

3 Patienten und Methoden

3.1 Patienten

Es wurden Patienten aus der Schilddrüsenambulanz des Krankenhaus am Urban in Berlin, die von ungefähr 2800 Patienten pro Jahr besucht wird, ausgewählt.

3.1.1 Patienten mit Messung des nicht hormonegebundenen Jods im Serum

Bei 105 Patienten wurde neben dem üblichen Schilddrüsenparametern Gesamtjod im Serum im Zeitraum von 2004 bis 2005 bestimmt. Diese Patienten wurden entsprechend der Diagnose unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien in vier Gruppen eingeteilt. Die Diagnose wurde anhand der Anamnese, der körperlichen Untersuchung, der Schilddrüsenhormonparameter, der Autoantikörper, der Schilddrüsensonographie und des Krankheitsverlaufs gestellt.

Gruppe 1 besteht aus Patienten mit M. Hashimoto, die eine euthyreote oder latent hypothyreote Stoffwechsellaage aufweisen und mit Jodkarenz und eventuell mit Selen therapiert werden.

Einschlusskriterien:

- Autoimmunthyreoiditis nachgewiesen durch positive Autoantikörper (Tak oder Mak)
- latent hypothyreote oder euthyreote Stoffwechsellaage
- sonographisches Bild einer Thyreoiditis

Ausschlusskriterien:

- Medikation mit jodhaltigen Medikamenten
- Substitutionstherapie mit Levothyroxin

In **Gruppe 2** sind alle Patienten mit einer Hashimoto-Thyreoiditis zusammengefasst, die mit Levothyroxin therapiert werden. Eine weitere jodhaltige Medikation wurde ausgeschlossen.

Einschlusskriterien:

- Autoimmunhypothyreose nachgewiesen durch positive Autoantikörper (Tak oder Mak)
- hypothyreote Stoffwechsellaage vor der Substitutionstherapie mit Levothyroxin
- sonographisches Bild einer Thyreoiditis

Ausschlusskriterien:

- Medikation mit jodhaltigen Medikamenten (außer Levothyroxin)
- Phasen eines hyperthyreoten Krankheitsverlaufs

Gruppe 3 besteht aus Patienten mit einem temporär hyperthyreoten Krankheitsverlauf einer Hashimoto-Thyreoiditis.

Einschlusskriterien:

- Autoimmunthyreoiditis nachgewiesen durch positive Autoantikörper (Tak oder Mak)
- Phasen einer hyperthyreoten Stoffwechsellage
- sonographisches Bild einer Thyreoiditis

Ausschlusskriterien:

- Medikation mit jodhaltigen Medikamenten (außer Levothyroxin)
- erhöhte Trak Antikörper (M. Basedow)

In **Gruppe 4** sind alle Patienten mit negativen Schilddrüsenautoantikörpern mit oder ohne Struma nodosa (Jodmangelstruma) mit erwarteter normaler Elimination von Jod eingeschlossen:

Einschlusskriterien:

- Patienten mit Struma nodosa oder ausgeschlossener Autoimmunthyreoiditis (negative Antikörper: Mak, Tak und Trak)

Ausschlusskriterien:

- positive Schilddrüsenautoantikörper (Tak oder Mak)
- sonographisch normales Grundmuster, eventuelle Knoten

Diese Einteilung wurde getroffen, um Patienten mit unterschiedlicher Schilddrüsenpathologie hinsichtlich ihrer nicht hormonegebundenen Jodserumwerte vergleichen zu können. Es wurde Wert auf eine Einteilung in Gruppen mit ähnlicher Jodaufnahme und erwarteter unterschiedlicher Jodausscheidung entsprechend unserer Hypothese gelegt. Ausgeschlossen wurden Patienten, die bei der Berechnung der nicht hormonegebundenen Jodserumwerte negative Werte erhielten. Bei diesen Patienten ist von mindestens einer groben Fehlbestimmung der Werte für Gesamtjod oder gT4 auszugehen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Schwangere.

Tab. 3.1: Einteilung der Patienten mit Messung des nicht hormonegebundenen Jods im Serum

	Anzahl w/m	Schilddrüsenpathologie	Therapie
Gruppe 1	12/1	M. Hashimoto latent hypothyreot/ euthyreot	Jodkarenz und Selen
Gruppe 2	33/2	M. Hashimoto Levothyroxin substituiert	Substitution mit Levothyroxin
Gruppe 3	15/3	M. Hashimoto/ mit temporär hyperthyreoter Verlaufsform	Jodkarenz / Levothyroxin / thyreostatisch
Gruppe 4 Kontrolle	18/4	Struma nodosa/ Strumektomie ausgeschlossene Autoimmunthyreoiditis	jodreiche Ernährung / Levothyroxin

m = männlich; w = weiblich

3.1.2 Patienten mit Messung der renalen Jodclearance

Um den Einfluss der Jodaufnahme auszuschalten und die Jodelimination gesondert betrachten zu können, wurde zusätzlich bei zehn Patienten die renale Clearance für nicht hormonegebundenes Jod im Serum bestimmt.

Gemeinsame Ein- und Ausschlusskriterien der Patienten mit Autoimmunthyreoiditiden:

Einschlusskriterien der Gruppen 1,2,4:

- bestehende Autoimmunthyreoiditis
- positive Schilddrüsenautoantikörper (Mak, Tak, Trak)
- typisches Echomuster in der Schilddrüsenultraschalluntersuchung (inhomogene, echoarme, oder echolose Struktur)

Ausschlusskriterien Gruppe 1,2,4:

- negative Schilddrüsenautoantikörper
- Knoten in der Schilddrüsenultraschalluntersuchung

Spezielle Kriterien der Patienten mit Autoimmunthyreoiditiden:

Einschlusskriterien der Untergruppen:

Gruppe 1:

- Patienten mit latent hypothyreoter Stoffwechsellaage, die durch Jodkarenz und eventuelle Selengabe in eine euthyreote Stoffwechsellaage zurückgeführt wurden

Gruppe 2:

- Patienten mit einer Hashimoto-Thyreoiditis im Stadium der atrophischen Thyreoiditis, die eine Substitutionstherapie mit Levothyroxin benötigen

Gruppe 4:

- positive Trak-Antikörper

Einschlusskriterien Gruppe 3 (Kontrolle):

- operierte Jodmangelstruma (Struma nodosa)
- pathologisch/ anatomisches Gutachten mit Nachweis einer nodulären Hyperplasie
- negative Schilddrüsenautoantikörper

Ausschlusskriterien Gruppe 3 (Kontrolle):

- lymphozytäre Infiltrate oder Verkalkungen als Zeichen einer stattgefundenen Entzündungsreaktion im pathologisch/anatomischen Gutachten
- Malignität

Tab. 3.2: Einteilung der Patienten der renalen Jodclearancemessung

	Anzahl w/m	Schilddrüsenpathologie	Therapie
Gruppe 1	2/1	M. Hashimoto latent hypothyreot/ euthyreot	Jodkarenz und Selen
Gruppe 2	3/0	M. Hashimoto Levothyroxin substituiert	Substitution mit Levothyroxin
Gruppe 3 Kontrolle	2/1	Struma nodosa/ Strumektomie	Jodreiche Ernährung/ Levothyroxin
Gruppe 4	1/0	M. Basedow	thyreostatische Therapie

m = männlich; w = weiblich

3.2 Messmethode der renalen Jodclearance

Die Patienten wurden vor Beginn der Messung über das Vorgehen aufgeklärt. Die Blase musste vor der ersten Blutentnahme vollständig entleert werden. Der Zeitpunkt der Blutentnahme wurde notiert. Danach erhielten die Patienten einen Liter Mineralwasser zu trinken, um ein baldiges Wasserlassen zu ermöglichen. Wenn die Patienten wieder Wasser lassen konnten, wurde der gesamte Urin aufgefangen und der Zeitpunkt notiert. Dann erfolgte die zweite Blutentnahme. Es wurden auf dem Messprotokoll der Zeitpunkt des Urinlassens notiert und die Urinmenge bestimmt. Die beiden Blutproben wurden nach eingetretener Gerinnung 15 Minuten bei 3000 rpm mit einer Labofuge GL von Heraeus zentrifugiert und das Serum zusammen mit einer Urinprobe zur Analyse ins Zentrallabor des Klinikums Neukölln gebracht. Dort wurden die Konzentrationen der Schilddrüsenparameter gT4, gT3 und Kreatinin in den Serumproben bestimmt. In der Urinprobe wurde Kreatinin bestimmt. Die Proben zur Bestimmung des Gesamtjods in Urin und Serum wurden ins Medizinische Labor Bremen geschickt.

3.3 Messverfahren der renalen Jodclearance

Zur Bestimmung der Laborparameter wurden allgemein übliche Messmethoden verwendet. Sowohl T4, T3 und Kreatinin wurden in einer Modular Straße Analytics E 170 von Roche bestimmt.

Gesamttrijodthyronin und Gesamthyroxin im Serum

gT3 und gT4 wurden mittels des ElektroChemilumineszenzImmunoAssay (ECLIA), einem kommerziellen Verfahren der Firma Roche Diagnostics GmbH, bestimmt. Der T₃/T₄ Elecsys Test verwendet ein kompetitives Testprinzip mit Antikörpern, die gegen T₃/T₄ gerichtet sind. T₃/T₄ wird mittels 8-Anilino-1-naphtalinsulfonsäure freigesetzt und mit spezifischen Antikörpern versetzt. Die noch freien Bindungsstellen werden mittels Komplexbildung mit biontyliertem T₄/T₃ und Streptavidin besetzt. In einer Messzelle wird durch Anlegen einer Spannung die Chemiluminizenzemission induziert und mit einem Photomultiplier gemessen. Die Präzision der Tests für T₄ ergab Variationskoeffizienten der Serie von 1,3-1,8 % und Variationskoeffizienten der Gesamt-Präzision von 3,3-4,7 % bei Humanseren und Kontrollen. Die Präzision der Tests für T₃ ergab Variationskoeffizienten der Serie von 1,3-3,1 % und Variationskoeffizienten der Gesamt-Präzision von 3,4-4,5 % bei Humanseren und Kontrollen.

Kreatinin in Serum und Urin

Kreatinin im Serum und Urin wurde mit der Jaffé-Methode, einem kommerziell erhältlichen Verfahren der Firma Roche Diagnostics GmbH, bestimmt. Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelb-orange gefärbten Komplex. Das Prinzip basiert auf der photometrischen Messung der Farbintensität, die direkt proportional zur Kreatininkonzentration ist. Der Variationskoeffizient der Präzision der Serie beträgt 0,6-0,7 % für Humanserum und Kontrollen und der Variationskoeffizient von Lauf zu Lauf 1,5-2,3 %. Für Humanurin ist ein Variationskoeffizient von 1,1-2,1 % der Serie und 1,2-2,2 % von Lauf zu Lauf angegeben.

Jodbestimmung im Serum und Urin

Jod wurde mit induktiv gekoppelter Plasma - Massenspektrometrie (ICP-MS) bestimmt. Verwendet wurde das Messgerät 7500 CE der Firma Agilent (USA). Das Analyseprinzip der ICP-MS basiert auf dem Prinzip der Massenspektrometrie, die Stoffe durch Ionisation anhand ihres spezifischen Spektrums identifiziert und quantifiziert. Bei der Ionisation durch ein induktiv gekoppeltes Plasma (Inductively Coupled Plasma, ICP) werden Verbindungen in ihre Elemente aufgebrochen und es entstehen vorwiegend einfach positiv geladene Ionen. Das Verfahren wird daher vor allem zur Elementaranalyse von wässrigen Lösungen angewandt. Mittels eines Zerstäubers wird aus einer Flüssigkeit ein feiner Nebel erzeugt (Prinzip der Oberflächenvergrößerung). Der Nebel gelangt in eine Einheit des Spektrometers (Flamme, induktiv gekoppeltes Plasma), in welcher, die in der Flüssigkeit gelösten chemischen Elemente atomisiert oder ionisiert werden. Der Variationskoeffizient dieser Messmethode beträgt für die Serie 2-3 % und zeigt einen Variationskoeffizienten von 5-10 % von Lauf zu Lauf.

Tab. 3.3: Zusammenstellung der Messwerte

Parameter	Prinzip	Normbereich	Variationskoeffizient Lauf/Lauf	Einheit
gT3	ECLIA	0,8-2,2	3,4-4,5 %	µg/l
gT4	ECLIA	48,0-128,0	3,3-4,7 %	µg/l
Jod im Serum	ICP-MS	46,0-70,0	5-10 %	µg/l
Jod im Urin	ICP-MS	-	5-10 %	µg/l
Kreatinin im Serum	Jaffé Methode	5-9	1,5-2,3 %	mg/l
Kreatinin im Urin	Jaffé Methode	-	1,2-2,2 %	mg/l

3.4 Berechnete Werte

3.4.1 Berechnung des nicht hormonegebundenen Jods im Serum

Der Begriff des nicht hormonegebundenen Jods (nhJod) erklärt sich durch seine Berechnung, die nachfolgend erklärt wird. Durch die Vernachlässigung von jodhaltigen Metaboliten aus dem Hormonabbau wie Mono- und Dithyrosin ist er nicht identisch mit dem zirkulierenden anorganischen Jodid im Serum. Das nicht hormonegebundene Jod ist aber, wegen der zu vernachlässigenden Mengen der T4-Metaboliten, annähernd gleich groß. Im Serum wurde mittels ICP-MS die Konzentration des Gesamtjods im Serum bestimmt. Zur Berechnung der Jodclearance wird die Konzentration des zirkulierenden anorganischem Jodids im Serum benötigt. Diese lässt sich durch Abziehen der Konzentration des organisch gebundenen Jods vom Gesamtjod berechnen. Die einzigen bekannten organischen Verbindungen des Jods im Organismus sind die Schilddrüsenhormone und deren Abbauprodukte. Der größte Anteil von Jod im Serum ist in den Schilddrüsenhormonen T4 und T3 gebunden. Der prozentuale Anteil an der relativen Molekülmasse für T4/ T3 beträgt 65 % bzw. 59 %. Die Beschreibung der Berechnung erfolgt für T4 und gilt analog für T3. Berechnet man die Molekülmasse durch Addition der relativen Atommasse der einzelnen Elemente multipliziert mit der jeweiligen Anzahl, so erhält man die relative Molekülmasse eines einzelnen T4-Moleküls. Setzt man dazu die relative Atommasse des Jods, enthalten in T4, ins Verhältnis, erhält man den prozentualen Anteil des Jods an der relativen Molekülmasse in T4.

Tab. 3.4: Berechnung des Massenanteils von Jodid

Element	Atommasse	Thyroxin		Trijodthyronin	
		Anzahl	Masse insgesamt	Anzahl	Masse insgesamt
Wasserstoff	1,0	11	11	12	12
Kohlenstoff	12,0	15	180	15	180
Stickstoff	14,0	1	14	1	14
Sauerstoff	16,0	4	64	4	64
Jod	126,9	4	507,6	3	380,7
relative Molekülmasse			776,6		650,7
Jodmassenanteil in %			65,4		58,5

Die Bestimmung des nicht hormonegebundenen Jods ergibt sich aus folgender Formel:

$$[nhJod]_{Serum} = [gJod]_{Serum} - ([gT4]_{Serum} \cdot 0,65 + [gT3]_{Serum} \cdot 0,59)$$

Ein ähnliches Verfahren zur Berechnung des anorganischen Jodids im Serum wurde von Sato et al. 1992 etabliert. Sie fanden eine hohe Korrelation des gemessenen proteingebundenen Jods (nach Entfernung des anorganischen Jodids durch Austauschersäulen) und den berechneten hormonegebundenen Jodkonzentrationen ($r=0,87$; $p<0,001$). Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$[nhJod]_{Serum} = [gJod]_{Serum} - ([gT4]_{Serum} \cdot 127 \cdot 4 \cdot 10^{-3} + [gT3]_{Serum} \cdot 127 \cdot 3 \cdot 10^{-3})$$

$$\Rightarrow [nhJod]_{Serum} = [gJod]_{Serum} - ([gT4]_{Serum} \cdot 0,51 + [gT3]_{Serum} \cdot 0,38)$$

Aus der Arbeit lässt sich nicht nachvollziehen, wie die Autoren die verwendeten Faktoren herleiten. Die Methode unterscheidet sich allerdings nur in der Größe des Faktors. Die beschriebene Korrelation würde sich auch bei einer Berechnung mit anderen Faktoren ergeben.

Weil die Serumkonzentrationen des gT3 im Verhältnis zum gT4 zu vernachlässigen sind (ca. 2 % des nicht hormonegebundenen Jods, vergleiche Normbereiche Tab. 3.3), wurden sie bei der Messung des nicht hormonegebundenen Jods nicht berücksichtigt:

$$[nhJod]_{Serum} = [gJod]_{Serum} - [gT4]_{Serum} \cdot 0,65$$

3.4.2 Berechnung der Kreatinin- und Jodclearance

Die Clearance ist eine Methode zur Beurteilung der Ausscheidungsleistung der Nieren. Sie gibt ein fiktives Serumvolumen an, dass von einer Substanz X pro Zeiteinheit gereinigt wird. Um die Clearance zu bestimmen, benötigt man die Konzentration der Substanz im Serum und Urin sowie das ausgeschiedene Urinvolumen pro Zeit. Über die Formel $c = m/V$ lässt sich die im Urin befindliche Masse der Substanz X bestimmen.

$$1 \quad m_{Xurin} = c_{Xurin} \cdot V_{urin} / t$$

Die Clearance ist das Plasmavolumen, dass von der Substanz X bereinigt wurde. Der Anteil der Substanz X am Serumvolumen lässt sich wie folgt berechnen:

$$2 \quad \text{Clearance}_X = m_{Xurin} / c_{Xserum}$$

Die Clearance berechnet sich durch das Einsetzen der ersten Formel in die zweite. Es wird mittels der Plasmakonzentration das Plasmavolumen bestimmt, in dem die ausgeschiedene Substanz theoretisch beinhaltet war.

$$1 \text{ in } 2 \quad \text{Clearance}_X = c_{Xurin} / c_{Xserum} \cdot V_{urin}/t$$

Voraussetzung für eine solche Bestimmung ist, dass die Konzentration der Substanz X im Serum konstant ist. Für Kreatinin ist dies hinlänglich bekannt. Für Jod sind keine Daten vorhanden, deshalb wurde eine zweimalige Messung der Serumkonzentrationen durchgeführt, der Wert

wurde gemittelt. Da Kreatinin nicht rückresorbiert und nur in sehr geringem Umfang sezerniert wird, ist es ein Maß für die glomeruläre Filtrationsrate (Hierholzer et al. 1995). Stoffe, die oberhalb oder unterhalb der Kreatininclearance liegen, müssen folglich sezerniert oder rückresorbiert werden.

3.4.3 Quotient aus Jod- und Kreatininclearance

Anhand der Jod/Kreatinin-Ratio lässt sich feststellen, ob Jod im Verhältnis zum Kreatinin rückresorbiert oder sezerniert wird. Kreatinin wird von den Nieren im physiologischen Bereich weder sezerniert noch rückresorbiert. Substanzen, die eine kleinere Clearance als Kreatinin haben, unterliegen deshalb einer Rückresorption und Substanzen, die eine größere Clearance haben, werden aktiv sezerniert.

- $Cl_{\text{Jod}}/Cl_{\text{Kreatinin}} = 1$ kein Anhalt für Rückresorption oder Sekretion
- $Cl_{\text{Jod}}/Cl_{\text{Kreatinin}} > 1$ Netto Sekretion
- $Cl_{\text{Jod}}/Cl_{\text{Kreatinin}} < 1$ Netto Rückresorption

3.4.4 Urinminutenvolumen, Jod und Kreatinin im 24 Stundenurin

Berechnet wurden weiterhin das Urinvolumen pro Minute. Über die Formel $c = m/V$ kann die ausgeschiedene Masse bestimmt werden. Zusammen mit dem Urinminutenvolumen lässt sich durch Hochrechnung der ausgeschiedenen Masse von Jod und Kreatinin pro Zeit die Gesamtmenge in 24 h abschätzen.

3.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung wurde mit der Statistik Software SPSS für Windows Version 13.0 durchgeführt. Die verbale Beschreibung der Irrtumswahrscheinlichkeit p und des Korrelationskoeffizienten r orientiert sich an der allgemein üblichen Nomenklatur:

Tab. 3.5: Nomenklatur der Irrtumswahrscheinlichkeit p und des Korrelationskoeffizienten r

Irrtumswahrscheinlichkeit	Bedeutung	Symbol	Korrelationskoeffizient r	Interpretation
$p > 0,05$	nicht signifikant	ns	bis 0,2	sehr geringe Korrelation
$p \leq 0,05$	signifikant	*	bis 0,5	geringe Korrelation
$p \leq 0,01$	sehr signifikant	**	bis 0,7	mittlere Korrelation
$p \leq 0,001$	höchst signifikant	***	bis 0,9	hohe Korrelation
			über 0,9	sehr hohe Korrelation

3.5.1 Messung des nicht hormonebundenen Jods im Serum

Die nicht hormonebundenen Jodserumwerte der Patientengruppen des ersten Kollektivs wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov Test auf Normalverteilung untersucht. Danach wurde ein t-Test nach Student für unabhängige Stichproben zwischen den einzelnen Gruppen durchgeführt. Zur graphischen Darstellung wurden Boxplots verwendet. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ zugrunde gelegt. Da die Einteilung der Patienten nicht prospektiv stattfand, dient die statistische Auswertung nur zur Unterstützung der Beschreibung von Zusammenhängen.

3.5.2 Messung der renalen Jodclearance

Auf eine statistische Auswertung der Mittelwerte der Clearancebestimmungen wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet. Anstelle dessen wurden deskriptive Grafiken benutzt. Wegen des einheitlichen Wertebereichs der Jodclearance wurden zur Betrachtung des Messverfahrens Korrelationen abhängiger Wertepaare bestimmt. Zur Verdeutlichung von Zusammenhängen wurden Streudiagramme verwendet. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ zugrunde gelegt.