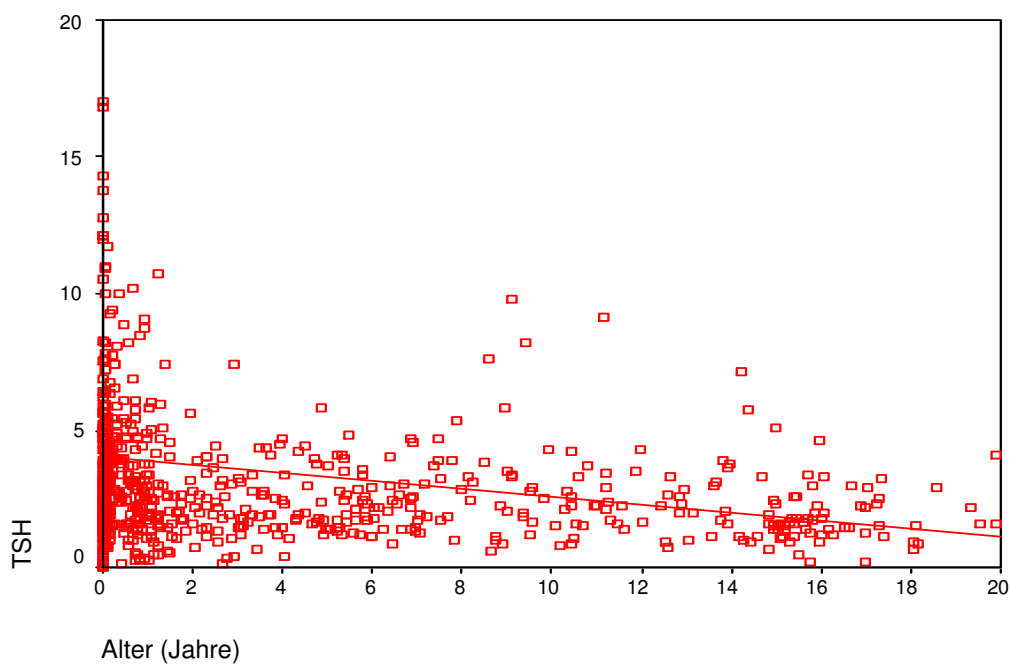


Abb. 4: TSH Streudiagramm; Alter 0-20 Jahre

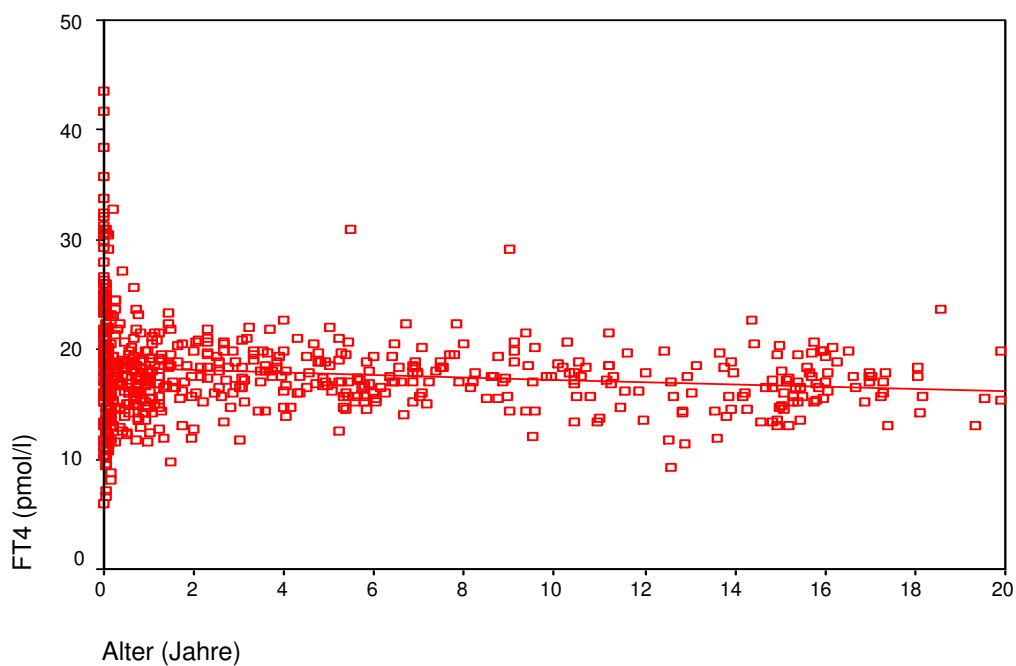


Abb. 5: fT4 Streudiagramm; Alter 0-20 Jahre

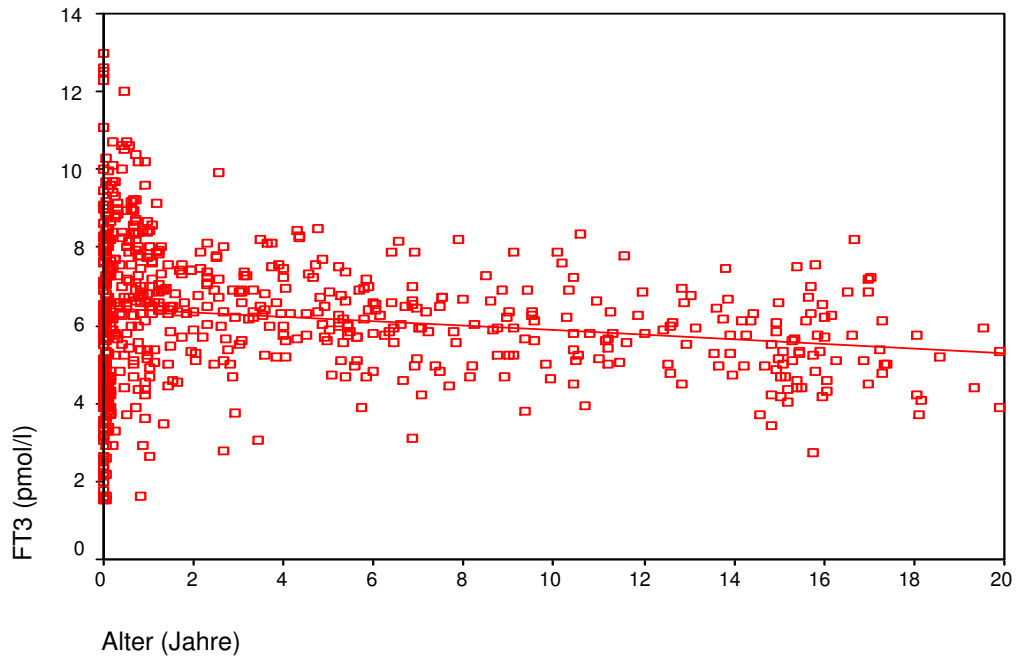


Abb. 6: fT3 Streudiagramm; Alter 0-20 Jahre

Die Punktwolken in den Streudiagrammen der Abbildungen 4, 5 und 6 resultieren aus den Daten der Merkmale „Alter“ (x-Achse) und „Hormonspiegel“ (y-Achse). Anhand der Punkteverteilungen in den Diagrammen für TSH, fT4 und fT3 wird deutlich, dass ein Zusammenhang zwischen Hormon und Alter besteht, da sich die Messwerte relativ dicht beieinander befinden und sich deren Lage mit dem Alter verändert. Allerdings scheint der Zusammenhang auch noch von anderen Faktoren überlagert zu sein. Im ersten Lebensjahr kann eine weite Streuung der Punkte beobachtet werden, die bis zum zweiten Lebensjahr deutlich abnimmt. Die negative Steigung der Regressionsgeraden zeigt einen gegensinnigen Zusammenhang an, was auf tendenziell niedrigere Hormonwerte mit zunehmendem Alter hinweist.

Darüber hinaus wurde als Maß für die Stärke eines monotonen Zusammenhanges der Merkmale der Korrelationskoeffizient „ $\rho$ “ nach Spearman für die Altersspanne von 0 bis 18 Jahren berechnet. Die Beobachtungen aus den graphischen Darstellungen wurden hierbei bestätigt und quantifiziert.

Es ergab sich eine leichte, inverse Abhängigkeit der Hormonparameter vom Lebensalter (TSH:  $\rho = -0,266$ ; fT4:  $\rho = -0,190$ ; fT3:  $\rho = -0,257$ ), wobei sich die Korrelation auf dem 0,01-Niveau signifikant zeigte. Es konnte ebenfalls ein signifikanter ( $p < 0,05$ ), gegensinniger Zusammenhang zwischen Körpergewicht und den Hormonparametern (TSH:  $\rho = -0,285$ ; fT4:  $\rho = -0,157$ ; fT3:  $\rho = -0,241$ ), zwischen Körpergröße und den Hormonparametern (TSH:  $\rho = -0,296$ ; fT4:  $\rho = -0,147$ ; fT3:  $\rho = -0,262$ ), zwischen Kopfumfang und den Hormonparametern (TSH:  $\rho = -0,307$ ; fT4:  $\rho = -0,162$ ; fT3:  $\rho = -0,185$ ) und zwischen BMI und den Hormonparametern TSH ( $\rho = -0,161$ ) und fT4 ( $\rho = -0,161$ ) nachgewiesen werden. Zum Vergleich und zur besseren Einschätzung dieser Beobachtungen wurde der Korrelationskoeffizient für den bekanntlich gleichsinnigen Zusammenhang zwischen den Merkmalen Körpergröße und Gewicht im Kindesalter aus dem Datensatz mit  $\rho > 0,98$  ( $p < 0,01$ ) bestimmt.



### 3.4 Frühgeborene in der Studie

Unter den initial in die Studie aufgenommenen Kindern befanden sich auch 97 Frühgeborene. Mittels Kruskal–Wallis-Test wurde untersucht, ob reife Neugeborene, Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht  $>1500$  g und  $<1500$  g in Gruppe 1 (0 - 7 Tage alt) und 2 (8 - 28 Tage alt) bezüglich der Schilddrüsenhormonparameter einer gemeinsamen Grundgesamtheit entstammen. Dabei zeigte sich für Gruppe 1 kein signifikanter Unterschied für TSH, fT4, fT3 zwischen Reifgeborenen ( $n = 48$ ), Frühgeborenen  $<1500$  g ( $n = 4$ ) und Frühgeborenen  $>1500$  g ( $n = 17$ ). In Gruppe 2 lässt sich ein signifikanter ( $p < 0,05$ ) Unterschied zwischen Reifgeborenen ( $n=34$ ), Frühgeborenen  $<1500$  g ( $n = 15$ ) und  $>1500$  g ( $n = 21$ ) feststellen. Aufgrund dieser Beobachtungen wurden zunächst separate Referenzintervalle für Frühgeborene berechnet. In Abbildung 7 sind die Messwerte von Früh- und Reifgeborenen bis zu einem Lebensalter von 28 Tagen gegenübergestellt. Tabelle 2 zeigt die Referenzbereiche für Frühgeborene.

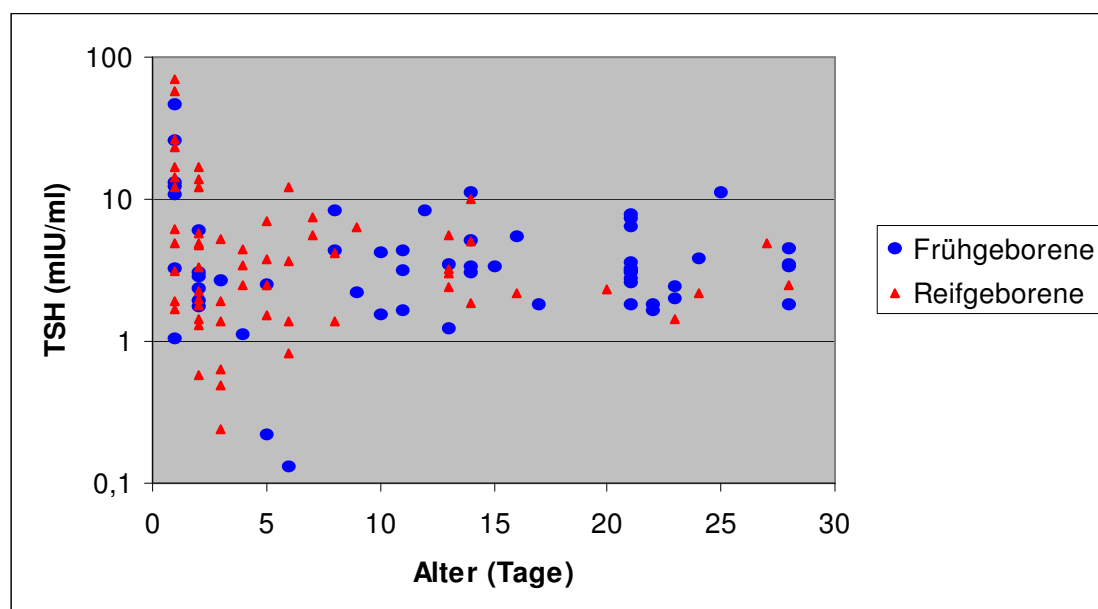


Abb. 7: TSH-Messwerte von Früh- und Reifgeborenen; Alter 0-28 Tage

Tabelle 2: Referenzbereiche für Frühgeborene

Alter	Perzentilen		
	2,5.	50.	97,5
<b>TSH</b>			
0 – 7 Tage	0,08	2,65	35,55
8 – 28 Tage	1,57	3,30	10,91
<b>FT4</b>			
0 – 7 Tage	13,09	17,45	30,18
8 – 28 Tage	6,14	15,95	24,42
<b>FT3</b>			
0 – 7 Tage	1,56	4,38	10,53
8 – 28 Tage	1,54	4,75	8,39

### ***3.5 Erstellung von Referenzbereichen der Schilddrüsenhormonparameter TSH, fT4 und fT3***

Zur Bestimmung der Referenzbereiche wurden, wie bereits beschrieben, zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt. Zunächst erfolgte die Berechnung der einzelnen Referenzbereiche für die acht verschiedenen Altersgruppen.

#### ***3.5.1 Referenzbereiche für verschiedene Altersgruppen***

##### ***3.5.1.1 Transformation und Tests auf Normalverteilung***

Nach Box–Cox-Transformation wurde der Schapiro–Wilk-Test zur Überprüfung einer Normalverteilung durchgeführt. Dieser bestätigte die Normalverteilung der Hormonwerte TSH, fT4 und fT3 nach Transformation in den meisten Fällen. In Gruppe 6 und 7 ergab der Test für fT4 ein knapp signifikantes Ergebnis ( $p < 0,05$ ), sodass sich hier keine Normalverteilung bestätigen lässt.

### 3.5.1.2 Ausreißerererkennung

Die Abbildungen 8, 9 und 10 zeigen Box–Whisker-Plots der noch nicht transformierten Hormonwerte. Jede Altersgruppe (Gruppennummer auf der x-Achse) wird hierbei von einer rechteckigen Box repräsentiert.

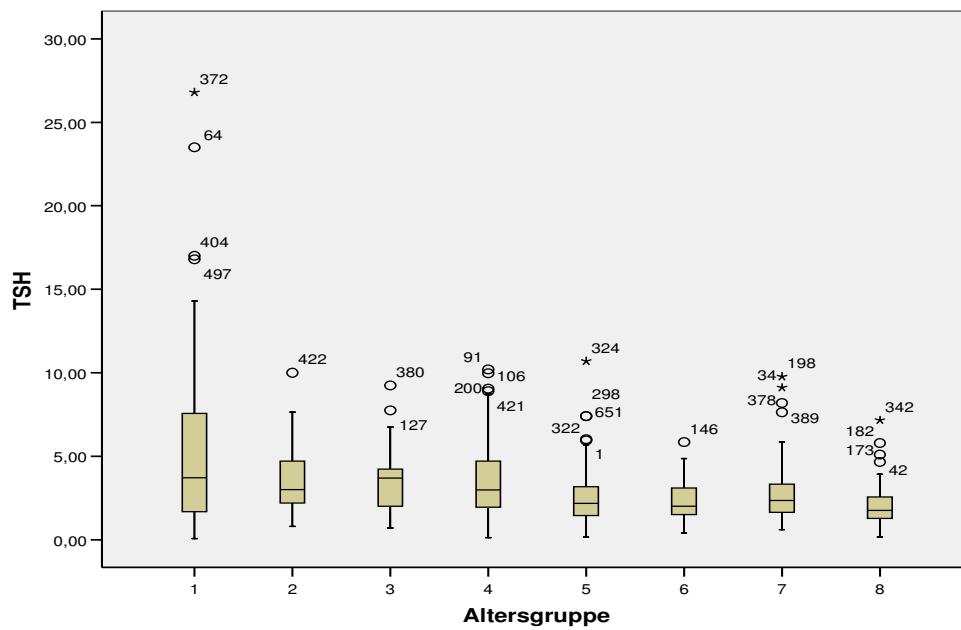


Abb. 8: Box–Whisker-Plots für TSH in den einzelnen Altersgruppen

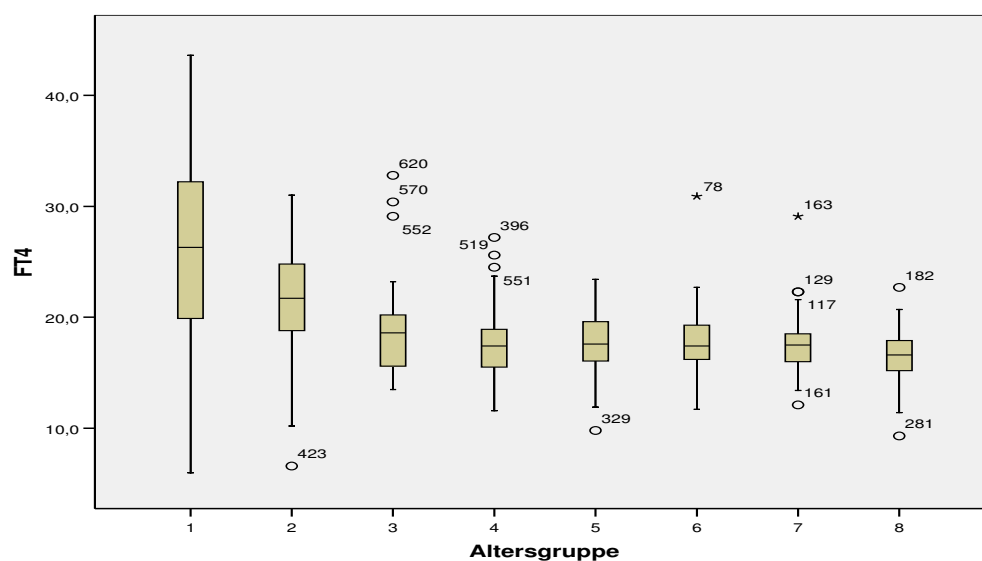


Abb. 9: Box–Whisker-Plots für fT4 in den einzelnen Altersgruppen

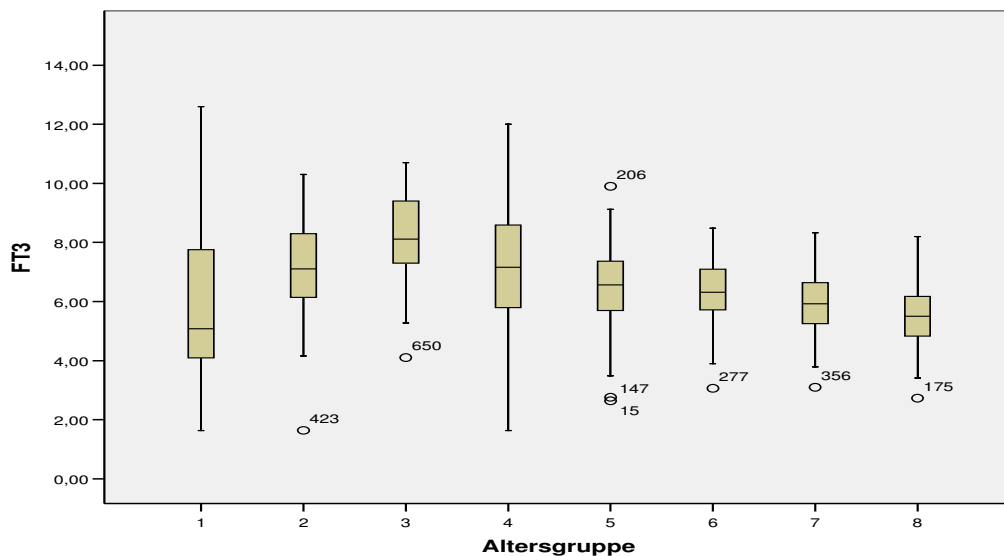


Abb. 10: Box-Whisker- Plots für fT3 in den einzelnen Altersgruppen

Bei Betrachtung der Boxplots fällt auf, dass die Boxen und Whiskers bei allen drei Hormonen in Gruppe 1 am längsten sind und hier folglich die breiteste Streuung der Messwerte vorliegt. Mit zunehmendem Alter der Kinder und entsprechend steigender Gruppennummer, werden die Boxen kürzer, bis ab Gruppe 5 die Länge in etwa gleich bleibt. Eine Ausnahme hiervon stellen die Boxen von TSH und fT3 in Gruppe 4 dar, die eine breitere Streuung der Ergebnisse zeigen. Die Medianwerte von TSH und fT4 nehmen diskontinuierlich mit zunehmendem Kindesalter ab. Der Median von fT3 hingegen steigt zunächst bis Gruppe 3 an, und fällt anschließend kontinuierlich bis Gruppe 8 ab. Die Boxplots von Gruppe 5 und 6 weisen für TSH, fT4 und fT3 eine ähnliche Länge und Lage vor.

Nach Transformation der Messwerte und Ausreißererkenkung nach Tukey wurden insgesamt 23 (4,1%) der transformierten Werte als Ausreißer deklariert und aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Unter den Ausreißern befanden sich zehn TSH-, neun fT4- und vier fT3 Werte.

### 3.5.1.3 TSH-Referenzbereich

Aus den transformierten, ausreißerfreien Datensätzen wurden die 2,5., 50. und 97,5. Perzentile der einzelnen Altersgruppen berechnet und im Anschluss mittels Umkehrfunktion rücktransformiert und auf zwei Dezimalstellen nach dem Komma gerundet. Da bei einigen Laborproben die Serummenge nicht zur Analyse aller drei Hormone ausreichte und zusätzlich noch die Ausreißer ausgeschlossen wurden, variiert die Anzahl der verwendeten TSH, fT4 und fT3 Ergebnisse. Im Referenzkollektiv waren insgesamt 547 auswertbare TSH-Ergebnisse vorhanden. In Tabelle 3 sind die Mediane und Intervallgrenzen der TSH-Referenzbereiche für die verschiedenen Altersgruppen zusammengefasst und in Abbildung 11 graphisch dargestellt.

Tabelle 3: TSH-Referenzbereiche in den Altersgruppen

<b>TSH (mIU/ml)</b>			
<b>Altersgruppe</b>	<b>Untere Grenze (2,5. Perzentile)</b>	<b>Median (50. Perzentile)</b>	<b>Obere Grenze (97,5. Perzentile)</b>
<b>1</b>	0,26	3,61	26,45
<b>2</b>	0,80	3,00	10,00
<b>3</b>	0,70	3,63	7,75
<b>4</b>	0,25	2,98	9,43
<b>5</b>	0,40	2,18	7,14
<b>6</b>	0,74	2,01	4,84
<b>7</b>	0,82	2,34	8,87
<b>8</b>	0,67	1,76	5,08

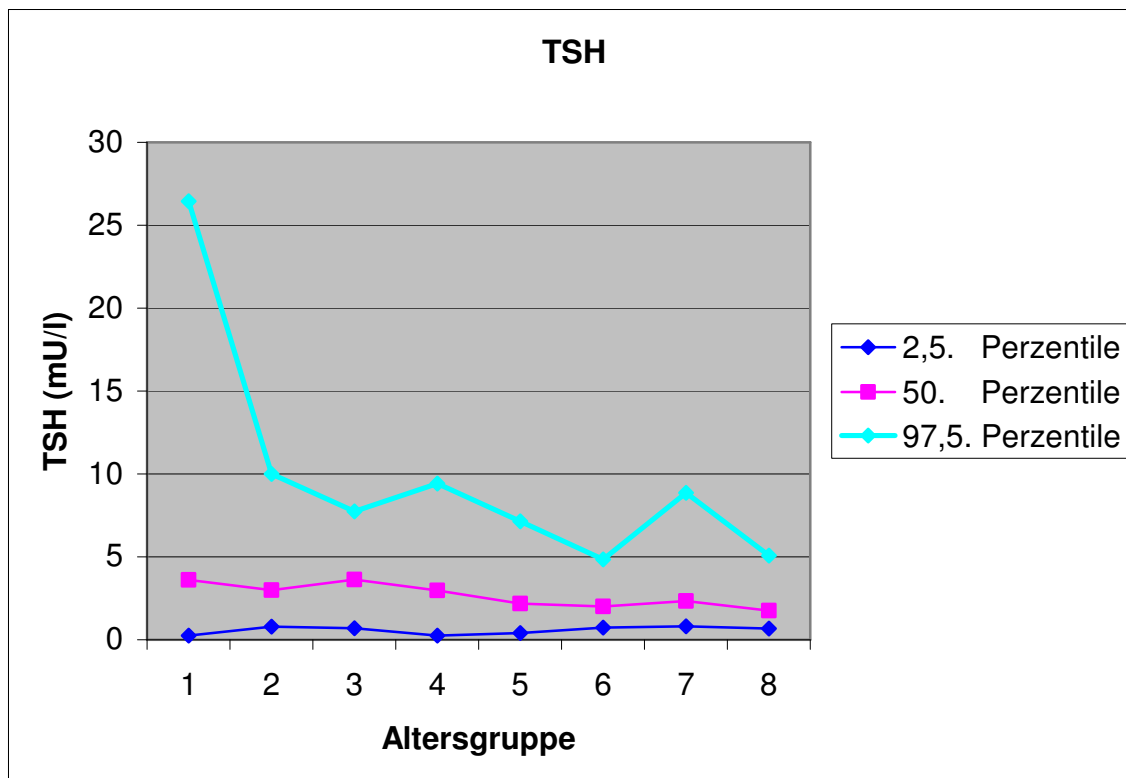


Abb. 11: TSH-Referenzbereiche in den Altersgruppen

Der Median der TSH Konzentrationen liegt in den ersten Lebensmonaten (Gruppe 1, 2, 3) bei maximal 3,61 mU/l und fällt mit steigender Gruppenzahl bzw. zunehmendem Alter auf 1,76 mU/l (Gruppe 8) ab. In der ersten Lebenswoche (Gruppe 1) zeigt der Referenzbereich deutlich die größte Weite. Die 97,5. Perzentile der TSH Konzentrationen fällt von 26,45 mU/l in Gruppe 1 auf 10,00 mU/l in Gruppe 2. Damit liegt die Obergrenze des Referenzintervalls in den ersten Lebenstagen um das 2,5 fache höher als in den folgenden Lebenswochen. Anschließend sinkt die 97,5. Perzentile auf 5,08 mU/l in der Gruppe der 12 bis 18 Jährigen (Gruppe 8). Die untere Grenze der Referenzbereiche schwankt mit minimal 0,25 mU/l (Gruppe 4) und maximal 0,82 mU/l (Gruppe 7) inkonstant zwischen den einzelnen Altersgruppen. Ab einem Alter von einem Jahr (Gruppe 5) zeigt die 2,5. Perzentile eine leicht ansteigende Entwicklung. Anhand des Verlaufs der Perzentilenkurven in Abbildung 11 wird deutlich, dass sich die Ober- und Untergrenzen der Referenzbereiche mit zunehmendem Alter tendenziell annähern und die Referenzbereiche enger werden.

### 3.5.1.4 FT4-Referenzbereich

Aus den transformierten, ausreißerfreien Datensätzen wurden auch hier die 2,5., 50. und 97,5. Perzentilen der einzelnen Altersgruppen berechnet und im Anschluss mittels Umkehrfunktion rücktransformiert und gerundet. Im Referenzkollektiv waren nach Ausschluss der Ausreißer 512 auswertbare fT4-Ergebnisse vorhanden. In Tabelle 4 sind die Mediane und Intervallgrenzen der fT4-Referenzbereiche für die verschiedenen Altersgruppen zusammengefasst und in Abbildung 12 graphisch dargestellt.

Tabelle 4: fT4-Referenzbereiche in den Altersgruppen

<b>FT4 (pmol/l)</b>			
<b>Altersgruppe</b>	<b>Untere Grenze (2,5. Perzentile)</b>	<b>Median (50. Perzentile)</b>	<b>Obere Grenze (97,5. Perzentile)</b>
<b>1</b>	6,00	26,30	43,60
<b>2</b>	6,59	21,70	31,00
<b>3</b>	13,50	18,60	32,80
<b>4</b>	11,89	17,20	23,59
<b>5</b>	11,92	17,60	21,88
<b>6</b>	13,95	17,40	22,09
<b>7</b>	13,44	17,50	22,16
<b>8</b>	11,43	16,60	20,58

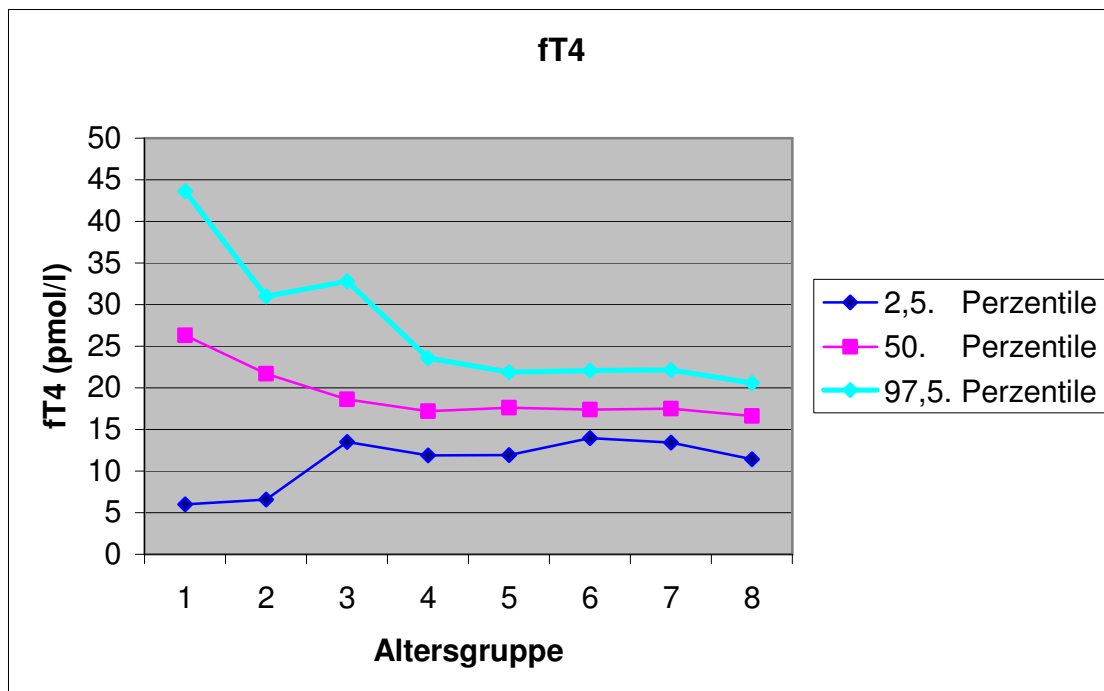


Abb. 12: fT4-Referenzbereiche in den Altersgruppen

Der Median der fT4-Konzentrationen erreicht mit 26,30 pmol/l seinen Maximalwert in der Neonatalperiode (Gruppe 1) und sinkt dann deutlich auf 17,20 pmol/l in Gruppe 4 ab. Anschließend zeigt sich ein fast konstanter Verlauf bis Gruppe 8. Ebenso fällt die 97,5. Perzentile der fT4-Konzentrationen von maximal 43,60 pmol/l in Gruppe 1 auf 23,59 pmol/l in Gruppe 4 stark ab und bleibt dann in den folgenden Jahren nahezu unverändert. Das untere Limit des fT4 Referenzbereiches liegt in der ersten Lebenswoche bei (Gruppe 1) 6,00 pmol/l und verläuft anschließend mit steigender Tendenz. Abbildung 12 macht deutlich, dass der Referenzbereich in den ersten Lebensmonaten eine große Weite annimmt, dann bis zum Ende des ersten Lebensjahres enger wird und schließlich relativ konstant bleibt.

### 3.5.1.5 FT3-Referenzbereich

Im Referenzkollektiv waren nach Ausschluss der Ausreißer insgesamt 479 auswertbare fT3 Ergebnisse vorhanden. In Tabelle 5 sind die Mediane und



Intervallgrenzen der fT3-Referenzbereiche für die verschiedenen Altersgruppen dargestellt. Abbildung 13 verdeutlicht die Ergebnisse graphisch.

Tabelle 5: fT3-Referenzbereiche in den Altersgruppen

<b>FT3 (pmol/l)</b>			
<b>Altersgruppe</b>	<b>Untere Grenze (2,5. Perzentile)</b>	<b>Median (50. Perzentile)</b>	<b>Obere Grenze (97,5. Perzentile)</b>
<b>1</b>	1,64	5,11	12,48
<b>2</b>	1,64	7,03	10,30
<b>3</b>	4,10	8,16	10,70
<b>4</b>	3,05	7,64	10,68
<b>5</b>	2,73	6,71	8,70
<b>6</b>	4,70	6,33	8,42
<b>7</b>	4,00	5,94	8,18
<b>8</b>	3,30	5,64	7,54

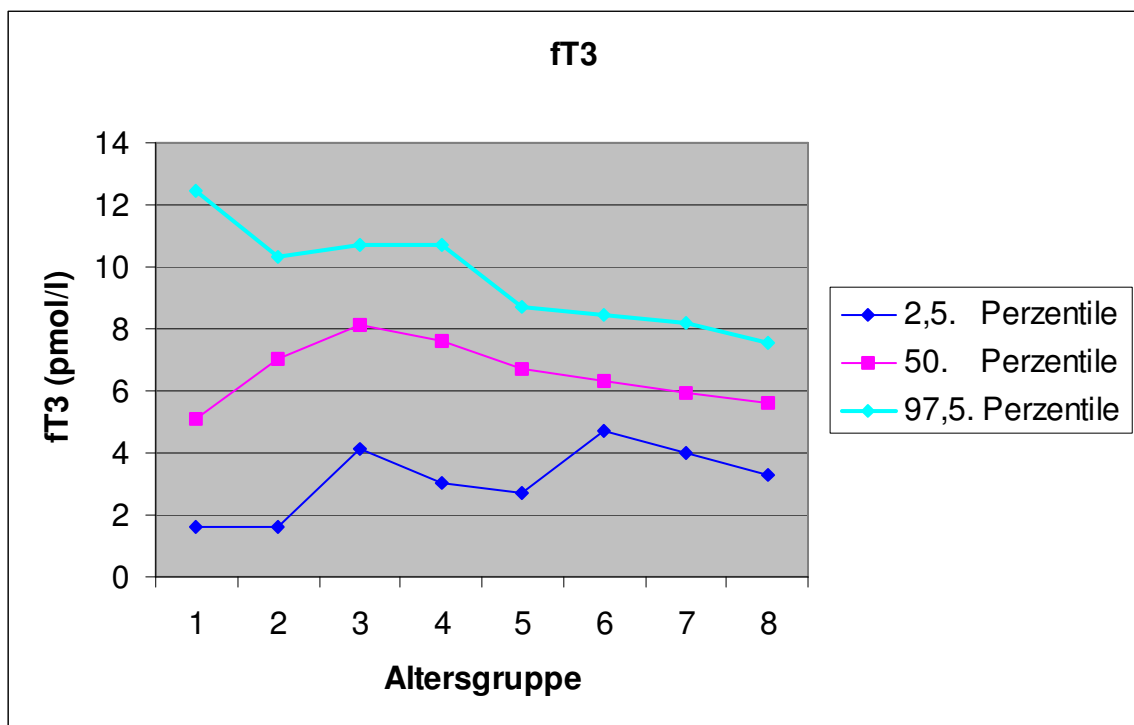


Abb. 13: fT3 - Referenzbereiche in den Altersgruppen

Der Median der fT3-Konzentrationen liegt in den ersten Lebenstagen bei 5,11 pmol/l (Gruppe 1) und erreicht einen Höchstwert mit 8,16 pmol/l (Gruppe 3) um den dritten Lebensmonat (Gruppe 3). Mit zunehmendem Alter sinken die Werte kontinuierlich auf 5,64 pmol/l in der Altersklasse der 12- bis 18-Jährigen (Gruppe 8) ab. Die 2,5. Perzentile zeigt eine etwas inkonstant steigende Tendenz mit Werten von 1,64 pmol/l (Gruppe 1 und 2) auf einen Wert von 3,30 pmol/l (Gruppe 8). Die Obergrenze der Referenzbereiche für fT3 sinkt von 12,48 pmol/l in den ersten Lebenstagen (Gruppe 1) kontinuierlich auf 7,54 pmol/l in der Pubertät (Gruppe 8). Abbildung 13 verdeutlicht, dass sich Ober- und Untergrenze annähern und somit der zunächst relativ weite Referenzbereich mit zunehmendem Lebensalter enger wird. Ab Gruppe 6 bleibt die Weite annähernd konstant.

### ***3.5.2 Erstellung kontinuierlicher Referenzbereiche mittels LMS - Methode***

Die Erstellung kontinuierlicher Referenzbereiche mittels LMS - Methode erfolgte gesondert von den vorherigen Untersuchungen. Hierfür wurden Neugeborene ab einem Lebensalter von drei Tagen herangezogen.

#### ***3.5.2.1 TSH-Referenzbereich***

Es waren 654 auswertbare TSH - Ergebnisse im Referenzkollektiv vorhanden. Vor der LMS - Analyse wurden daraus 6 Ausreißer eliminiert. Die TSH- Messwerte zeigten keine Normalverteilung ( $p < 0,001$ ) und es gab bezüglich der TSH-Ergebnisse keinen signifikanten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Kindern ( $p = 0,20$ ).

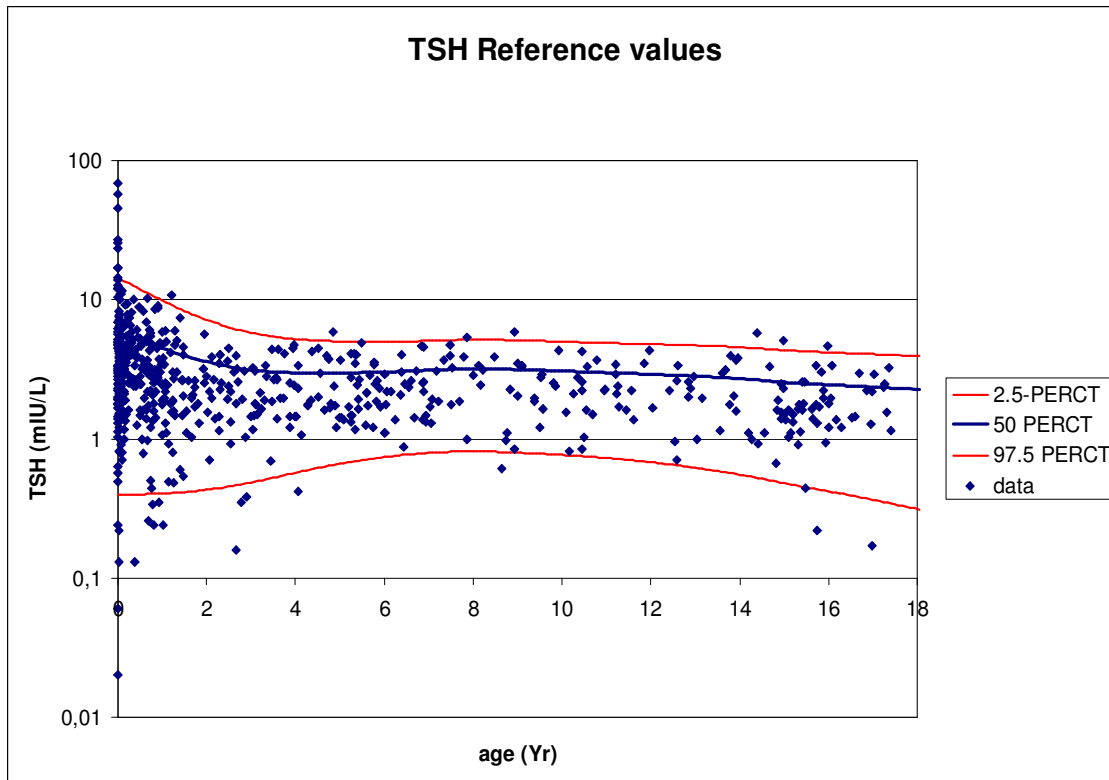


Abb. 14: Kontinuierliche TSH-Referenzbereiche für Kinder in Abhängigkeit vom Alter. TSH ist auf der y-Achse wegen starker Streuung der Werte in den ersten Lebensstagen logarithmisch aufgetragen

Abbildung 14 zeigt die Referenzbereichskurve für TSH als eine Funktion des Alters. Die Rauten im Diagramm stellen die TSH-Werte der Referenzindividuen dar. An der Häufung der Rauten im linken, äußeren Teil des Diagramms wird deutlich, dass eine große Anzahl der Kinder in der Referenzpopulation ein Lebensalter von unter einem Jahr aufwies. Der Referenzbereich befindet sich in der Abbildung zwischen den beiden in rot dargestellten Perzentilenkurven, die somit dessen Ober- und Untergrenze bilden.

In der Neugeborenenperiode erreichen sowohl Median als auch 97,5. Perzentile ihre Maximalwerte und sinken dann bis zum dritten Lebensjahr auf deutlich niedrigere Werte ab. Im 4. Lebensjahr liegen die Werte von Median und Obergrenze bei 2,11 mU/l und 5,21 mU/l. Vom vierten bis 18. Lebensjahr zeigt sich schließlich ein relativ konstanter Verlauf mit leicht abfallender Tendenz. Die 2,5.

Perzentile bleibt bis zum Ende des ersten Lebensjahres konstant bei ca. 0,40 mU/l, zeigt dann eine schwach steigende Entwicklung bis etwa zum neunten Lebensjahr und fällt schließlich bis zum achtzehnten Lebensjahr auf etwas niedrigere Werte ab. Da sich Ober- und Untergrenze annähern, weist der Referenzbereich in den ersten Lebensmonaten die größte Weite auf und wird anschließend bis zum dritten Lebensjahr deutlich enger. Repräsentative Punkte der Kurve aus Abbildung 14 wurden in Tabelle 6 wiedergegeben.

Tabelle 6: altersabhängige TSH-Perzentilen

Alter	Perzentilen				
	2.5	25	50	75	97.5
<b>TSH (mIU/l)</b>					
<b>1 Monat</b>	0.40	1.74	3.25	5.64	13.9
<b>3 Monate</b>	0.40	1.71	3.15	5.41	13.1
<b>1 Jahr</b>	0.40	1.57	2.74	4.47	9.85
<b>4 Jahre</b>	0.57	1.43	2.11	2.98	5.21
<b>7 Jahre</b>	0.79	1.68	2.33	3.11	5.05
<b>12 Jahre</b>	0.68	1.52	2.15	2.91	4.79
<b>18 Jahre</b>	0.31	1.03	1.58	2.27	3.92

Abbildung 15 zeigt die TSH-Werte der Referenzindividuen direkt nach der Geburt und in den ersten fünf Lebenstagen. Die TSH- Konzentration im Serum erreichte zum Teil in den ersten Lebensstunden sogar bei gesunden Neugeborenen extrem hohe Werte von ca. 70 mU/l. Bis zum dritten Lebenstag normalisierten sich die Hormonspiegel allerdings wieder weitgehend. Da aber erst Neugeborene ab dem dritten Lebenstag für die Erstellung der Kurven herangezogen wurden, erfolgte eine gesonderte graphische Darstellung dieser Beobachtungen in Abbildung 15.

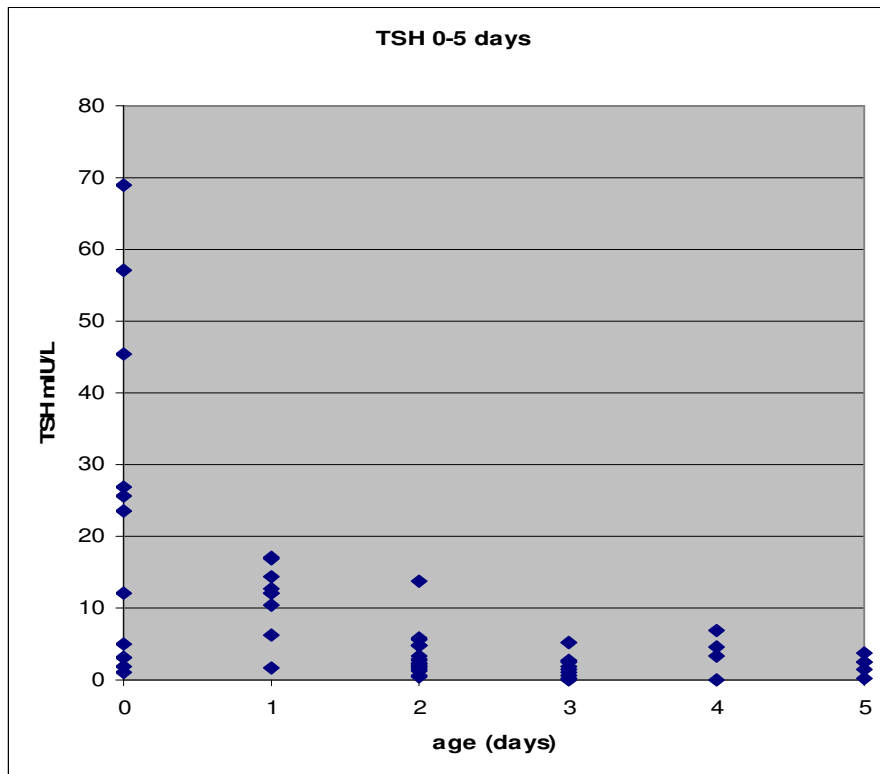


Abbildung 15: TSH-Werte bei gesunden Kindern direkt nach der Geburt.

### 3.5.2.2 FT4-Referenzbereich

601 auswertbare fT4-Ergebnisse standen aus der Referenzpopulation zur Verfügung. Vor der LMS-Analyse wurde ein Ausreißer eliminiert. Die fT4-Werte waren ebenfalls nicht normalverteilt ( $p < 0.001$ ) und es gab auch hier keine signifikanten Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Kindern ( $p = 0,61$ ).

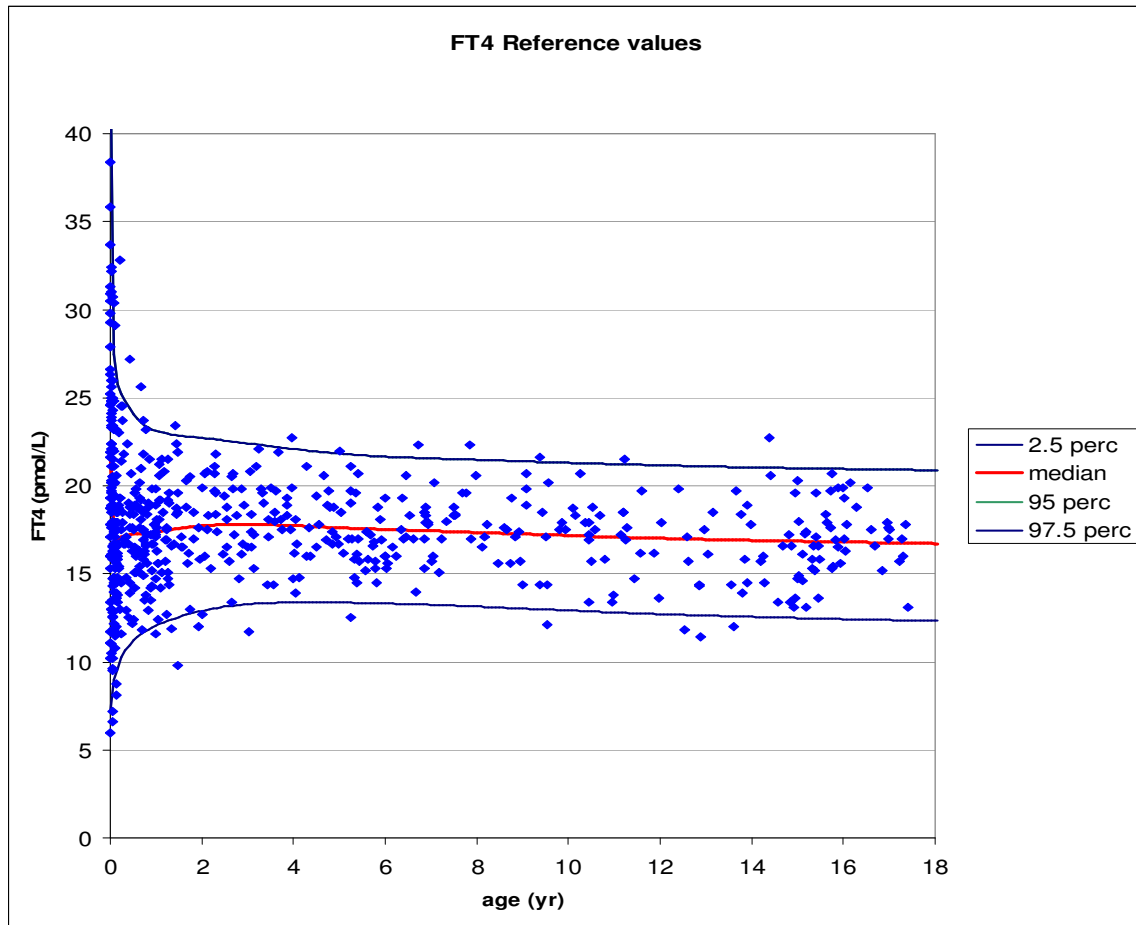


Abb. 16: Kontinuierliche fT4 - Referenzbereiche für Kinder in Abhängigkeit vom Alter.

Abbildung 16 zeigt die Referenzkurve für fT4 als eine Funktion des Alters. Die fT4-Werte der Referenzindividuen weisen in der Neonatalperiode eine breite Streuung auf, was sich in einem sehr weiten Referenzbereich widerspiegelt. Bis zum zweiten Lebensjahr nähern sich Ober- und Untergrenze stark an und der Referenzbereich wird deutlich enger. Die 97,5. Perzentile fällt innerhalb des ersten Lebensjahres auf 23,1 pmol/l ab. Median und Untergrenze nehmen bei einem Alter von einem Lebensjahr Werte von 17,4 pmol/l und 12,0 pmol/l an. Vom dritten bis 18. Lebensjahr bleibt die Referenzbereichweite nahezu konstant, da Median, 2,5. und 97,5. Perzentile annähernd parallel, mit geringfügig sinkender Tendenz verlaufen. Repräsentative Punkte der Kurve aus Abbildung 16 wurden in Tabelle 7 wiedergegeben.

Tabelle 7: altersabhängige fT4-Perzentilen

Alter	Perzentilen				
	2.5	25	50	75	97.5
<b><i>Freies T4 (pmol/l)</i></b>					
<b>1 Monat</b>	9.0	14.1	17.2	20.5	27.5
<b>3 Monate</b>	10.2	14.6	17.1	19.7	25.2
<b>1 Jahr</b>	12.0	15.5	17.4	19.3	23.1
<b>4 Jahre</b>	13.4	16.2	17.7	19.2	22.1
<b>7 Jahre</b>	13.2	16.0	17.4	18.9	21.6
<b>12 Jahre</b>	12.7	15.6	17.0	18.5	21.2
<b>18 Jahre</b>	12.3	15.2	16.7	18.2	20.9

### **3.5.2.3 FT3-Referenzbereich**

Bei 558 Patienten waren auswertbare fT3-Ergebnisse in der Referenzpopulation vorhanden. Vor LMS-Analyse wurde ein Ausreißer eliminiert. Die FT3-Werte waren normalverteilt ( $p=0,20$ ) und der Unterschied der fT3-Spiegel zwischen männlichen und weiblichen Kindern verpasste knapp die statistische Signifikanz ( $p=0,501$ ).

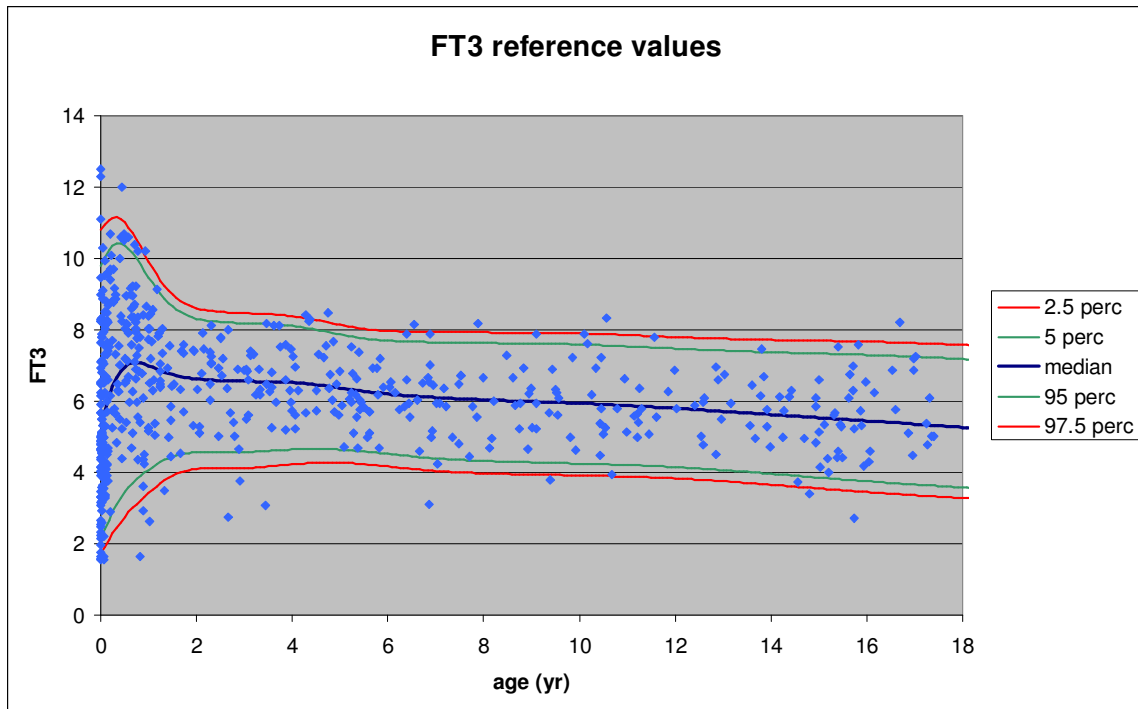


Abb. 17: Kontinuierliche fT3-Referenzbereiche für Kinder in Abhängigkeit vom Alter.

Abbildung 17 zeigt die Referenzbereichkurve für fT3 als eine Funktion des Alters. Aufgrund der breiten Streuung der fT3-Resultate in der Neonatalperiode, nimmt der Referenzbereich hier die größte Weite ein. Die Referenzintervallgrenzen nähern sich im Säuglingsalter stark an und der Referenzbereich wird mit einer Untergrenze von ca. 4 pmol/l und einem oberen Grenzwert von etwa 8,5 pmol/l im zweiten Lebensjahr entsprechend enger. Der Median der fT3-Werte liegt nach der Geburt bei ca. 5,6 pmol/l, steigt zunächst an und erreicht einen Maximalwert von ca. 7 pmol/l gegen Ende des ersten Lebensjahres an. Mit zunehmendem Alter fällt der Medianwert dann aber kontinuierlich bis zu einem Wert von 5,3 pmol/l im 18. Lebensjahr ab. Ober- und Untergrenze sinken entsprechend der 50. Perzentile im Laufe des Lebens tendenziell, so dass die Weite des Referenzbereiches ca. ab dem vierten Lebensjahr konstant bleibt. Repräsentative Punkte dieser Kurve wurden in Tabelle 8 wiedergegeben.



Tabelle 8: altersabhängige fT3-Perzentilen

Alter	Perzentilen				
	2.5	25	50	75	97.5
<b><i>Freies T3 (pmol/l)</i></b>					
<b>1 Monat</b>	1.9	4.2	5.7	7.4	11.0
<b>3 Monate</b>	2.3	4.9	6.4	8.0	11.1
<b>1 Jahr</b>	3.4	5.9	7.0	8.0	9.9
<b>4 Jahre</b>	4.2	5.8	5.6	7.2	8.4
<b>7 Jahre</b>	4.0	5.4	6.1	6.8	7.9
<b>12 Jahre</b>	3.8	5.1	5.8	6.5	7.8
<b>18 Jahre</b>	3.3	4.5	5.3	6.0	7.6

## **4 Diskussion**

In dieser Arbeit wurden altersabhängige Referenzbereiche der Schilddrüsenhormonparameter TSH, fT3 und fT4 für Neugeborene, Säuglinge, Kinder und Jugendliche erstellt. Mittels Immulite® 2000 Immunoassay erfolgte dafür die Untersuchung schilddrüsengesunder Patienten der Universitäts-Kinderklinik Würzburg. Es wurden sowohl Referenzintervalle für verschiedene Altersgruppen, als auch kontinuierliche Referenzbereichskurven berechnet.

### **4.1 Vergleich der Ergebnisse mit der aktuellen Literatur**

#### **4.1.1 Probleme beim Vergleich der Referenzbereiche unterschiedlicher Arbeitsgruppen**

In der wissenschaftlichen Literatur wurden bereits einige Studien mit Referenzbereichen für Schilddrüsenhormone bei Kindern veröffentlicht. Ein Problem beim Vergleich unserer Ergebnisse mit denen vorheriger Arbeiten ist, dass häufig verschiedene Messmethoden oder Analysegeräte verwendet wurden und somit die Messwerte differieren (Grüters 2003). Auch die gewählte statistische Methode beeinflusst die Ergebnisse der Berechnungen (Reed et al. 1971). Darüber hinaus entstehen abweichende Resultate in Abhängigkeit davon, ob einzelne Referenzbereiche für verschiedene Altersgruppen oder kontinuierliche altersabhängige Referenzintervalle generiert werden. Ein Vergleich der Intervalle wird zusätzlich dadurch erschwert, dass in einigen Studien anstelle der 2,5. und 97,5. Perzentile, andere Fraktile als Referenzbereichsgrenzen verwendet wurden (Djemli et al. 2004, Marwaha et al. 2008). Auch die unterschiedliche Herkunft der Referenzpopulationen, die ungleichen Gruppengrößen und inhomogenen Selektionskriterien erschweren eine Gegenüberstellung der Ergebnisse unterschiedlicher Arbeitsgruppen und führen zu abweichenden Absolutwerten der Intervallgrenzen.

### **4.1.2 Einfluss des Geschlechts auf die Referenzintervalle**

In vorliegender Studie konnte beim Vergleich aller Jungen und Mädchen von 0 bis 18 Lebensjahren kein geschlechtsabhängiger Unterschied zwischen den Hormonkonzentrationen nachgewiesen werden. Die Gegenüberstellung beider Geschlechter innerhalb der einzelnen Altersgruppen zeigte lediglich in Gruppe 8 (12.-18. Lebensjahr) einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Medianen der fT3-Konzentrationen von Jungen und Mädchen. Da sonst in keiner Altersgruppe, für keinen weiteren Parameter eine nennenswerte Abweichung festgestellt werden konnte, wurden beide Geschlechter zu einer Gruppe zusammengefasst und gemeinsame Referenzbereiche bestimmt. Dadurch stand - im Vergleich zu einer getrennten Betrachtung von Jungen und Mädchen - eine größere Anzahl an Kindern pro Altersgruppe zur Verfügung.

Interessanterweise konnten auch Hübner et al. (2002) einen signifikanten Unterschied der fT3-Konzentration in der Altersgruppe der elf bis 14-Jährigen nachweisen, wohingegen sich beim Vergleich der Gesamtzahl an Jungen und Mädchen unabhängig der Altersgruppen ebenfalls keine geschlechtsbedingten Differenzen feststellen ließen. Gleichermäßen beschrieben Kapelari et al. (2008), dass die Mediane der fT3-Konzentrationen bei Jungen höher als bei Mädchen waren, während für TSH und fT4 kein Geschlechtsunterschied belegt werden konnte. Im Gegensatz dazu fanden Zurakowski et al. (1999) verschiedene TSH-Konzentrationen bei Jungen und Mädchen und Djemli et al. (2004) ungleiche fT4-Konzentrationen in der Altersgruppe der 15 bis 17-Jährigen. Elmlinger et al. (2001) wiederum konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede ermitteln. Die Gründe für diese uneinheitlichen Untersuchungsergebnisse sind nicht vollständig geklärt. Mögliche Ursachen könnten die teilweise nur geringe Anzahl an Kindern pro Altersgruppe bei den einzelnen Vergleichen und unterschiedliche statistische Methoden sein.

### **4.1.3 Schilddrüsenhormone bei Frühgeborenen**

Für Neugeborene innerhalb der ersten sieben Lebenstage konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Hormonkonzentrationen von Reifgeborenen, Frühgeborenen <1500g und >1500g beobachtet werden. Allerdings waren bei Kindern im Alter von acht bis 28 Tagen in diesen Subgruppen die Konzentrationen der Schilddrüsenhormone statistisch nicht gleich. Es bleibt jedoch fraglich ob dies wirklich ein repräsentatives Ergebnis darstellt, da die Anzahl der Frühgeborenen in den untersuchten Subgruppen zum Teil nur sehr gering war. Die initial separat für Frühgeborene erstellten Referenzbereiche weisen einen etwas weiteren TSH Referenzbereich in den ersten sieben Lebenstagen auf und die Median-Konzentrationen von TSH, fT4 und fT3 liegen im Vergleich zu Reifgeborenen in entsprechenden Altersgruppen etwas niedriger.

In früheren Studien wurden ebenfalls Unterschiede zwischen den Schilddrüsenhormonspiegeln von Früh- und Reifgeborenen beobachtet. Obwohl die postnatalen Hormonveränderungen eine ähnliche Tendenz wie bei Reifgeborenen haben, sind bei Frühgeborenen die Konzentrationen der freien Schilddrüsenhormone und der TSH-Anstieg nach Geburt etwas niedriger (Uhrmann et al. 1978). Die Hormonspiegel korrelieren dabei eng mit dem Gestationsalter. Je niedriger das Gestationsalter, desto geringer sind auch die Hormonkonzentrationen. Nach der Geburt erfolgt ein kontinuierlicher Anstieg bis zu einem post-konzeptionellen Alter von 40 Wochen (Grüters 2003, Chung et al. 2009). Als Ursache dafür kämen ein noch nicht vollkommen etablierter Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Regelkreislauf und ein unausgereifter Hormonmetabolismus in Frage. Hinzu kommt, dass bei Frühgeborenen durch ein niedriges Geburtsgewicht und systemische Erkrankungen, wie z. B. das Atemnotsyndrom, oft ein therapiebedürftiger Gesundheitszustand besteht, der ebenfalls die Schilddrüsenfunktion beeinflussen kann (Chung et al. 2009). Zu vorherigen Publikationen widersprüchliche Resultate präsentieren Clark et al. (2001) an einer ausgewählten Gruppe gesunder Frühgeborener. Hier

korrelieren die TSH- und fT4-Konzentrationen nur mit dem postnatalen und nicht mit dem post-konzeptionellen Alter der Kinder. Die fT4-Konzentrationen wurden schon relativ früh stabil reguliert und entsprachen denen älterer Kinder.

Aufgrund dieser unterschiedlichen Beobachtungen wurden zunächst separate Referenzbereiche für Frühgeborene berechnet, um eine mögliche Beeinflussung der Referenzwerte von Reifgeborenen in den einzelnen Altersgruppen zu vermeiden. Da aber ein großer Anteil der Krankenhauspatienten in den ersten Lebenswochen aus Frühgeborenen bestand und das gesamte Spektrum an Neugeborenen der Kinderklinik repräsentiert sein sollte, wurden zur Berechnung kontinuierlicher Referenzbereiche mittels LMS-Methode schließlich auch Frühgeborene mit einbezogen. Auch in früheren Studien (z. B. bei Kratzsch et al. 2008) wurden Frühgeborene als Referenzindividuen für die Berechnungen der Intervalle verwendet.

#### ***4.1.4 Referenzbereiche für Schilddrüsenhormone bei Kindern***

In diese Studie wurden insgesamt 669 Individuen eingeschlossen. Somit ist die Anzahl der Referenzindividuen durchaus mit der vorheriger Arbeiten (Wiedemann et al. 1993, Elmlinger et al. 2001, Djemli et al. 2004) vergleichbar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen deutlich, dass sich die Schilddrüsenhormonspiegel im Laufe der Kindheit verändern. Es besteht eine signifikante, inverse Abhängigkeit der Hormonparameter vom Alter. Dies bedeutet, dass die Hormonkonzentrationen mit zunehmendem Lebensalter überwiegend absinken. Die größten Veränderungen finden dabei in den ersten beiden Lebensjahren statt. Diese Beobachtungen stimmen mit denen zahlreicher vorhergehender Studien (z. B. Nelson et al. 1993, Elmlinger et al. 2001., Djemli et al. 2004, Zurakowski et al. 1999) überein.

#### **4.1.4.1 TSH - Referenzbereich**

Der Medianwert der TSH-Konzentrationen weist bis zum dritten Lebensjahr die größten Veränderungen auf und fällt bis dahin auf deutlich niedrigere Werte ab. Anschließend ist der Verlauf bis zum 18. Lebensjahr relativ konstant mit sinkender Tendenz. Der Referenzbereich nimmt in den ersten Lebensmonaten die größte Weite ein und wird dann mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich enger. Die Arbeiten von Hübner et al. (2002) und Kapelari et al. (2008) bestätigen im Wesentlichen diese Resultate. Die von Kratzsch et al. (2008) an einem etwas größeren Kollektiv erstellten TSH-Referenzbereiche zeigen nicht nur einen nahezu identischen altersabhängigen Kurvenverlauf der Perzentilen sondern im Vergleich zu den Ergebnissen vorliegender Arbeit, auch sehr ähnliche Absolutwerte. Grundlage für die ähnlichen Ergebnisse sind wahrscheinlich, trotz Verwendung eines anderen Laboranalysegerätes, das ebenfalls deutsche, hospitalisierte Referenzkollektiv und vergleichbare Selektionskriterien. Allerdings finden sich auch einige interessante Unterschiede unserer Studie im Vergleich zu diversen vorherigen Arbeiten. Beispielsweise sind die TSH-Referenzbereiche etwas weiter als die von Elmlinger et al. (2001) erstellten Intervalle, die ebenfalls mittels Immulite®-Immunoassay an einer deutschen Population generiert wurden. Vor allem die Obergrenze des TSH-Referenzbereichs liegt bei Elmlinger et al. (2001) deutlich niedriger. Eine mögliche Erklärung könnte die Verwendung einer anderen statistischen Methode zur Berechnung der Referenzbereiche sein. Aber auch die, mittels Immunoassays anderer Hersteller generierten Referenzbereiche von Zurakowski et al. (1999) und Hübner et al. (2002) haben im Vergleich zu vorliegender Arbeit vor allem für Säuglinge eine niedrigere TSH-Intervallobergrenze.

#### **4.1.4.2 FT4 - Referenzbereich**

Der fT4-Referenzbereich nimmt - analog dem TSH-Referenzbereich - in der Neonatalperiode die größte Weite ein und wird dann bis zum zweiten Lebensjahr deutlich enger. Vom vierten bis 18. Lebensjahr bleibt die

Referenzbereichweite nahezu konstant, während Median, Ober- und Untergrenze des Intervalls geringfügig sinken. Ursächlich für die kontinuierlich niedriger werdenden fT4- und fT3-Konzentrationen während der Kindheit könnte der bei jungen Kindern höhere und mit dem Alter abfallende Schilddrüsenhormonumsatz sein (Grüters 2003). Vergleichbare Ergebnisse lieferten die Untersuchungen von Djemli et al. (2004), Kapelari et al. (2008) und Hübner et al. (2002). Bei Zurakowski et al. (1999) liegen Median und 97,5. Perzentile der fT4-Konzentrationen von Säuglingen etwas höher und entsprechend präsentiert sich auch das Referenzintervall weiter als in dieser Arbeit. Soldin et al. (2009) fanden mittels einer auf Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie basierenden Messmethode eine über alle Altersklassen hinweg gleichbleibende Untergrenze des fT4-Referenzbereiches. Letztgenanntes Ergebnis stimmt jedoch - vermutlich aufgrund der unterschiedlichen Messmethode - nicht mit den Beobachtungen in der vorliegenden Arbeit und den Erkenntnissen aus anderen Studien überein.

#### **4.1.4.3 FT3 - Referenzbereich**

Wie erwartet erreicht auch der fT3-Referenzbereich in den ersten Lebensmonaten die größte Weite. Bis zum zweiten Lebensjahr nähern sich Ober- und Untergrenze stark an. Der Median der fT3-Werte steigt nach der Geburt zunächst bis zum Ende des ersten Lebensjahres an, und fällt anschließend zusammen mit Ober- und Untergrenze kontinuierlich ab. Soldin et al. (2009) fanden eine konstante Untergrenze des fT3-Referenzbereiches, die mit zunehmendem Kindesalter keinen Veränderungen unterlag. Die Obergrenze hingegen zeigte einen leichten Anstieg in der Altersgruppe der acht bis 13 Jährigen. Auch Kratzsch et al. (2008) wiesen einen diskreten Anstieg von Median, 2,5. Perzentile und 97,5. Perzentile zu Beginn der Pubertät nach. Diese Beobachtungen konnten in unserer Studie nicht bestätigt werden und auch Elmlinger et al. (2001) fanden keine Auswirkungen des Stadiums der sexuellen Reife auf die Schilddrüsenfunktion.

#### **4.1.5 Schilddrüsenhormonspiegel bei Neugeborenen**

Die Hormonkonzentrationen unmittelbar nach der Geburt und in den ersten Lebenstagen unterliegen starken Veränderungen und müssen gesondert betrachtet werden. Die TSH-Spiegel steigen bei Neugeborenen in den ersten Lebensstunden auf teils extrem hohe Werte an und normalisieren sich dann wieder weitgehend bis zum dritten Lebenstag. Eine solche erhöhte postnatale Sekretion von TSH wurde bereits von vielen Autoren beschrieben (Grüters 2003, Clark et al. 2001). In dieser Studie konnten am ersten Lebenstag TSH-Werte von bis zu 70 mU/l gemessen werden. Bei den Untersuchungen von Kratzsch et al. (2008), erreichten die TSH-Konzentrationen direkt nach der Geburt sogar Werte bis zu 100mU/l. Allerdings sanken die Hormonspiegel auch wieder relativ schnell, so dass ab dem zweiten Lebenstag Werte über 20mU/l eher selten vorkamen. Kawahara und Yokoya (2002) beschrieben sogar einen Abfall von TSH am vierten Lebenstag auf das Niveau von Erwachsenen, was sich von den Ergebnissen dieser Studie eindeutig unterscheidet. Alle diese Beobachtungen zeigen, dass es praktisch unmöglich ist, TSH Werte unmittelbar nach der Geburt verlässlich zu interpretieren. In einigen Studien (Zurakowski et al. 1999) erfolgte die Intervallberechnung daher komplett ohne Neugeborene und in der vorliegenden Arbeit wurden für die Erstellung der kontinuierlichen Referenzbereichskurven erst Kinder ab einem Lebensalter von zwei Tagen herangezogen.

Auch die freien Schilddrüsenhormone weisen direkt nach der Geburt weit gestreute Werte auf. Da die Konzentrationen von thyroxinbindendem Globulin (TBG) und Präalbumin gleich bleiben, steigen durch die hohe TSH-Sekretion auch die Spiegel von fT4 und fT3 innerhalb von 24 bis 48 Stunden zu Maximalwerten an (Grüters 2003, Kawahara und Yokoya 2002). Bei Elmlinger et al. (2001) fanden sich sogar bis zu 3,2-fach höhere Median-Konzentrationen der freien Schilddrüsenhormone in den ersten zwei Lebenswochen im Vergleich zu älteren Kindern, was unsere ermittelten Werte geringfügig übersteigt. Allerdings nähern sich auch bei Elmlinger et al. (2001), Kapelari et al. (2008)



und Hübner et al. (2002) die fT4-Referenzbereiche nach der Säuglingsperiode deutlich an.

#### ***4.1.6 Vergleich der Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene***

Beim Vergleich der pädiatrischen Referenzbereiche mit den für Erwachsene geltenden Intervallen, die mittels der gleichen ILMA-Methode erstellt wurden, zeigen sich bei Kindern deutlich weitere Referenzbereiche. Vor allem in den ersten Lebensmonaten übersteigen die Intervallobergrenzen von TSH, fT4 und fT3 deutlich die Erwachsener. Auch der Median der TSH-Konzentrationen ist hier wesentlich höher. Die normalen Spiegel der freien Schilddrüsenhormone liegen bei Neugeborenen und Kleinkindern in einem Bereich der für Erwachsene als hyperthyreot ausgewiesen ist. Diese Beobachtungen machen deutlich, dass Erwachsenenreferenzbereiche für Kinder nicht geeignet sind. Mit zunehmendem Lebensalter sinken die Hormonspiegel dann kontinuierlich ab. Ein Hinweis für die Plausibilität der hier ermittelten Referenzbereiche ist, dass die für 17- und 18-Jährige berechneten Intervallgrenzen nahe im Bereich der für Erwachsene geltenden Grenzen liegen.

## ***4.2 Methodenkritik***

### ***4.2.1 Referenzwertproblematik im Kindesalter***

Die Rekrutierung von Patienten zu Studienzwecken birgt oftmals verschiedene Schwierigkeiten. Nur wenige Labore verfügen über ausreichend, gut definierte, gesunde Personen, wie sie von der Internationalen Federation für klinische Chemie (IFCC) gefordert werden. Zur Berechnung von Referenzbereichen nach der nicht-parametrischen Methode, sollte die Referenzpopulation aus mindestens 120 Individuen bestehen (Solberg 1983, Wright und Royston 1999). Wird jedoch, wie in dieser Studie, die Population in zahlreiche Subgruppen unterteilt, ist die geforderte Anzahl an Personen pro Gruppe kaum zu erreichen. Bei einer Gruppengröße von unter 120 Probanden ist die Bestimmung von

Konfidenzintervallen nicht mehr sinnvoll, da dann die Minimal- und Maximalwerte der Messergebnisse das Konfidenzintervall begrenzen würden (Reed et al. 1971, Solberg 1983).

Für die Ausarbeitung pädiatrischer Referenzbereiche sind die Daten jedoch häufig zusätzlich limitiert. Besonders wenn wissenschaftliche Untersuchungen eine Blutprobe gesunder Kinder erfordern, stellt dies ein großes ethisches Problem dar. Blutentnahmen sind für Kinder oft eine psychische Belastung und können besonders im Kleinkindalter traumatisierend sein. Darüber hinaus können Minderjährige nicht frei über die Teilnahme an einer Studie entscheiden und eine Einwilligung bzw. Ablehnung müsste durch die Erziehungsberechtigten erfolgen. Aus diesen Gründen sind allein zu Forschungszwecken durchgeführte Blutentnahmen bei Kindern kaum zu rechtfertigen.

Obwohl das ideale Verfahren zur Erstellung von Referenzbereichen die stichprobenartige Untersuchung ausschließlich gesunder Personen aus der Allgemeinbevölkerung wäre, werden häufig bereits vorhandene Daten von Kindern einer Krankenhauspopulation herangezogen, um eine ausreichende Anzahl an Laborwerten ohne zusätzliche Blutentnahme zu erhalten. Dabei ist es sehr wichtig, dass in die Studie eingeschlossene Patienten an keiner Erkrankung desjenigen Organsystems leiden, das wissenschaftlich untersucht werden soll. Allerdings kann trotz geeigneter Selektionskriterien und sorgfältigem Studium der Krankenakten nicht ausgeschlossen werden, dass ungewollt Patienten mit schweren Krankheiten oder anderen Umständen, die das Laborergebnis beeinflussen, in der Referenzpopulation enthalten sind und somit die Referenzbereiche verfälschen. Ein Vorteil der anhand einer Krankenhauspopulation erstellten Referenzbereiche ist hingegen, dass Patienten mit Referenzindividuen verglichen werden, die ebenfalls hospitalisiert waren und deren Blutproben unter vergleichbaren Umständen, eventuell sogar im gleichen Labor, analysiert wurden (Kouri et al. 1994).

Vor dem Hintergrund oben genannter praktischer und ethischer Gründe wurde auch in dieser Arbeit die Auswertung bereits vorhandener Blutproben eines Krankenhauskollektives als bestmögliche Alternative zur Blutentnahme zu reinen Studienzwecken erachtet.

#### **4.2.2 Selektion von Referenzindividuen**

Nach Gräsbeck (2004) darf eine Referenzpopulation auch kranke Personen beinhalten, vorausgesetzt Selektionskriterien und Gesundheitszustand der Referenzindividuen werden genau beschrieben. Daher wurden in dieser Arbeit bestimmte vordefinierte Ein- und Ausschlusskriterien genutzt, um aus der Gesamtzahl der untersuchten Patienten anhand der verfügbaren klinischen Informationen ein schilddrüsengesundes Referenzkollektiv zu selektionieren. Dieses Vorgehen war notwendig, um Patienten mit Schilddrüsenfunktionsstörungen künftig mittels jener Referenzbereiche identifizieren zu können, die an euthyreoten Kindern erstellt wurden. Entsprechend wurden nur Kinder in die Studie aufgenommen, deren Gesundheitszustand, Erkrankungen und Medikation höchstwahrscheinlich keine Auswirkungen auf die Schilddrüsenfunktion oder Labormessergebnisse hatten. Allerdings war es schwierig, möglichst alle Patienten mit potenziellen Einflussfaktoren auf die Schilddrüsenfunktion auszuschließen und dennoch genügend Kinder in die Studie einschließen zu können. Beispielsweise besteht der Datensatz zu etwa 3 % aus Kindern mit Zystischer Fibrose (CF), bei denen vereinzelt Auffälligkeiten der Schilddrüsenfunktion beschrieben worden waren (De Luca et al. 1982). Da diese Patientengruppe aber regelmäßig, meist in internistisch gutem Gesundheitszustand zu Routinekontrollen in der Klinik erscheint und Volta et al. (2005) keinen Unterschied im Vergleich zur Schilddrüsenfunktion von Gesunden nachweisen konnten, wurden Kinder mit CF in die Studie aufgenommen.

Insgesamt wurde für jedes Kind in Abhängigkeit von Vorerkrankungen und Gesundheitszustand eine individuelle Entscheidung über Ein- bzw. Ausschluss in die Studie gefällt. Anhand der Tatsache, dass von den 1650 analysierten

Blutseren nur 669 für die weiteren Untersuchungen herangezogen wurden, wird klar, wie streng die Kriterien für einen Studieneinschluss waren. Letztendlich kann daher davon ausgegangen werden, dass die Referenzindividuen eine schilddrüsengesunde Population widerspiegeln.

#### ***4.2.3 Referenzintervalle für verschiedene Altersgruppen und kontinuierliche altersabhängige Perzentilenkurven***

Zur Berechnung der Referenzbereiche wurden zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt. Um einen ersten Eindruck über die altersabhängigen Unterschiede von Schilddrüsenhormonen bei Kindern zu erhalten, wurden zunächst separate Referenzbereiche für acht verschiedene Altersgruppen bestimmt. Dieses Vorgehen erleichterte den Vergleich der Ergebnisse mit vorherigen Studien zum selben Thema, da auch hier meist getrennte Referenzbereiche für unterschiedliche Alterssubgruppen erstellt worden waren. Trotz Berücksichtigung bekannter kindlicher Entwicklungsphasen, wurde die Gruppeneinteilung letztendlich jedoch willkürlich vorgenommen. Problematisch ist hierbei, dass die Lage der Referenzbereichsgrenzen davon abhängt, welche Altersspanne eine Gruppe umfasst. Je größer der Altersunterschied der Kinder in einer Gruppe ist, desto ungenauer werden die Referenzbereiche. Darüber hinaus wird bei der Darstellung dieser diskontinuierlichen Referenzbereiche in Tabellen oder Diagrammen deutlich, dass methodenbedingt am Übergang einer Altersklasse zur nächsten eine künstliche Stufe und somit eine unebene Perzentilenkurve entsteht (siehe Abb. 11, 12 und 13). Um zu vermeiden, dass sich die Referenzwerte eines Kindes mit dem Übertritt in ein neues Lebensjahr innerhalb eines Tages verändern, sind glatte Kurven gefordert, die einen fließenden Übergang zwischen den Alterklassen gewährleisten. Zu diesem Zweck war die Berechnung kontinuierlicher Referenzbereiche mittels Kurvenglättung notwendig. Unter Verwendung der LMS-Methode konnte eine Referenzkurve erstellt werden, die kontinuierliche, an das fortschreitende Alter angepasste Referenzbereiche für Kinder von 0 bis 18 Lebensjahren liefert und eine Art „Wachstumskurve“ für Schilddrüsenhormonparameter darstellt. Vorteil

einer solchen Referenzkurve ist, dass passend zu jedem Lebensalter genau das entsprechende Referenzintervall aus dem Diagramm abgelesen und auf eine Klasseneinteilung nach dem Alter verzichtet werden kann.

### ***4.3 Limitationen der vorliegenden Arbeit***

Nicht unerwähnt sollen die Limitationen dieser Arbeit bleiben. Zur Selektion der Referenzindividuen wurden a–posteriori-Ausschlusskriterien verwendet. Dies bedeutet, dass für die Studie geeignete Kinder erst nach Durchführung der Labormessungen ausgewählt wurden. Dieses Vorgehen hat wissenschaftlich eine niedrigere Validität im Vergleich zu einer Selektion a priori, da häufiger systematische Fehler (Bias) auftreten können (Horn und Pesce 2003). Darüber hinaus waren die retrospektiv ausgewerteten klinischen Daten oft unvollständig (z. B. Gewicht und Größe) oder wichtige Informationen wurden nicht dokumentiert und konnten somit auch nicht mit in die Studie einfließen. Da die für die Laboranalysen nur Serumreste verwendet wurden, war aufgrund geringer Mengen nicht immer die Bestimmung aller drei Schilddrüsenhormonparameter möglich.

Für die Erstellung von Referenzbereichen sind valide Laborresultate wichtig. Voraussetzung dafür ist eine sachgemäße, standardisierte Präanalytik (Togni et al. 2002). Allerdings konnten einige Einflussgrößen auf die Labormesswerte aufgrund des Studiendesigns dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden. Beispielsweise wurde der Zeitpunkt der Blutabnahme nicht dokumentiert. Daher musste die Uhrzeit der Probengewinnung außer Acht gelassen werden, obwohl bekannt ist, dass die TSH-Konzentration im Serum während verschiedener Tageszeiten signifikant schwankt (Jensen et al. 2007). Darüber hinaus blieben weitere wichtige präanalytische Faktoren wie körperliche Aktivität, Stress, Essgewohnheiten, Körperlage während der Probengewinnung und Blutentnahmetechnik unberücksichtigt (Solberg und Petitclerc 1988, Elmlinger 2003, Grüters 2003).

Insgesamt hätte man den Schilddrüsenstatus der einzelnen Kinder noch genauer durch körperliche Untersuchung, Sonographie der Schilddrüse und Bestimmung der Jodausscheidung im Urin einschätzen können. Allerdings wäre dafür ein anderes Studiendesign und ein weitaus größerer Zeit- und Kostenaufwand erforderlich gewesen

#### **4.4 Ausblick**

Um in Zukunft durch unterschiedliche Analysegeräte ermittelte Laborergebnisse besser vergleichen zu können und das Problem der methodenspezifischen Referenzbereiche zu umgehen, ist eine Standardisierung der Analysemethoden zur Bestimmung von Serumparametern von großer Bedeutung. Dies gilt auch als Voraussetzung für die Erstellung von Referenzbereichen als Gemeinschaftsprojekt in Multicenterstudien (Ceriotti 2007). Vorteile solcher Regionübergreifender Studien wären, dass sich leichter eine große Anzahl an Referenzindividuen rekrutieren ließe und künftig Unterschiede in den Referenzbereichen bezüglich verschiedener Bevölkerungsgruppen, Umweltbedingungen und Lebensgewohnheiten besser eruiert werden könnten.

#### **4.5 Schlussfolgerung**

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, wie sich die Schilddrüsenhormonspiegel mit zunehmendem Kindesalter verändern. Dabei wird deutlich, dass Erwachsenenreferenzbereiche nicht einfach auf Kinder übertragen werden können. Auch in vorherigen Studien publizierte pädiatrische Referenzintervalle sind aus verschiedenen Gründen nicht universell anwendbar. Um eine optimale Schilddrüsendiagnostik bei Kindern an der Universitätsklinik Würzburg zu gewährleisten, wurden daher im eigenen Labor kontinuierliche, altersabhängige Referenzbereiche für TSH, fT4 und fT3 ermittelt. Diese Referenzbereiche sind für Kinder einer mitteleuropäischen Population von der Geburt bis ins Erwachsenenalter gut geeignet, besonders wenn die Labormessungen mittels

Immulite® 2000 Chemilumineszenz-Immunoassay durchgeführt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen weitgehend mit den Resultaten vorhergehender Studien überein und zeigen, dass die Referenzbereiche ein gutes klinisches Hilfsmittel zur Evaluation der Schilddrüsenfunktion von Kindern sind.

## **5 Zusammenfassung**

Für eine präzise Evaluation der Schilddrüsenfunktion im Kindesalter spielt die Analyse der Schilddrüsenhormone im Serum eine wichtige Rolle. Die Labor-testergebnisse müssen dabei anhand geeigneter, zu Messmethode und Population passenden, Referenzintervallen beurteilt werden. Daher hatte diese Arbeit zum Ziel, altersabhängige Referenzbereiche der Schilddrüsenhormonparameter TSH, fT3 und fT4 für Kinder von der Geburt bis zum 18. Lebensjahr zu erstellen. Zu diesem Zweck untersuchten wir eine für die Würzburger Region typische Referenzpopulation, unter Verwendung des Lumineszenz-Immunoassays Immulite® 2000. Insgesamt wurden Serumproben von 669 Neugeborenen, Kindern und Jugendlichen einer Krankenhauspopulation für die Berechnungen herangezogen. Individuen mit Erkrankungen oder Medikationen, welche die Schilddrüsenfunktion beeinträchtigen wurden aus der Studie ausgeschlossen. Als Referenzbereichsgrenzen dienten die 2,5. und 97,5. Perzentile. Es wurden sowohl einzelne Referenzintervalle für verschiedene Altersgruppen, als auch kontinuierliche, altersabhängige Referenzbereichskurven mittels LMS-Methode erstellt. Beim Vergleich der Hormonkonzentrationen von Jungen und Mädchen konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt werden. Insgesamt sinken die Hormonkonzentrationen aller Parameter mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich ab. Die wichtigsten Veränderungen finden sich dabei bis zum dritten Lebensjahr, wobei die Referenzintervalle in den ersten Lebensmonaten die größte Weite erreichen. Unmittelbar nach der Geburt liegen zum Teil extrem hohe Hormonspiegel vor, die eine verlässliche Interpretation der Messwerte erschweren. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen die Beobachtungen früherer Studien und zeigen, dass Erwachsenenreferenzbereiche für Kinder nicht geeignet sind. Kontinuierliche, an das fortschreitende Alter angepasste Referenzbereiche sind von Vorteil, da sie eine Art „Wachstumskurve“ für Schilddrüsenhormonparameter darstellen und Laborergebnisse genauer beurteilt werden können. Letztendlich sind die hier erstellten Referenzbereiche ein nützliches Hilfsmittel zur Evaluation des Schilddrüsenstatus von Kindern, insbesondere wenn die Analyse mittels Immulite® 2000 an einer deutschen Bevölkerung erfolgt.



## I. Literaturverzeichnis

**Arenz, S.; Nennstiel-Ratzel, U.; Wildner, M.; Dörr, H.-G.; von Kries, R. (2008):** Intellectual outcome, motor skills and BMI of children with congenital hypothyroidism: a population-based study. *Acta Paediatrica*; 97, S. 447-450.

**Babson, A. L.; Olson, D. R.; Palmieri, T.; Ross, A. F.; Becker, D. M.; Mulqueen, P. J. (1991):** the Immulite™ assay tube: a new approach to heterogeneous ligand assay. *Clin. Chem.*, Vol. 37, Nr. 9.

**Brabant, G.; Kahaly, G. J.; Schicha, H.; Reiners, C. (2006):** Milde Formen der Schilddrüsenfehlfunktion. *Deutsches Ärzteblatt*, Jg. 103; Heft 31-32.

**Cerioti, F. (2007):** Prerequisites for use of common reference intervals. *Clin. Biochem. Rev.* Vol. 28. S. 115- 120.

**Cerioti, F.; Henny, J. (2008):** "Are my laboratory results normal?" Considerations to be made concerning reference intervals and decision limits. *EJIFCC* 19 (2).

**Chung, H. R.; Choong, H. S.; Yang, S. W.; Choi, C. W; Kim, B. I.; Kim, E. K.; Kim, H. S.; Choi, J. H. (2009):** High incidence of thyroid dysfunction in preterm infants. *J. Korean Med. Sci.*; 24; S.627-631.

**Clark, S. J.; Deming, D. D.; Emery, J. R.; Adams, L. M.; Carlton, E. I.; Nelson, J. C. (2001):** Reference ranges for thyroid function tests in premature infants beyond the first week of life. *Journal of Perinatology*; 21; S. 531-536

**Cole, T. J.; Green, P. J: (1992):** Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood. *Statist. in Med.*; 11; S. 1305-1319

**Davies, P. H.; Franklyn, J. A. (1991) :** The effects of drugs on tests of thyroid function. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*; 40 ; S. 439-451.

**De Luca, F.; Trimarchi, F.; Sferlazzas, C.; Benvenga, S.; Costante, G.; Mami, C.; Di Pasquale, G.; Magazzu, G. (1982):** Thyroid function in children with cystic fibrosis. *Eur. Journ. Pediatr.*; 138(4); S. 327-330.

**Djemli, A; Vliet, G. V.; Belgoudi, J.; Lambert, M.; Delvin, E. E. (2004):** Reference intervals for free thyroxine, total triiodothyronine, thyrotropin and thyroglobulin for Quebec newborns, children and teenagers. *Clinic. Biochemistry*; 37; S. 328-330

**Elmlinger, M. W.; Kühnel, W.; Lambrecht, H.-G.; Ranke, M. B. (2001):** Reference intervals from birth to adulthood for serum thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), free T3, free T4, thyroxine binding globulin (TBG) and thyrotropin (TSH). *Clin. Chem. Lab. Med*; 39 (10); S. 973-979

**Elmlinger, M. (2003):** Laboratory techniques, quality management and clinical validation of hormone measurement in endocrinology. S. 1-29; In: Ranke, M.B. (Hrsg.): *Diagnostics of endocrine function in children and adolescents*; Karger, Basel, 3. Aufl., 2003.

**Gräsbeck, R. (2004):** the evolution of the reference value concept. *Clin. Chem. Lab. Med.* 42 (7); S. 692-697.

**Grüters, A. (2003):** Diagnostic tests of thyroid function in children and adolescents. S. 93-106; In: Ranke, M.B. (Hrsg.): *Diagnostics of endocrine function in children and adolescents*; Karger, Basel, 3. Aufl., 2003.

**Grüters, A.; Krude, H. (2007):** Update on the management of congenital hypothyroidism. *Horm. Research*; 68 (5); S. 107-111.

**Harris, E. K.; Boyd, J. C. (1990):** On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. Clin. Chem. 36/2, S. 265-270.

**Herstellerinformation Immulite 2000** (erhalten von Fr. Grelle, Labor Nuklearmedizin Uniklinikum Würzburg 05/2008)

**Horn, P. S.; Pesce, A. J. (2003):** Reference intervals: an update. Clinica Chimica Acta 334, S. 5-23

**Horn, P. S.; Feng, L.; Li, Y.; Pesce, A. J. (2001):** Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation. Clinical Chemistry, 47: 12, S. 2137-2145

**Hotze, L.-A.; Schumm-Draeger, P.-M. (2003):** Schilddrüsenerkrankungen – Diagnose und Therapie; 5. Auflage, hrsg. von Henning Berlin; BMV Berliner Med. Verl.- Anst.

**Hubl, W.; Schmieder, J.; Gladrow, E.; Demant, T. (2002):** Reference intervals for thyroid hormones on the Architect Analyser. Clin. Chem. Lab. Med.; 40(2); S. 165-166.

**Hübner, U.; Englisch, C.; Werkmann, H.; Butz, H.; Georg, T.; Zabransky, S.; Herrmann, W. (2002):** Continuous age-dependent reference intervals for thyroid hormones in neonates, infants, children and adolescents established using the ADVIA® Centaur™Analyzer. Clin. Chem. Lab. Med; 40 (10); S. 1040-1047

**Jensen, E.; Blaabjerg, O.; Petersen, P. H.; Hegedüs, L. (2007):** Sampling time is important but may be overlooked in establishment and use of thyroid-stimulating hormone reference intervals.

**Kapelari, K.; Kirchlechner, C.; Högler, W.; Schweitzer, K.; Virgolini I.; Moncayo, R. (2008):** Pediatric reference intervals for thyroid hormone levels from birth to adulthood: a retrospective study. *BMC Endocrine Disorders*, 8:15.

**Kaplan, M. M. (1999):** Clinical perspectives in the diagnosis of thyroid disease. *Clin. Chem.* 45:8, S. 1377-1383.

**Kawahara, K.; Yokoya, S. (2002):** Establishment of reference intervals of thyrotropin and free thyroid hormones during the first week of life. *Clin. Pediatr. Endocrinol.*; 11, S.1-9.

**Kratzsch, J.; Schubert, G.; Pulzer, F.; Pfaeffle, R.; Koerner, A.; Dietz, A.; Rauh, M.; Kiess, W.; Thiery, J. (2008):** Reference intervals for TSH and thyroid hormones are mainly affected by age, body mass index and number of blood leucocytes, but hardly by gender and thyroid autoantibodies during the first decades of life. *Clin. Biochemistry*; 41; S. 1091-1098.

**Kricka, L. J. (1991):** Chemiluminescent and bioluminescent techniques. *Clin. Chem.* 37/9, S. 1472-1481.

**Kouri, T.; Kairisto, V.; Virtanen, A.; Uusipaikka, E.; Rajamäki, A.; Finneman, H.; Juva, K.; Koivula, T.; Näntö, V. (1994):** Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerize method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clin. Chem.* 40/12; S. 2209-2215.

**Krude, H. (2008):** Schilddrüsenhormon und Störungen des Zentralnervensystems. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 2008;156; S.961-971.

**Lamb, E. J.; Noonan, K. A.; Burrin, J. M. (1994):** Analytical Performance of Immulite™ assay of thyroid-stimulating hormone. *Clin. Chem.* Vol. 40, Nr. 8.

**Marwaha, R. K.; Tandon, N.; Desai, A.; Kanwar, R.; Grewal, K.; Aggarwal, R.; Sastry, A.; Singh, S.; Ganguly, S. K.; Mani, K. (2008):** Reference range of thyroid hormones in normal indian school-age children. *Clinic. Endo.*; 68; S. 369-374.

**Masters, P. A.; Simons, R. J. (1996):** Clinical use of sensitive assays for thyroid-stimulating hormone. *J. Gen. Intern Med.*; 11; S. 115-127.

**Nelson, J. C.; Clark, S. J. ; Borut, D. L. ; Tomei, R. T.; Carlton, E. I. (1993):** Age-related changes in serum free thyroxine during childhood and adolescence. *Pediatr.*; 123 (6); S. 899-905

**Reed, A. H.; Henry, R. J.; Mason, W. B. (1971):** Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin. Chem*, Vol. 17, Nr. 4

**Reinhardt, D.; Grütters, A. (2008):** Schilddrüsenerkrankungen. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 2008; 156; S. 949-950.

**Rendl, J. Juhran, N.; Reiners, C. (2001):** Thyroid volumes and urinary iodine in German school children. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*; 109 (1); S. 8-12.

**Rose, S. R. (2006):** Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics* Vol. 117.

**Sapin, R. (1993):** Immunochemiluminometric and third-generation assays of thyrotropin. *Clin. Chem.*, Vol. 39, Nr. 12.

**Solberg, H. E. (1983):** The theory of reference values: part 5. statistical treatment of collected reference values: determination of reference limits. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 21, S. 749-760

**Solberg, H. E.; Petittclerc, C. (1988):** Approved recommendation (1988) on the theory of reference values: part 3. preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. Clin. Chem. Acta, 177; S. 1-12.

**Solberg, H. E. (1994):** Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. Clin. Chem. 40/12; S. 2205-2206

**Soldin, O. P.; Jang, M.; Guo, T.; Soldin, S. J. (2009):** Pediatric reference intervals for free thyroxine and free triiodothyronine; Thyroid; Vol. 19, Nr. 7

**Stockigt, J. (2003):** Assessment of thyroid function: towards an integrated laboratory- clinical approach. Clin. Biochem. Vol. 24, S. 109-117.

**Sunderman, F. W. Jr. (1975):** Current concepts of "normal values", "reference values", and "discrimination values" in clinical chemistry. Clin. Chem., 21(13); S. 1873-1877.

**Surks, M. I.; Sievert, R. (1995):** Drugs and thyroid function. The New Engl. J. of Med. Vol. 333; S. 1688-1694.

**Thamm, M.; Ellert, U.; Thierfelder, W.; Liesenkötter, K.-P.; Völzke, H. (2007):** Jodversorgung in Deutschland: Ergebnisse des Jodmonitorings im Kinder- und Jugendgesundheitsurvey (KiGGS). Bundesgesundheitsbl.- Gesundheitsforsch.- Gesundheitsschutz 5/6 2007.

**Togni, G.; Volken, C.; Sabo, G. (2002):** Präanalytik. Schweiz Med. Forum Nr. 6, 2002 S. 113-120.

**Uhrmann, S.; Marks, K. H.; Maisels, M. J.; Friedman, Z.; Murray, F.; Kulin, H. E.; Kaplan, M.; Utiger, R. (1978):** Thyroid function in the preterm infant: a longitudinal assessment. The Journ. of Pediatrics; Vol. 92, Nr. 6, S. 968-973.

**Volta, C.; Steet, M. E.; Ziveri, M. A.; Bonelli, P.; Spaggiari, C.; Grzincich, G. L.; Bernasconi, S. (2005):** Thyroid function, cytokine and IGF-IGFBP interactions in cystic fibrosis patients. *Hormone Research*; 63: S. 206-210.

**Weiß (2005):** Basiswissen Medizinische Statistik; 3. Auflage; Springer Medizin Verlag, Heidelberg.

**Wenzel, K. W. (1996):** Schilddrüsenfunktionstests und Medikamente. *Münchener Med. Wochenschr.*; 138; S. 658-661-

**Wiedemann, G.; Jonetz-Mentzel, L.; Panse, R. (1993):** Establishment of reference ranges for thyrotropin, triiodothyronine, thyroxine and free thyroxine in neonates, infants, children and adolescents. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem*; 31 (5); S. 277-278.

**Whitehead, T. P.; Kricka, L. J., Carter, T. J. N., Thorpe, G. H. G. (1979):** Analytical luminescence: its potential in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* Vol. 25, Nr. 9.

**Witherspoon, L. R. (2005):** Clinical utility of sensitive TSH measurements. *Labmedicine*, Vol. 36, Nr.11.

**Wright, E. M.; Royston, P. (1999):** Calculating reference intervals for laboratory measurements. *Statistical Methods in Medical Research*, Vol. 8, Nr. 2, S. 93-112

**Zurakowski, D.; Di Canzio, J.; Majzoub, J. A. (1999):** Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin and free thyroxine. *Clin. Chemistry*; 45: 7

## **II. Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Chr. Reiners gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Dissertationsthemas und die wissenschaftlichen Anregungen. Außerdem war Herr Prof. Reiners während meiner Famulatur in der Nuklearmedizin sehr um eine gute Betreuung und Ausbildung der Studenten bemüht.

Herrn Prof. Dr. med. M. Luster sei an dieser Stelle vielmals für die engagierte Unterstützung und die hilfreichen Diskussionen während der Entstehung der Arbeit gedankt.

Des weiteren möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Dr. med. Erik Verburg für seine freundschaftliche Betreuung, stete Ansprechbarkeit und die Durchsicht des Manuskripts bedanken.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Prof. Dr. med. H. Hebestreit aus der Kinderklinik für die Unterstützung und konstruktive Kritik.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau W. Rohlf's aus der Arbeitsgruppe „Statistische Beratung von Studenten für Studenten“ der Universität Würzburg und Herrn E. Lentjes von der Universität Utrecht, NL für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung bedanken.

Nicht zuletzt ein herzliches Dankeschön an alle Mitarbeiter des Labors und der Poliklinik für Nuklearmedizin.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir das Medizinstudium ermöglicht haben.



### III. Curriculum vitae

---

#### Persönliche Daten:

---

Vor- und Zuname: Christoph Kirchgäßner  
Geburtsdag: 05.01.1983  
Geburtsort: Miltenberg  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig  
Konfession: katholisch  
E-mail: chris.kirchgaessner@gmx.de

---

#### Schulische Ausbildung

---

9/1989 – 7/1993 Grundschule Weilbach  
9/1993 – 6/2002 Karl–Ernst–Gymnasium Amorbach,  
Schulabschluss: Allgemeine Hochschulreife (Abitur)

---

#### Zivildienst:

---

9/2002 – 6/2003 Onkologische Station der Universitätsfrauenklinik  
Heidelberg

---

#### Medizinstudium:

---

10/2003 – 11/2009 Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
Studium der Humanmedizin  
8/2005 – 9/2005 Physikum, Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2/2006 Famulatur Anästhesie: Universitätsklinikum Würzburg  
3/2006 Famulatur Innere Medizin: Klinikum Miltenberg  
9/2006 Famulatur Innere Medizin: Juliusspital Würzburg

2/2007	Famulatur Nuklearmedizin: Universitätsklinikum Würzburg
3/2007	Famulatur Kinder- und Jugendmedizin: Praxis Dr. Schleupner/ Dr. Jarosch, Würzburg
8/2008 – 7/2009	Praktisches Jahr Pädiatrie: Universitätsklinikum Würzburg Innere Medizin: Universitätsklinikum Würzburg Chirurgie: University Hospital of North Staffordshire
10 – 11/2009	Staatsexamen, 2. Abschnitt Ärztliche Prüfung
12/2009	Approbation als Arzt

Würzburg, Juli 2010

Christoph Kirchgäßner