

Aus dem Arbeitsbereich Notfallmedizin/Rettungsstellen
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die 99. Perzentile des hochsensitiven Troponin T einer gesunden
Referenzpopulation und dessen Einflussfaktoren

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marie Mazelka

aus Weener

Datum der Promotion: 03.12.2021

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abstrakt	8
Abstract	9
1. Einleitung	10
1.1 Akuter Myokardinfarkt	10
1.1.1 Definition	10
1.1.2 Epidemiologie	11
1.1.3 Ätiologie und Pathogenese	12
1.1.4 Diagnostik	12
1.1.5 Therapie	14
1.2 Kardiale Troponine	14
1.2.1 Funktion und Vorkommen	14
1.2.2 Chemische Struktur	15
1.2.3 Pathomechanismen der Troponin-Freisetzung	16
1.2.4 Bedeutung als Biomarker	16
1.3 Troponin-Assays	17
1.3.1 Entwicklung	17
1.3.2 Analytische Charakteristika	18
1.3.3 Hochsensitive Troponin-Assays	19
1.3.4 Laborchemische Messung des hochsensitiven Troponin T	20
1.4 Referenzwertbestimmung von Troponin-Assays	21
1.4.1 Rahmenbedingungen der Referenzwertbestimmung	21
1.4.2 Forschungsstand zum Referenzwert des hochsensitiven Troponin T	22
1.4.2.2 Geschlechtsspezifische Referenzwerte	23
1.4.2.3 Altersspezifische Referenzwerte	24
1.4.2.4 Referenzwerte ethnischer Subgruppen	24
1.5 Fragestellung	25
2. Methodik	26
2.1 Zusammensetzung der Studienpopulation	26
2.2 Biomarkers in Cardiology-1: Referenzwertstudie bei Gesunden	27

2.2.1 Studiendesign	27
2.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien	27
2.2.3 Rekrutierung der Probanden	27
2.2.4 Primärdaten	28
2.2.5 Laboruntersuchung	29
2.2.6 Dokumentation	29
2.2.7 Ethik	30
2.2.8 Conflict of Interest	30
2.3 Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests	30
2.3.1 Studiendesign	30
2.3.2 Ein- und Ausschlusskriterien	31
2.3.3 Rekrutierung der Probanden	31
2.3.4 Primärdaten	32
2.3.5 Laboruntersuchungen	32
2.3.6 Dokumentation	33
2.3.6 Ethik	33
2.3.7 Conflict of Interest	33
2.4 Literaturrecherche	34
2.5 Datenaufbereitung	34
2.6 Statistische Analyse	35
3. Ergebnisse	36
3.1 Charakterisierung der Population	36
3.1.1 Demographische Daten	36
3.1.2 Anamnestische Angaben	37
3.1.3 Körpermesswerte	38
3.1.4 Vitalparameter	39
3.1.5 Laborparameter	41
3.1.6 Apparative Untersuchungen	44
3.2 Hochsensitives Troponin T	44
3.2.1 Verteilung	44
3.2.2 99. Perzentile	46
3.2.3 Einfluss des Geschlechts	47

3.2.4 Einfluss des Alters	48
3.2.5 Einfluss anamnestischer Angaben	50
3.2.6 Einfluss der Körpermesswerte	51
3.2.7 Einfluss der Vitalparameter	54
3.2.8 Einfluss von Laborparametern	56
3.2.8.1 Nierenretentionsparameter	56
3.2.8.2 NT-proBNP	57
3.2.8.3 Glucose und HbA1c	57
3.2.8.4 Blutfette	58
3.2.8.5 Weitere Laborparameter	59
3.2.8.6 Hochsensitives Troponin I	60
3.2.9 Einfluss von Ergebnissen apparativer Untersuchungen	60
3.4 Charakteristika des von der Datenanalyse ausgeschlossenen Probanden	61
4. Diskussion	62
4.1 Zusammenfassung und Bewertung	62
4.2. Vergleichbarkeit der Population und des Vorgehens	63
4.2.1 Auswahlkriterien für die Referenzpopulation	63
4.2.2 Geschlecht	64
4.2.3 Alter	64
4.2.4 Präanalytische und analytische Faktoren	65
4.2.5 Statistische Analyse	67
4.3. Vergleich der Ergebnisse	68
4.3.2 99. Perzentile der Gesamtpopulation	68
4.3.3 Geschlechtsspezifische Referenzwerte	70
4.3.4 Altersspezifische Referenzwerte	71
4.3.5 Detektierbare und messbare hochsensitive Troponin T-Werte	73
4.4 Einflussfaktoren auf hochsensitive Troponin T-Werte	75
4.4.1 Körpermesswerte	75
4.4.2 Anamnestische Daten	75
4.4.3 Vitalparameter	76
4.4.4 Laborparameter	77
4.4.5 Apparative Untersuchungen	79

4.5 Limitationen	80
4.6 Schlussfolgerung und Ausblick	81
Literaturverzeichnis	82
Eidesstattliche Versicherung	97
Anteilerklärung	98
Lebenslauf	99
Publikationsliste	99
Danksagung	101

Abkürzungsverzeichnis

AACC	American Association for Clinical Chemistry
ACC	American College of Cardiology
ACS	Akutes Koronarsyndrom
AHA	American Heart Association
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Angina pectoris
AST	Aspartat-Aminotransferase
AMI	Akuter Myokardinfarkt
BIC	Biomarkers in Cardiology
BMI	Body Mass Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide
CABG	Koronararterielle Bypass-Operation
CHS	Cardiovascular Health Study
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Muscle Brain-Fraktion der Kreatinkinase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CRF	Case Report Form
CRP	C-reaktives Protein
cTn	kardiales Troponin
cTnI	kardiales Troponin I
cTnT	kardiales Troponin T
CV	Coefficient of Variation
ECLIA	Elektro-Chemilumineszenz-Immunoassay
ELISA	Enzym-Linked Immunosorbent Assay
eCRF	electronic Case Report Form
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	European Society of Cardiology
EU	Europäische Union
FDA	U.S. Food and Drug Administration
fT3	freies T3
fT4	freies T4
GDF15	Growth/differentiation factor-15

GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GGT	γ -Glutamyltransferase
HDL	High-density lipoprotein
hsTn	hochsensitives kardiales Troponin
hsTnI	hochsensitives kardiales Troponin I
hsTnT	hochsensitives kardiales Troponin T
IBM	International Business Machines Corporation
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
KI	Konfidenzintervall
KHK	Koronare Herzkrankheit
KKS	Koordinierungszentrum für Klinische Studien
LDL	Low-density lipoprotein
LOB	Limit of Blank
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MCH	Hämoglobinkoeffizient
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	mittleres Erythrozytenvolumen
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MPO	Myeloperoxidase
MRT	Magnetresonanztomographie
NOKO-1	Normalkollektiv Subkohorte 1
NOKO-2	Normalkollektiv Subkohorte 2
NSTEMI	Myokardinfarkt ohne ST-Hebung
NT-proBNP	N-Terminales-pro Brain Natriuretic Peptide
NYHA	New York Heart Association
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
PCI	Perkutane Koronarintervention
PLGF	Placental Growth Factor
RCV	Reference Change Values
RDW	Red Cell Distribution Width
sFLT	Soluble fms-like tyrosine kinase-1
SPSS	Statistic Package for Social Sciences

STAT	Short Turn Around Time
STEMI	Myokardinfarkt mit ST-Hebung
TAG	Triacylglyceride
TC	Gesamt-Cholesterol
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction
TSH	Thyreotropin
URL	Upper Reference Limit
USA	United States of America
WHF	World Heart Federation
WHO	World Health Organization

Abstrakt

Einleitung: Kardiale Troponine als Biomarker für myokardiale Zellschädigung sind zentraler Bestandteil der Myokardinfarktdefinition. Ihr Referenzwert liegt an der 99. Perzentile einer gesunden Referenzpopulation, deren Auswahlkriterien noch immer diskutiert werden. Für das hochsensitive Troponin T wird außerhalb der USA ein Referenzwert von 14ng/L empfohlen, während in den USA ein Wert von 19ng/L präferiert wird. Neben subklinischen Erkrankungen können demographische Faktoren insbesondere die Ergebnisse hochsensitiver Troponin-Assays beeinflussen. Daher werden für diese Assays geschlechtsspezifische Referenzwerte empfohlen. Ziel dieser Arbeit ist die Erhebung der 99. Perzentile des hochsensitiven Troponin T an einer gesunden Population und die Identifizierung möglicher Einflussfaktoren auf diesen Grenzwert.

Methodik: Die gesunde Referenzpopulation setzt sich aus 547 Probanden dreier Subkohorten aus zwei Studienzentren zusammen. Als Screeningmethoden wurden ein Fragebogen, laborchemische und apparative Untersuchungen angewandt. Für alle Probanden wurde das hochsensitive Troponin T aus Lithium-Heparin-Plasma bestimmt. Die Berechnung der 99. Perzentile erfolgte mit der nichtparametrischen Methode nach Ausschluss eines Outliers. Es folgte die Berechnung der Korrelation nach Spearman für verschiedene Merkmale und der Vergleich der Mediane von Subgruppen.

Ergebnisse: 27,3% der Probanden wiesen ein hochsensitives Troponin T über dem Limit of Detection von 5ng/L auf. Die 99. Perzentile dieser gesunden Referenzpopulation lag bei 13ng/L (95%-Konfidenzintervall 10-16ng/L). Die 99. Perzentile der Männer lag mit 14ng/L über der für Frauen mit 9ng/L. Das hochsensitive Troponin T korrelierte mittelstark mit dem Alter (Korrelationskoeffizient 0,30) und gering mit weiteren Variablen, ohne dass sich diese signifikant auf die Höhe der 99. Perzentile auswirken. Der Ausschluss von Probanden mit einem Blutdruck $\geq 140/90$ mmHg führte zu einem nicht signifikanten Abfall der 99. Perzentile um 0,62ng/L. Höhere hochsensitive Troponin T-Werte fanden sich bei adipösen Probanden.

Schlussfolgerung: Diese Arbeit bestätigt den außerhalb der USA präferierten Referenzwert von 14ng/L für das hochsensitive Troponin T sowie die geschlechtsspezifischen Werte von 9ng/L für Frauen und 16ng/L für Männer. Strengere Kriterien bezüglich des Gesundheitsstatus der Probanden führen zum vermehrten Ausschluss von Probanden ohne signifikante Absenkung der 99. Perzentile. Der Einfluss von erhöhtem Blutdruck und Adipositas auf das hochsensitive Troponin T erfordert weitere Untersuchungen.

Abstract

Background: Cardiac troponins as biomarkers for myocardial cell damage are central to the definition of myocardial infarction. The reference value is defined at the 99th percentile of a healthy population, which selection criteria are still under discussion. For the high-sensitivity troponin T a reference value of 14ng/L is used outside the US, whereas in the US a value of 19ng/L is preferred. In addition to subclinical diseases demographic factors have an impact on high-sensitivity cardiac troponin values. Therefore gender-specific reference values are recommended. This work will determine the 99th percentile of the high-sensitivity troponin T in a healthy reference population and identify factors influencing this biomarker.

Methods: This healthy reference population includes 547 subjects from three subcohorts of two study centers. A questionnaire, laboratory and instrumental examinations were used as screening methods. The high-sensitivity troponin T was measured from lithium heparin plasma for all subjects. The 99th percentile was calculated with the non-parametric method after exclusion of one outlier. Spearman correlation was calculated for different variables and the medians of subgroups were compared.

Results: For 27.3% of the individuals the high-sensitivity troponin T was above the limit of detection of 5ng/L. The 99th percentile for this healthy reference population was 13ng/L (95% confidence interval 10-16ng/L). The 99th percentile was higher for males than for females (14ng/L vs. 9ng/L). The high-sensitivity troponin T correlated moderately with age (Spearman coefficient 0.30) and weakly with other variables without having a significant effect on the 99th percentile. The exclusion of subjects with blood pressure $\geq 140/90$ mmHg lead to a non-significant decrease by 0.62ng/L. Higher high-sensitivity troponin T values were found in adipose individuals.

Conclusion: This work confirms the reference value of 14ng/L for the high-sensitivity troponin T that is preferred outside of the US. It also confirms the gender-specific values of 9ng/L for women and 16ng/L for men. Stricter criteria of the status of health lead to increased exclusion of individuals without significant reduction of the 99th percentile. The influence of higher blood pressure and adiposity on the high-sensitivity troponin T needs further investigation.

1. Einleitung

1.1 Akuter Myokardinfarkt

1.1.1 Definition

Der Akute Myokardinfarkt (AMI) ist als die Verletzung des Myokards aufgrund einer neu aufgetretenen Ischämie definiert. Die Verletzung des Myokards wird dabei durch einen Anstieg oder Abfall kardialer Biomarker in der seriellen Messung angezeigt, wobei mindestens ein Wert über der 99. Perzentile als Referenzwert (URL) liegen muss. Für die Diagnose des AMI muss zusätzlich mindestens einer der in Abbildung 1 dargestellten Nachweise für das Bestehen einer akuten Ischämie vorliegen. Als kardiale Biomarker sollten aufgrund ihrer hohen Gewebespezifität die kardialen Troponine T und I (cTnT und cTnI) präferiert werden [1,2].

1. Klinische Symptomatik (z.B. Angina pectoris (AP)-Beschwerden)
2. Neu aufgetretene Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) (ST-/T-Veränderungen oder Linksschenkelblock)
3. Entwicklung pathologischer Q-Wellen im EKG
4. Nachweis neu aufgetretener regionaler Wandbewegungsstörungen oder Myokardverlust in der Bildgebung (z.B. Echokardiographie)
5. Nachweis eines Thrombus in der Koronararterie in der Angiographie oder Autopsie

Abbildung 1: Diagnosekriterien des AMI für das Vorliegen einer akuten Ischämie [1]

Die Definition des AMI wurde in den letzten Jahren durch die Task Force der European Society of Cardiology (ESC), des American College of Cardiology (ACC), der American Heart Association (AHA) und der World Heart Federation (WHF) immer wieder überarbeitet. Kardiale Troponine (cTn) spielen dabei seit der ersten Version von 2000 die zentrale Rolle für den Nachweis der myokardialen Verletzung [3].

In der „Universal Definition of Myocardial Infarction“ von 2007 wurden verschiedene Typen des AMI etabliert [4]. Diese sind in Abbildung 2 dargestellt. Während für den AMI von Typ 1 und 2 die oben genannten Kriterien gelten, ist für Typ 3 keine cTn-Bestimmung nötig. AMI des Typs 4 und 5 gehen prozedural bedingt mit erhöhten cTn-Werten einher. Für Typ 4a ist deshalb eine Erhöhung des cTn auf das >5fache und für Typ 5 auf das >10fache des URL

als Grenzwert festgelegt worden. Bei Patienten, die bereits vor dem Eingriff erhöhte cTn-Werte hatten, muss zusätzlich ein Anstieg um >20% vorliegen [1].

Mit der Entwicklung hochsensitiver Troponin (hsTn)-Assays wurde erstmals der empfohlene Variationskoeffizient (CV) von $\leq 10\%$ an der 99. Perzentile erreicht [3,5,6]. Die hsTn wurden 2012 in die „Third Universal Definition of Myocardial Infarction“ aufgenommen. Die Einführung geschlechtsspezifischer URL wurde diskutiert [2].

Nach den „ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation“ von 2015 und der neuesten Version der Myokardinfarktdefinition von 2018 sollten hsTn-Assays bevorzugt eingesetzt werden [1,7]. Zudem wird der Einsatz geschlechtsspezifischer URL empfohlen [1].

Typ 1	AMI durch artherosklerotische Plaqueruptur oder -erosion mit konsekutivem Koronararterienthrombus als Manifestation einer koronaren Herzkrankheit (KHK)
Typ 2	AMI durch Missverhältnis von Sauerstoffangebot und -verbrauch, der nicht durch einen Koronararterienthrombus bedingt ist, z.B. im Rahmen von Koronarspasmen, Anämie, Arrhythmie
Typ 3	plötzlicher Herztod vor der Bestimmung oder dem Anstieg kardialer Biomarker mit typischer Symptomatik einer kardialen Ischämie und begleitenden neuen EKG-Veränderungen/Kammerflimmern oder Nachweis des AMI in der Autopsie
Typ 4	Perkutane koronare Intervention (PCI)-assoziiert 4a: AMI ≤ 48 h nach Eingriff 4b: In-Stent-Thrombose
Typ 5	Koronararterielle Bypass-Operation (CABG)-assoziiert

Abbildung 2: Klinische Klassifikation des Myokardinfarkts [1,4]

1.1.2 Epidemiologie

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die am häufigsten zum Tod führenden Krankheiten. Im Jahr 2017 starben in Deutschland etwa 47000 Patienten infolge eines AMI (I21). Damit ist der AMI die zweithäufigste Todesursache nach der Koronaren Herzkrankheit (KHK) (I25, ca. 77000 Tote) [8]. Sie verursachen die höchsten Krankheitskosten in Deutschland. Im Jahr 2015 hat allein der AMI Kosten in Höhe von 2337 Millionen Euro verursacht [9].

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind nicht nur ein Phänomen westlicher Industrienationen. Auch weltweit führt die KHK die Todesursachenstatistik an: 16% und damit fast 9,5 Millionen aller Tode im Jahr 2016 ließen sich auf diese Erkrankung zurückführen. Nicht nur in Europa, sondern auch in Amerika und Südostasien ist die KHK die häufigste Todesursache. Auch in Afrika versterben immer mehr Menschen an der Erkrankung: War sie 2000 noch die achthäufigste, so war sie 2016 schon die vierthäufigste Todesursache und macht auf dem Kontinent 5,8% aller Tode aus [10].

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese

Der AMI ist durch die myokardiale Zellschädigung bei akuter Ischämie definiert [1]. Zur kardialen Minderdurchblutung mit folgendem Missverhältnis aus Sauerstoffangebot und -verbrauch kommt es in der Mehrzahl der Fälle auf Grundlage einer KHK: Durch langjährigen artherosklerotischen Umbau der Gefäßwand entstehen vulnerable Plaques. Bei Plaqueruptur oder -erosion bildet sich ein Thrombus mit konsekutivem partiellen oder kompletten Gefäßverschluss [11–13]. Der AMI vom Typ 2 entsteht definitionsgemäß nicht durch einen Thrombus. Hier verursachen beispielsweise Koronarspasmen, Hypotonie oder Anämie nach gastrointestinaler Blutung die kardiale Ischämie [1].

Nach Einsetzen der Ischämie kommt es zur sofortigen Umstellung auf einen anaeroben Stoffwechsel. Die irreversible Zellschädigung mit Freisetzung intrazellulärer Enzyme setzt nach einer Ischämiezeit von 2 Stunden ein [14]. Paradoxerweise kann die Reperfusion nach Ischämie weitere Zellschädigungen auslösen. Die molekularen Mechanismen und die klinische Bedeutung dieses Phänomens sind noch nicht vollständig geklärt [15].

1.1.4 Diagnostik

Der AMI wird zusammen mit der instabilen AP als akute Manifestationsformen der KHK unter der Arbeitsdiagnose Akutes Koronarsyndrom (ACS) zusammengefasst. Das Leitsymptom des ACS ist Brustschmerz, der in Nacken, Kiefer, linken oder seltener auch rechten Arm ausstrahlen kann. Darüber hinaus können insbesondere bei Frauen und Patienten mit Diabetes mellitus zusätzlich oder ausschließlich atypische Symptome wie Dyspnoe, Übelkeit, Erbrechen, Leistungsabfall, Palpitationen oder Synkopen auftreten

[1,7,16]. Bei Patienten, die einen AMI erleiden, sind häufig eine KHK oder kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie oder Nikotinabusus vorbekannt [7]. In der Akutdiagnostik werden die ACS zunächst anhand der ST-Strecken im 12-Kanal-EKG in ST-Hebungsinfarkt (STEMI) und Nicht-ST-Hebungs-ACS (NSTEMI) eingeteilt. Für die Diagnose des STEMI müssen in mindestens zwei benachbarten Ableitungen signifikante ST-Hebungen vorliegen [16].

Die NSTEMI unterteilen sich in die Nicht-ST-Hebungsinfarkte (NSTEMI) mit myokardialen Zelluntergang durch Ischämie und die instabile AP ohne myokardiale Verletzung. Neben normalen EKG-Befunden können auch Veränderungen wie ST-Strecken-Senkung und T-Negativierung vorliegen [17]. Für den Nachweis einer myokardialen Zellschädigung werden kardiale Biomarker bestimmt. Dafür sollten hsTn-Assays verwendet werden [1,7,18,19]. Andere Biomarker wie die Kreatinkinase (CK) und ihre Muscle Brain (MB)-Fraktion, Myoglobin, Laktatdehydrogenase (LDH) und Aspartat-Aminotransferase (AST) wurden von den cTn abgelöst und müssen nicht zusätzlich bestimmt werden [4,20]. Ist kein cTn-Assay verfügbar, sollte stattdessen die CK-MB bestimmt werden [1,7]. Für die Differenzierung einer akuten von einer chronischen myokardialen Schädigung ist der Nachweis einer Dynamik (Anstieg oder Abfall) der cTn-Werte in der seriellen Messung erforderlich (Abbildung 3). Für eine signifikante Differenz zwischen den Werten (Δ , Delta) muss diese größer sein als die analytische und biologische Varianz. Zusätzlich muss mindestens ein Wert über dem URL liegen. Die Blutentnahme sollte bei Aufnahme (Stunde 0) und nach 3-6h durchgeführt werden. Bei fortbestehendem Verdacht auf einen AMI sollten zusätzlich spätere Laborkontrollen erfolgen [1,7].

Darüber hinaus wurden in den letzten Jahren weitere Rule-In- und -Out-Protokolle für den AMI etabliert. Unter Beachtung von zeitlichem Verlauf, Risikoscores wie dem Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI)-Score und Assay-spezifischer Cutoff-Werte ist ein Rule-In/-Out mit hsTn-Assays schon zu Stunde 0, 1 oder 2 möglich. Auch der kombinierte Einsatz von hsTn mit weiteren Biomarkern wie Copeptin hat sich als sichere Rule-Out-Methode bewiesen [7].

Unterstützend können weitere, nicht-invasive Methoden wie Echokardiographie und Computertomographie in der AMI-Diagnostik eingesetzt werden. Zuletzt ist die Koronarangiographie als invasive Untersuchungsmethode mit therapeutischer Interventionsmöglichkeit zu nennen. [7]

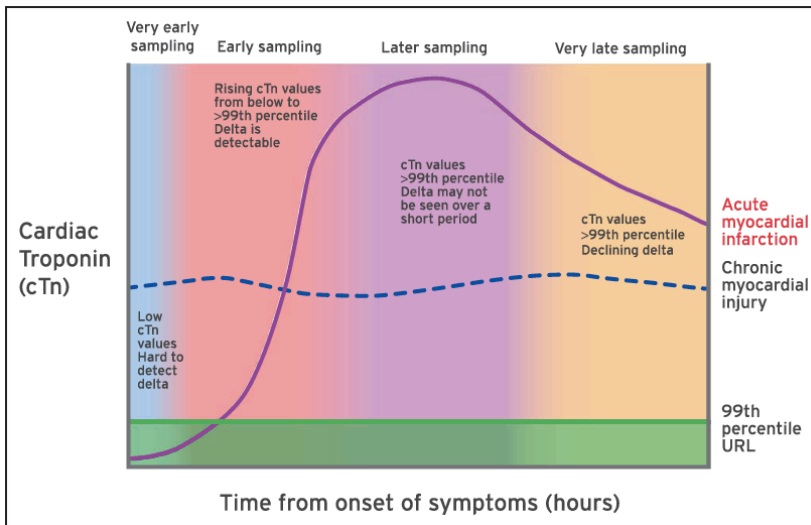


Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf des cTn beim AMI im Vergleich zur chronischen Myokardschädigung aus „Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction“ [1]

1.1.5 Therapie

Jeder AMI ist ein Notfall und erfordert aufgrund der hohen Mortalität einen sofortigen Therapiebeginn. Schon bei Verdacht auf einen AMI sollte neben Allgemeinmaßnahmen wie Sauerstoffgabe, Oberkörperhochlagerung und supportiver Therapie mit Nitraten und Morphin eine antithrombozytäre und antikoagulatorische Medikation initiiert werden. Eine frühe Revaskularisation ist zentraler Therapiebestandteil. Neben der primären PCI als Methode der Wahl kann je nach Situation auch eine medikamentöse Lyse oder primäre CABG erfolgen. Eine langfristige Betreuung der AMI-Patienten zur Prävention eines Reinfarkts durch Lebensstiländerung, Einstellung kardiovaskulärer Risikofaktoren und medikamentöse Prophylaxe unter anderem mit ASS und Statinen ist unabdingbar [7,16,21].

1.2 Kardiale Troponine

1.2.1 Funktion und Vorkommen

Der Troponin-Komplex besteht aus den drei Untereinheiten Troponin I, T und C. Er kommt in Skelett- und Herzmuskel vor und spielt eine zentrale Rolle in der Calcium-abhängigen Muskelkontraktion. Eine Muskelzelle besteht aus Myofibrillen, die wiederum aus dünnen

und dicken Filamenten zusammengesetzt sind. Das dünne Filament wird durch Aktin, Tropomyosin und Troponin gebildet. Die Troponin-Komplexe sind den Aktinfilamenten angelagert. Troponin T stellt dabei die Verbindung zum Tropomyosin her, während Troponin I die Bindung von Myosin an Aktin hemmt. Bindet Calcium an Troponin C, so kommt es über die ATP-abhängige Aktin-Myosin-Interaktion zur Muskelkontraktion [22].

Für das Troponin T und I sind je drei Isoformen bekannt, die auf verschiedenen Genen kodiert sind. Je eine dieser Formen ist spezifisch für langsame und schnelle Skelettmuskelfasern und den Herzmuskel [23]. Das cTnI wird ausschließlich im Herzen exprimiert [24]. Das cTnT hingegen ist während der Embryonalentwicklung und bei verschiedenen Myopathien auch im Skelettmuskel zu finden [25,26]. In gesunden Erwachsenen wird das cTnT jedoch ausschließlich im Herzen exprimiert. CTnT und cTnI sind damit spezifisch für Herzmuskelgewebe [1,27]. Für das Troponin C sind zwei Formen bekannt: Eine in den schnellen Skelettmuskelfasern und dem Herzen und eine zweite in den langsamen Skelettmuskelfasern. Troponin C ist daher nicht kardiospezifisch [28].

1.2.2 Chemische Struktur

CTnI setzt sich aus 209 Aminosäuren zusammen und hat ein Molekulargewicht von 24kDa. Das Protein besteht aus dem N-Terminus, einem Zwischenteil, einem inhibitorischen und einem regulatorischen Anteil sowie dem flexiblen C-Terminus. Der N-Terminus ist spezifisch für die kardiale Isoform des Troponin I. Der Zwischenteil verbindet Troponin I mit dem restlichen Troponinkomplex, während der inhibitorische Anteil die Aktin-Myosin-Bindung verhindert. Bei hohen Calciumkonzentrationen kommt es zur Konformationsänderung im regulatorischen Anteil und so zur Freigabe der Aktin-Myosin-Bindungsstelle [23].

CTnT liegt im Gegensatz zu Troponin C und I durch Splicing in verschiedenen Isoformen im Herzen vor. Die dominierende Form bei gesunden Erwachsenen ist TnT3 [29]. TnT3 besteht aus 287 Aminosäuren und wiegt 35,9kDa. CTnT setzt sich aus N-Terminus, Zentrum und C-Terminus zusammen. Die Sequenz des N-Terminus variiert je nach Isoform und ist kardiospezifisch. Das Zentrum und der C-Terminus binden an Tropomyosin. Der C-Terminus bindet darüber hinaus an Troponin C und I [23].

1.2.3 Pathomechanismen der Troponin-Freisetzung

Die Troponine liegen in den Kardiomyozyten hauptsächlich in einem an die Myofilamente gebundenen Komplex aus Troponin T/I/C sowie zu einem kleinen Teil von 6% frei im Zytosol vor [30]. Bei Myokardverletzung kommt es zur Freisetzung von Zellbestandteilen. CTnT und cTnI werden dabei in Komplexen, einzeln oder als modifizierte Abbauprodukte freigesetzt [31]. Lange konnten nur cTn-Erhöhungen durch irreversible Zellschädigungen mit Ausbildung einer Nekrose nachgewiesen werden [32]. In den letzten Jahren hat sich aber gezeigt, dass es nach kurzzeitiger Ischämie durch Rapid-Pacing im Vorhof, medikamenteninduzierte Stress-Tests oder Ausdauersport zu reversiblen Myokardverletzungen mit cTn-Freisetzung kommen kann [33–35]. Mögliche zugrundeliegende Mechanismen sind Apoptose, Freisetzung proteolytischer Troponinabbauprodukte und Membranvesikel und erhöhte Wandpermeabilität [36–38]. Beim AMI kommt es auf Basis der Myokardnekrose zur Freisetzung von cTn [31]. Obwohl die Halbwertszeit der cTn nur 0,5-2h beträgt [30,39], sind die cTn-Werte nach einem AMI für etwa zwei Wochen erhöht [40]. Dies ist auf den verminderten Blutfluss und die prolongierte Freisetzung von Zellbestandteilen aus geschädigten Kardiomyozyten durch Ab- und Umbauprozesse nach Ischämie zurückzuführen [30,41]. Neben einer Ischämie können auch inflammatorische, immunologische und medikamentös-toxische Prozesse eine kardiale Nekrose auslösen [42].

1.2.4 Bedeutung als Biomarker

Die Entwicklung der cTn-Assays hat die Myokardinfarktdefinition revolutioniert. Erstmals konnten sehr kleine myokardiale Nekrosen von weniger als 1g detektiert werden [3]. Nach der „Redefinition of Myocardial Infarction“ von 2000 stieg die Zahl der Patienten mit AMI zunächst deutlich an. Gleichzeitig gab es weniger Fälle von instabiler AP [43]. Die Myokardinfarktdefinition ist somit nicht nur von klinischer und ökonomischer Bedeutung, sondern wirkt sich auch auf epidemiologische und klinische Forschung aus. Beim AMI korreliert die Höhe der cTn-Werte außerdem mit der Infarktgröße und ist deshalb ein wichtiger prognostischer Marker [44,45].

Die cTn sind auch für den Nachweis einer akuten myokardialen Verletzung ohne Ischämieeinwirkung geeignet. Bei Erkrankungen wie Vorhofflimmern, dekompensierter

Herzinsuffizienz, Endo-, Peri- und Myokarditis, Takotsubo-Syndrom, Aortendissektion, akuter Lungenarterienembolie, ischämischem und hämorrhagischem Schlaganfall, Sepsis und kardialen Trauma kann es im Rahmen einer kardialen Nekrose zu einem akuten Anstieg der cTn-Werte über das URL kommen. Erhöhte Werte sind fast immer mit einer schlechteren Prognose assoziiert [1,42,46,47].

Darüber hinaus kommt es bei chronischen kardialen und nicht-kardialen Erkrankungen zu dauerhaften cTn-Erhöhungen [1,42,47]. Omland et al. konnten in 11% der Patienten mit stabiler KHK einen cTn-Wert über dem URL nachweisen. Bei diesen Patienten bestand ein signifikant höheres Risiko für einen Tod kardiovaskulärer Ursache und Herzinsuffizienz [48]. Eine Studie von Latini et al. hat gezeigt, dass höhere cTn-Werte bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit einem höheren New York Heart Association (NYHA)-Stadium und einer höheren Mortalität assoziiert sind [49]. DeFilippi et al. konnten für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) < 60ml/min/1,73m²) erhöhte hsTn-Werte nachweisen. Bei 38% der Patienten lag hsTnI und bei 68% hsTnT über dem URL [50]. Insbesondere hsTnT scheint ein geeigneter prognostischer Marker für die Langzeitmortalität bei chronischer Niereninsuffizienz zu sein [51]. Darüber hinaus finden sich erhöhte cTn-Werte unter anderem bei Kardiomyopathien, pulmonaler Hypertonie, Diabetes mellitus, Amyloidose, Skelettmuskelerkrankungen und Chemotherapie [42,47]. Sie sind auch bei chronisch Erkrankten mit einer schlechten Prognose assoziiert [52].

Ähnlich verhält es sich in der Normalbevölkerung: Saunders et al. und de Lemos et al. konnten zeigen, dass mit hsTn-Assays messbare und insbesondere über das URL erhöhte Werte mit dem vermehrten Auftreten struktureller Herzerkrankungen, KHK und erhöhter Gesamtmortalität einhergehen. Höhere cTn-Werte fanden sich bei männlichen, schwarzen oder älteren Probanden [53,54].

1.3 Troponin-Assays

1.3.1 Entwicklung

Die ersten cTn-Assays wurden 1987 von Cummins et al. für das cTnI entwickelt. Es handelte sich um ein Radioimmunassay und ein Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) [55,56]. Zwei Jahre später stellten Katus et al. ein ELISA für die Messung des cTnT vor. Die

Testdauer betrug über 1,5h und es wurde eine Patientenprobe von 200µl benötigt [40]. Wenige Jahre später folgten die ersten kommerziellen cTn-Assays mit kürzerer Testdauer. Durch die Weiterentwicklung der Antikörper dieser Assays der zweiten Generation wurde die Kardiospezifität erhöht und die benötigte Probenmenge reduziert [57,58]. Das cTnT-Assay zeigte zunächst falsch-positive Ergebnisse nach Skelettmuskelverletzungen. Dies konnte durch Anpassung der Antikörper behoben werden [59]. Damit waren sowohl die cTnI- als auch cTnT-Assays kardiospezifisch und ersetzten andere Biomarker für kardiale Verletzung [3]. Während sich mehrere cTnI-Assays etablierten, gab es aus patentrechtlichen Gründen nur ein cTnT-Assay. Da mit diesen Assays weniger als 50% der Werte unter der 99. Perzentile gemessen werden können, werden sie als „contemporary“-Assays klassifiziert [60]. Aktuell gibt es laut der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) 14 „contemporary“-Assayversionen für cTnI und zwei für cTnT [61]. Die Messwerte der verschiedenen cTn-Assays sind nicht miteinander vergleichbar [62]. Grund dafür sind die unterschiedlichen Antikörper, die an verschiedene der freigesetzten cTn-Formen binden [63]. Auch die Proben-Auswahl wirkt sich auf die Messwerte aus: Gerhardt et al. haben in Heparin-Proben niedrigere Werte als in Serum-Proben gemessen [64]. Durch die Weiterentwicklung der Tests konnten die Hersteller cTn-Assays vorstellen, die sie selbst als „high sensitive“, „ultra sensitive“ oder „novel highly sensitive“ bezeichneten [5,65].

1.3.2 Analytische Charakteristika

Für die Beschreibung der analytischen Charakteristika der cTn-Assays wurden vom Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) und der IFCC verschiedene Begriffe definiert [66–68].

Das Limit of Blank (LOB) ist der höchste gemessene cTn-Wert bei repetitiver Testung einer Probe, die kein cTn enthält. Das Limit of Detection (LOD) entspricht der geringsten messbaren cTn-Konzentration, die verlässlich vom LOB unterschieden werden kann. Das Limit of Quantification (LOQ) ist die cTn-Konzentration, die der Test mit einem CV von 20% misst [66–68]. Das URL ist für die cTn an der 99. Perzentile einer normalen, scheinbar gesunden Referenzpopulation definiert [1,19].

Der Variationskoeffizient (CV) beschreibt die Ungenauigkeit des Tests und entspricht der Streuung bei repetitiver Messung derselben Probe ($CV = \text{Standardabweichung}/\text{Mittelwert} \times 100$) [67]. Die Total Imprecision eines Assays beschreibt den CV am URL. Dieser Wert sollte

bei $\leq 10\%$ liegen. Darüber hinaus können Assays mit einer Total Imprecision von 10-20% eingesetzt werden, da sie nicht zu falsch-positiven Ergebnissen führen [69]. Vom Einsatz von cTn-Assays mit einem CV von $>20\%$ am URL sollte abgesehen werden [1,19,60].

1.3.3 Hochsensitive Troponin-Assays

Mit den hsTn-Assays können die cTn erstmals in großen Teilen einer gesunden Population bestimmt werden. Außerdem weisen sie eine geringere Total Imprecision auf als die „contemporary“-Assays (5). Bei Einführung dieser neuen Assays im Jahr 2009 fehlte jedoch zunächst eine einheitliche Definition und Nomenklatur. Die IFCC entwickelte deshalb 2015 Empfehlungen zur Implementierung von hsTn-Assays. Diese sind in Abbildung 4 dargestellt [19]. Da sich ein Einfluss des Geschlechts auf die hsTn-Werte gezeigt hat, sollten diese Richtlinien geschlechtsspezifisch angewandt werden [68]. Die Messwerte der hsTn-Assays sind untereinander und mit denen von „contemporary“-Assays nicht vergleichbar [62]. Aktuell sind laut IFCC 20 hsTnI- und fünf hsTnT-Assayversionen verfügbar [70].

- (1) Die 99. Perzentile soll an einer gesunden Population bestimmt werden.
- (2) Der hsTn-Wert für die 99. Perzentile kann der peer-reviewed Literatur oder der Produktinformation des Herstellers entnommen werden.
- (3) Der CV an der 99. Perzentile eines hsTn-Assays soll $\leq 10\%$ betragen.
- (4) Für mindestens 50% der gesunden Probanden sollen die hsTn-Werte über dem LOD liegen.
- (5) Die 99. Perzentile soll in ganzen Zahlen ohne Dezimalkommastellen in „ng/L“ angegeben werden.

Abbildung 4: Richtlinien der IFCC für die Implementierung von hsTn-Assays [19]

Durch ihre höhere Sensitivität können hsTn-Assays myokardiale Zellschädigung früher detektieren als die „contemporary“-Assays. Sie ermöglichen das schnellere Rule-In oder Rule-Out eines AMI [71]. Die Diagnose eines AMI kann nach den aktuellen Leitlinien schon nach 3 Stunden oder mit alternativen Rule-In und -Out-Protokollen sogar zu Stunde 0 oder 1 gestellt werden [7]. Durch Einführung der hsTn-Assays stieg die Zahl der Patienten mit AMI an. Dabei kam es jedoch nicht zu einem Anstieg nicht-indizierter Koronarangiographien [72,73]. Stattdessen gelang eine bessere Differenzierung von Hoch- und Niedrigrisikopatienten. Zudem konnten Patienten ohne AMI in der Notaufnahme schneller entlassen werden, wodurch geringere Kosten anfielen [73]. Die hsTn-Assays ermöglichen

ein verbessertes Management von Patienten mit ACS und verhindern durch sicheren und schnellen Ausschluss des AMI überfüllte Notaufnahmen [74].

Die höhere Sensitivität der hsTn-Assays bringt aber auch neue Herausforderungen mit sich: Für die „contemporary“-Assays gilt ein Anstieg der cTn-Werte über dem CV von 20% als signifikante Differenz für die Diagnose eines AMI [20,27]. Die Messwerte der hsTn-Assays werden jedoch nicht nur von der analytischen, sondern auch von der biologischen Varianz beeinflusst. Beide Varianzen werden unter dem Begriff Reference Change Values (RCV) zusammengefasst und liegen bei 50-60% [75]. Für ein signifikantes Delta muss die Differenz der Werte für die hsTn-Assays in der seriellen Messung über den RCV liegen [18,20,68]. Sowohl bei Patienten mit chronischen Erkrankungen wie KHK, Herz- oder Niereninsuffizienz als auch in der Normalbevölkerung gehen erhöhte Werte mit einer schlechten Prognose einher [52–54,76]. Die klinische Bedeutung der hsTn-Werte für die Risikostratifizierung in der Primär- und Sekundärprävention ist noch unklar.

1.3.4 Laborchemische Messung des hochsensitiven Troponin T

Zur Bestimmung des hsTnT wird das „Elecsys® Troponin T high sensitive“-Assay der Firma Roche Diagnostics® verwendet. Bei dem cTn-Assay der fünften Generation handelt es sich um ein Elektro-Chemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA), das auf einem einstufigen Sandwichprinzip mit monoklonalen Mausantikörpern basiert [77].

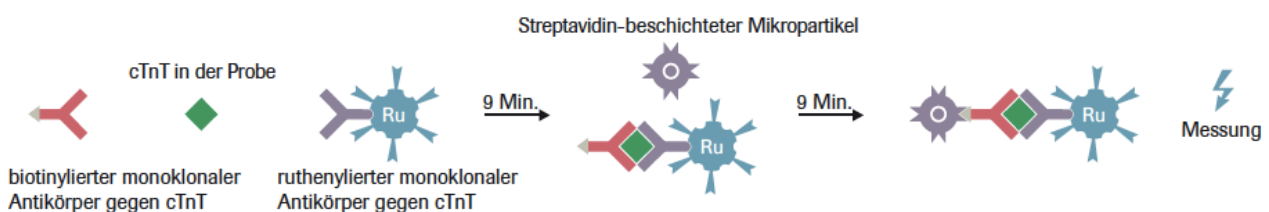


Abbildung 5: Testprinzip des „Elecsys® Troponin T high sensitive“-Assays [77]

Der Test kann auf Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 und den cobas e Immunoassay-Systemen (cobas e 411, 601, 602, 801) durchgeführt werden. Es gibt zwei Versionen des Tests (18 Minuten oder Short Turn Around Time (STAT), 9 Minuten). Als Probenmaterial kann Serum, Lithium-Heparin-Plasma, Natrium-Heparin-Plasma und Ethylendiamintetraacetat (EDTA) verwendet werden. Serum- und Plasmaproben sind dabei laut Hersteller nicht austauschbar. Der Messbereich reicht von 3-100000ng/l. Für das hsTnT

liegt das LOB mit dem Gerät cobas e 411 bei 3ng/l und das LOD bei 5ng/L [77]. Die U.S. Food and Drug Administration (FDA) hingegen gibt für das cobas e 601 und e 602 einen Messbereich von 6-100000ng/L, ein LOB von 2,5ng/L und ein LOD von 3ng/L an [78].

1.4 Referenzwertbestimmung von Troponin-Assays

1.4.1 Rahmenbedingungen der Referenzwertbestimmung

Der Referenzwert für die cTn ist an der 99. Perzentile einer normalen, scheinbar gesunden Referenzpopulation definiert [1–4]. Die Auswahlkriterien für die Probanden der Referenzpopulation werden seit Jahren von der wissenschaftlichen Gemeinschaft diskutiert. Neben demographischen Faktoren wie Geschlecht, Alter und Ethnizität können sich subklinische Erkrankungen auf hsTn-Werte auswirken. Die 99. Perzentile als statistischer Parameter kann dabei durch einzelne hohe Werte entscheidend beeinflusst werden [79].

Da cTn-Werte verschiedener Assays nicht übertragbar sind, muss das URL für jedes einzelne Assay bestimmt werden. Dabei sollte das Messmedium angegeben und als mögliche Interferenz beachtet werden [19]. Für die Bestimmung der 99. Perzentile von cTn werden mindestens 300 Probanden benötigt. Für die Festlegung geschlechtsspezifischer 99. Perzentilen sollten je 300 Männer und Frauen untersucht werden [19,68]. Referenzwerte für Subpopulationen nach Alter oder Ethnizität werden nicht empfohlen [1,68]. Die optimalen demographischen Charakteristika der Referenzpopulation sind aktuell noch Gegenstand der Diskussion [18,67,79]. Die Academy of the American Association for Clinical Chemistry (AACC) und die IFCC haben 2018 empfohlen, dass sie mit denen der Patienten mit AMI-Symptomen übereinstimmen sollten [68].

Darüber hinaus empfehlen AACC und IFCC die Erhebung von Vorerkrankungen und Medikamentenanamnese, die Bestimmung von Brain Natriuretic Peptide (BNP) oder N-Terminalem-proBNP (NT-proBNP), GFR und HbA1c und die Anwendung bildgebender Verfahren zur Identifizierung subklinisch erkrankter Individuen. Für das NT-proBNP sollte ein Cutoff von 125ng/l für <75-Jährige bzw. 450ng/l für ≥75-Jährige, für BNP von 35ng/l, für HbA1c von 5,7% oder 6,5% und für die GFR von 60ml/min/1,73m² oder 90ml/min/1,73m² angewandt werden. Für jede Studie sollte die Beschreibung der Ein- und Ausschlusskriterien und demographischen Charakteristika der Referenzpopulation erfolgen [68].

Die 99. Perzentile wird von der Auswahl der statistischen Methode beeinflusst [80,81]. Die IFCC empfiehlt die Anwendung nicht-parametrischer Methoden [19]. Eine mögliche Alternative ist der Harrell-Davis-Schätzer [80,81]. Für die 99. Perzentile sollten die Konfidenzintervalle (KI) berechnet werden. Die Auswahl der Software hat dabei einen Einfluss auf die Höhe der KI [81]. Da die 99. Perzentile stark durch einzelne hohe Werte beeinflusst wird, kommt der Identifizierung von Outliern eine besondere Bedeutung zu. Hierzu eignen sich insbesondere die Methoden nach Dixon und Reed [80,81]. Alternativ wird die Bestimmung der 97,5. Perzentile diskutiert [79,80].

1.4.2 Forschungsstand zum Referenzwert des hochsensitiven Troponin T

1.4.2.1 99. Perzentile des hochsensitiven Troponin T

Die Kriterien für die Bestimmung der 99. Perzentile von cTn-Assays wurden in den letzten Jahren immer wieder diskutiert und angepasst [19,20,68,79]. Die 99. Perzentile für hsTnT wurde bereits in mehreren Studien bestimmt, die sich jedoch hinsichtlich Populationsgröße, -charakteristika, Auswahlkriterien und statistischer Methoden unterscheiden. Die Ergebnisse liegen zwischen 11,9ng/L und 28ng/L und sind in Tabelle 1 dargestellt. Laut Herstellerinformation in Deutschland und der Europäischen Union (EU) beträgt das URL für hsTnT 14ng/L [77]. Dieser Wert wurde an 616 gesunden Individuen erhoben und in einer Multicenter-Studie mit 533 Probanden bestätigt [5,82]. Das hsTnT-Assay wurde erst im Jahr 2017 als erstes hsTn-Assay von der FDA in den United States of America (USA) zugelassen, die als URL den von Fitzgerald et al. [83] erhobenen Wert von 19ng/L festgelegt hat [78]. Die meisten Studien erfüllen die Kriterien der AACC/IFCC von 2018 für die Bestimmung der 99. Perzentile nicht [68]. Eine Ausnahme bildet die Studie von Giannitsis et al.: Die Autoren konnten jedoch durch die Anwendung der strengeren Kriterien von AACC/IFCC im Vergleich zu einem Fragebogen keine signifikante Absenkung der 99. Perzentile feststellen [84]. Andere Autoren wie Zangh et al. befürworten hingegen eine Erweiterung der Kriterien zum Ausschluss von Individuen mit arterieller Hypertonie, Übergewicht und Dyslipidämie (85).

	Anzahl der Probanden	Anteil Männer	URL in ng/L	URL Frauen in ng/L	URL Männer in ng/L
Mingels et al. [86]	479	55%	16	8	18
Giannitsis et al. [5]	616	50%	13,5	10	14,5
Koerbin et al. [87]	104	55%	12,5	11,0	12,9
Saenger et al. [82]	533	50%	14,2	9	15,5
Chenevier-Gobeaux et al. [88]	213	36%	16,9	-	-
Collinson et al. [89]	200	37%	14,4	-	-
Hammarsten et al. [90]	403	23%	22,9	16,3	-
Apple et al. [62]	524	52%	15	13	20
Koerbin et al. [91]	490	47%	19,6	21,4	18,5
Fan et al. [92]	679	55%	12,2	-	-
Gore et al. [93]	1978	44%	14	11	17
	7575	39%	21	15	26
	1374	36%	28	24	34
Gaggin et al. [94]	565	44%	15,1	12	16,5
	592	51%	19	25	19
Franzini et al. [95]	1578	54%	14,6	14,8	14,7
Kimenai et al. [96]	1535	48%	15	12	16
Mueller et al. [97]	402	64%	-	11	14
Ungerer et al. [98]	2004	65%	15,9	9,6	18,1
Ko et al. [99]	641	47%	13,6	10,3	15,9
Gunsolus et al. [100]	694	61%	16	10	16
Aw et al. [101]	465	35%	11,9	11,8	12,6
Zhang et al. [85]	932	37%	16	13	18
Giannitsis et al. [84]	626	46%	16,1	13,1	16,8
Fitzgerald et al. [83]	1131	50%	17,6	12,7	19,0

Tabelle 1: Studienergebnisse für die Bestimmung der 99. Perzentile von hsTnT (bei Anwendung unterschiedlicher Auswahlkriterien wurde die 99. Perzentile mit den strengsten Kriterien angegeben)

1.4.2.2 Geschlechtsspezifische Referenzwerte

In der „Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction“ und den Richtlinien von AACC/IFCC wird die Anwendung geschlechtsspezifischer Referenzwerte für hsTn-Assays empfohlen [1,68]. Für Deutschland und die EU werden vom Hersteller noch keine geschlechtsspezifischen URL angegeben [77]. Es werden die Werte von Saenger et al. von

9ng/L für Frauen und 16ng/L für Männer angewandt [82]. Für die USA hat die FDA diese Grenzwerte auf 14ng/L für Frauen und 22ng/L für Männer nach den Ergebnissen von Fitzgerald et al. [83] festgelegt [78]. In den meisten Referenzwertstudien zeigten sich bis zu 2,25fach höhere hsTnT-Werte an der 99. Perzentile für Männer als für Frauen [102]. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Außerdem weisen Frauen seltener messbare hsTnT-Werte über dem LOD auf als Männer [84].

1.4.2.3 Altersspezifische Referenzwerte

Die Fachgesellschaften empfehlen keine Anwendung altersspezifischer URL für hsTn-Assays [1,68], obwohl sich sowohl in der Normalbevölkerung als auch in Referenzpopulationen höhere Werte für ältere als für jüngere Individuen gezeigt haben [54,84,85,87,91–93,95,98]. Gore et al. konnten für mehr als 10% der Männer ≥ 65 Jahren ihrer gesunden Population hsTnT-Werte über dem aktuellen URL von 14ng/L messen [93]. Giannitsis et al. haben signifikant unterschiedliche URL für ≤ 55 -Jährige von 12,7ng/L und für > 55 -Jährige von 16,8ng/L erhoben [84].

AACC und IFCC empfehlen, für die Festlegung geschlechtsspezifischer URL Probanden allen Alters ab 20 Jahren in die Referenzpopulation zur Bestimmung der 99. Perzentile aufzunehmen [68]. Altersspezifische Referenzwerte werden aber weiterhin diskutiert: Neben den oben genannten URL kommen dafür die 99. Perzentilen einer gesunden Referenzpopulation nach Dekaden oder für dichotome Subgruppen (z.B. < 30 -Jährige und ≥ 30 -Jährige mit einem Median von circa 60 Jahren) in Frage [67,79].

1.4.2.4 Referenzwerte ethnischer Subgruppen

Es gibt aktuell keine Empfehlung für die Anwendung bestimmter URL für ethnische Subgruppen, da die Studienlage für Empfehlungen nicht ausreichend ist [68]. Gore et al. stellten zwar höhere Werte für Schwarze als für Kaukasier fest, konnten allerdings für die Stratifizierung nach Ethnizität nur geringe Fallzahlen nachweisen [93]. Fitzgerald et al. hingegen erhoben eine geringfügig niedrigere 99. Perzentile für Schwarze/Afroamerikaner als Kaukasier, konnten aber auch nicht 300 Probanden pro Subgruppe nachweisen [83]. Gaggin et al. haben eine vietnamesische und US-amerikanische Population verglichen und

konnten eine geringfügig höhere 99. Perzentile bei einem niedrigerem Median für die vietnamesische Population feststellen [94].

AACC und IFCC empfehlen, eine für die geographische Lage repräsentative Referenzpopulation zur Bestimmung der 99. Perzentile auszuwählen [68]. Darüber hinaus werden gemischte Populationen beispielsweise aus 40% Kaukasiern, 40% Afroamerikanern und 20% weiteren ethnischen Subgruppen wie Hispanics und Asiaten für die Referenzwertbestimmung diskutiert [67,79].

1.5 Fragestellung

Der AMI ist eine weltweit häufig auftretende Notfallkrankung, die mit einer hohen Mortalität und einem hohen Kostenaufwand einhergeht. Die cTn sind als Biomarker für den Nachweis der myokardialen Zellschädigung zentraler Bestandteil der Myokardinfarktdefinition. Der Referenzwert wird an der 99. Perzentile einer normalen, gesunden Population definiert. Mit den hsTn-Assays ließen sich erstmals für mehr als die Hälfte der Normalbevölkerung cTn-Werte erheben. Aufgrund der hohen Sensitivität der Assays können sich neben bereits bekannten Vorerkrankungen auch demographische Faktoren und subklinische Erkrankungen auf die Werte auswirken. Die Auswahlkriterien für gesunde Probanden einer Referenzpopulation zur Bestimmung der 99. Perzentile der hsTn-Assays werden bis heute immer wieder diskutiert und angepasst. In einer Vielzahl von Studien wurde eine breite Spanne an möglichen URL erhoben. Dies spiegelt sich auch in dem höheren Wert der FDA für die USA im Vergleich zur restlichen Welt wider. Darüber hinaus werden spezielle Cutoff-Werte nach Geschlecht, Alter oder Ethnizität diskutiert. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die 99. Perzentile des hsTnT-Assays zu validieren, sie für verschiedene Subgruppen zu bestimmen und Faktoren, die mit dem hsTnT korrelieren und sich daher auf die Bestimmung der 99. Perzentile auswirken können, zu identifizieren.

2. Methodik

2.1 Zusammensetzung der Studienpopulation

Für diese Arbeit wurden die Daten 547 gesunder Probanden ausgewertet. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte zum einen im Rahmen von „Biomarkers in Cardiology (BIC)-1: Referenzwertstudie bei Gesunden“ des Arbeitsbereichs Notfallmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Weitere Probanden entstammen den Subkohorten 1 und 2 (NOKO-1 und NOKO-2) der Studie „Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests (kardiovaskuläre Risikomarker und Myokard-Infarkt Diagnostik)“ der Arbeitsgruppe „Kardiale Biomarker“ des Universitätsklinikums Heidelberg.

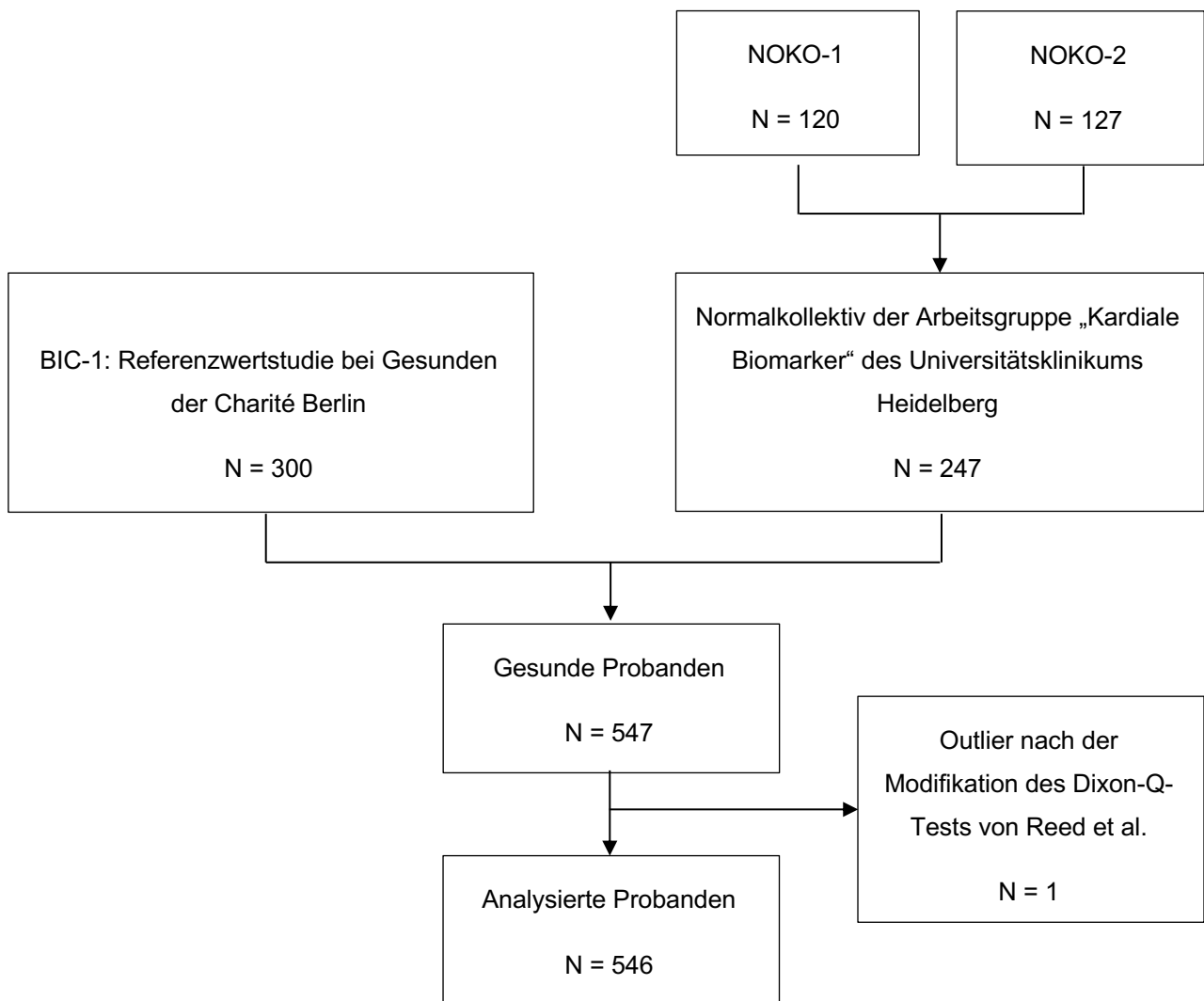


Abbildung 6: Flowchart zur Zusammensetzung der Studienpopulation

2.2 Biomarkers in Cardiology-1: Referenzwertstudie bei Gesunden

2.2.1 Studiendesign

300 Probanden dieser Arbeit wurden im Rahmen der BIC-1: „Referenzwertstudie bei Gesunden“ der Arbeitsgruppe Notfallmedizin der Charité Berlin rekrutiert. Ziel der Studie war das Erstellen einer Biomaterialdatenbank mit gesunden Probanden zur Bestimmung neuer kardialer Biomarker wie Myeloperoxidase (MPO), Placental Growth Factor (PLGF) und hsTnI. Im Rahmen der Studienvisite wurden Daten mittels Fragebogen, körperlicher Untersuchung und Blutentnahme erhoben.

2.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien der „BIC-1: Referenzwertstudie bei Gesunden“ waren Volljährigkeit und eine Anstellung an der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Ausschlusskriterien waren das Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit, ein Myokardinfarkt in der Vorgeschichte, das Vorliegen einer Herzinsuffizienz oder anderer Herzerkrankungen, Nieren- und Stoffwechselerkrankungen, kein vollwertiger Arbeitsvertrag (zum Beispiel Studierende, Praktikanten, Auszubildende) sowie ein Abhängigkeitsverhältnis zum Studienleiter. Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden mit einem Screeningbogen überprüft.

2.2.3 Rekrutierung der Probanden

Im Rahmen der „BIC-1: Referenzwertstudie bei Gesunden“ wurden an der Charité Berlin über den Zeitraum vom 06.07.2007 bis zum 05.11.2007 300 Probanden rekrutiert. Über einen Aufruf im Intranet wurden Mitarbeiter der Charité Berlin über die Studie informiert. Das Studienpersonal vergab Termine zur Studienvisite an interessierte Angestellte. Nach Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte die Datenerhebung mit einem Case Report Form (CRF). Anschließend wurden 50ml Blut entnommen. Die Probanden erhielten eine Aufwandsentschädigung von 50 Euro. Bei der Rekrutierung wurde auf eine gleiche Verteilung der Geschlechter und des Alters (18-40 Jahre bzw. 40-65 Jahre) geachtet.

2.2.4 Primärdaten

Die Erhebung relevanter epidemiologischer und gesundheitlicher Daten der Probanden erfolgte während der Studienvsiste mit einem CRF. Es wurden Geburtsdatum, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit, Größe, Gewicht, das Vorliegen eines Nikotinabusus und der Alkoholkonsum erhoben. Darüber hinaus wurden die kardiovaskulären Risikofaktoren arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperurikämie, Hyperlipidämie und AMIs bei Familienangehörigen ersten Grades vor dem 60. Lebensjahr dokumentiert. Außerdem wurden der Blutdruck und die Ruheherzfrequenz nach 5 Minuten Sitzen in Ruhe erhoben.


		Case Report Form Page 1 of 1		B-1	
BIC-1		Patient ID _ _ - _ _ _ - _		BASELINE	
Socio-demographic Variables			Examination date _ _ / _ _ / 2 0 _ _ <small>TT MM JJ JJ</small>		
Gender	<input type="radio"/> male <input type="radio"/> female				
Birthdate	_ _ / 1 9 _ _ <small>MM JJ JJ</small>				
Ethnicity:	<input type="radio"/> european <input type="radio"/> asian <input type="radio"/> african <input type="radio"/> others				
Physical examination					
Height	_ _ _ cm				
Weight	_ _ _ kg				
Blood pressure (sitting, after 5 min rest)	_ _ _ / _ _ _ mm Hg <small>systolic / diastolic</small>				
Heartrate (sitting, after 5 min rest)	_ _ _ / min				
Cardiovascular risk factors					
Diabetes mellitus	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> no/not known				
Hypertension	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> no/not known				
Hyperlipidemia	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> no/not known				
Hyperuricemia	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> no/not known				
Myokardial infarction before 60. year of life of relatives (parents, siblings or children)	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> no/not known				
Smoking	<input type="radio"/> yes <input type="radio"/> Ex-Smoker (≤6 Mon. clean) <input type="radio"/> NO (never smoked)				
Alcohol consumption	_____ dpw <small>(dpw = drinks per week; 1 drink = 0.25 l beer or 0.1 l wine or 2 cl spirituous beverages)</small>				
Additional comments:					
CRF (1 page) Confirmed: _ _ / _ _ / 2 0 _ _ <small>TT MM JJ JJ</small>					
			_____ Name (Print)		_____ Signature

Abbildung 7: CRF der BIC-1-Studie

2.2.5 Laboruntersuchung

Während der Studienvisite erfolgte eine Blutentnahme von 50ml. Diese setzte sich aus 1x2ml EDTA zum Verwerfen, 1x6ml Citrat, 2x8ml Lithium-Heparin, 1x8,5ml Serum, 2x2ml EDTA, 1x8,5ml EDTA sowie 1x5ml EDTA zusammen. Nach der Blutentnahme wurden die Proben sofort auf Eis gelagert. Innerhalb von 2 Stunden wurden die Proben zentrifugiert (3000/U, 10min, 5°C) und aliquotiert. Aus 1x6ml Citrat, 1x8,5ml Serum und 1x8,5ml EDTA wurden je 6 Aliquots, aus 2x8ml Lithium-Heparin 12 Aliquots hergestellt. Die Aliquots wurden bei -20°C für maximal eine Woche und anschließend bei -70°C aufbewahrt. Die 5ml EDTA wurden zentrifugiert, aliquotiert, zusätzlich verpackt und eingefroren. Alle Blutproben wurden pseudonymisiert.

Das hsTnT wurde im Januar 2014 im Labor Berlin aus Lithium-Heparin auf dem Gerät „Cobas 8000 modular analyzer series“ mit dem „cobas e 801“ von Roche Diagnostics® gemessen.

Darüber hinaus wurden MPO, PLGF, Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFLT), Growth/differentiation factor-15 (GDF15) und hsTnI (Architect® STAT von Abbott®) bestimmt.

2.2.6 Dokumentation

Für jeden Probanden wurde eine Probandenidentifikationsnummer erstellt. Die eindeutige Zuordnung dieser Nummer zum entsprechenden Probanden ist nur mit dem Enrollment-Log möglich, auf das ausschließlich das Studienpersonal Zugriff hat. Die Probandendaten wurden von den CRF in ein electronic Case Report Form (eCRF) des Koordinierungszentrums für Klinische Studien der Charité (KKS) übertragen. Die im Labor gemessenen Werte wurden in einer Tabelle des Programms Excel® dokumentiert. Anschließend wurden die Daten des eCRFs und der Tabelle mit den Laborwerten in einer Datei des Programms International Business Machines Corporation (IBM) Statistic Package for Social Sciences (SPSS) Statistics® zusammengeführt.

2.2.7 Ethik

Die Studie wurde entsprechend der ethischen Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen nach der „Declaration of Helsinki“ durchgeführt. Die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis wurde beachtet. Die gesetzlichen Bestimmungen zum Datenschutz wurden eingehalten. Die unterschriebenen Einwilligungs- und Datenschutzerklärungen aller Probanden liegen vor. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Berlin am 15.03.2007 beraten und nach Erfüllung der Auflagen am 25.04.2007 positiv bewertet. Die BIC-1-Studie wurde am 23.03.2011 im Deutschen Register klinischer Studien unter der DRKS-ID DRKS00000310 registriert.

2.2.8 Conflict of Interest

Die Kosten für eine ärztliche und eine MTA-Arbeitskraft sowie die Aufwandsentschädigung der gesunden Probanden wurde durch Abbott[®], USA übernommen.

2.3 Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests

2.3.1 Studiendesign

Weitere Probanden dieser Arbeit entstammen den Subkohorten 1 und 2 (NOKO-1 und -2) der Studie „Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests“ der der Arbeitsgruppe „Kardiale Biomarker“ des Universitätsklinikums Heidelberg. Ziel der Erstellung dieses Normalkollektivs war die Bestimmung kardialer Biomarker in einer gesunden Population. Im Rahmen der Studienvisite wurden Daten mittels Fragebogen, körperlicher Untersuchung, Blutentnahme und apparativer Diagnostik erhoben.

2.3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien für das Normalkollektiv waren ein Alter von 18-75 Jahren und ein Body-Mass-Index (BMI) von $<35\text{kg/m}^2$. Eine weitere Voraussetzung für die Teilnahme war ein stabiles Gewicht der Probanden in den letzten Monaten ($\pm 2\text{kg}$).

Ausschlusskriterien waren kardiovaskuläre Erkrankungen (KHK, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Karotisstenose, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern, Lungenarterienembolie/Schlaganfall/AMI/PCI/CABG in der Vorgeschichte), arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Leber- oder Nierenerkrankungen, aktive Krebserkrankungen in den letzten 5 Jahren (außer Basaliom), Strahlen- oder Chemotherapie in der Vorgeschichte, akute oder chronische Infektionskrankheiten, Autoimmunerkrankungen, regelmäßige Medikamenteneinnahme, übermäßiger Alkoholkonsum sowie aktiver Nikotin- oder Drogenkonsum. Diese Ausschlusskriterien wurden mit einem Screeningbogen überprüft.

Laborchemische Ausschlusskriterien waren Kreatinin $>1,3\text{mg/dl}$, HbA1c $\geq 6,5\%$, Hämoglobin (Hb) $<10\text{g/dl}$ und NT-proBNP $>450\text{ng/L}$.

Alle pathologischen Befunde in der körperlichen Untersuchung führten ebenfalls zum Ausschluss. In einem 12-Kanal-Ruhe-EKG galten ST-Strecken-Veränderungen, Atrioventrikulärer Block I-III°, Linksschenkelblock und Vorhofflimmern als Ausschlusskriterien. In einer Stress-Echokardiographie oder im Kardio-Magnetresonanztomographie (MRT) nachgewiesene linksventrikuläre systolische Dysfunktion (linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) $<55\%$), linksventrikuläre Hypertrophie (Septumdicke $\geq 11\text{mm}$, posteriore Wanddicke $\geq 11\text{mm}$), linksventrikuläre Dilatation ($>55\text{mm}$), moderate oder schwere Herzklappenerkrankungen oder stress-induzierte regionale Wandbewegungsstörungen oder ventrikuläre Arrhythmien führten ebenfalls zum Ausschluss.

2.3.3 Rekrutierung der Probanden

Potentielle Studienteilnehmer wurden über Aushänge und Zeitungsanzeigen über die Studie informiert. Im Zeitraum vom 06.06.2007 bis zum 25.03.2008 wurden so 120 Probanden für die NOKO-1 rekrutiert. Die 127 Probanden der NOKO-2 wurden vom 28.08.2010 bis zum 31.05.2012 rekrutiert. Zunächst erfolgte ein Screening mittels Fragebogen. Die Studienvisite

beinhaltete außerdem eine körperliche Untersuchung, das Erheben der Vitalparameter, ein 12-Kanal-EKG sowie ein kardiales Stress-MRT oder eine Stress-Echokardiographie. Darüber hinaus erfolgte eine Blutentnahme. Die Probanden erhielten keine Aufwandsentschädigung.

2.3.4 Primärdaten

Zunächst erfolgte die Erhebung anamnestischer Daten mit einem Fragebogen (Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht). Für die Probanden der NOKO-1 wurde zusätzlich ermittelt, ob sie regelmäßig Sport oder Hochleistungssport treiben würden. Anschließend wurde eine körperliche Untersuchung mit Erhebung der Vitalparameter (Blutdruck, Ruheherzfrequenz) durchgeführt. Bei der NOKO-1 wurde auch der Taillen- und Hüftumfang gemessen. Für alle Probanden wurde die PQ- und QRS-Zeit in einem 12-Kanal-Ruhe-EKG gemessen. Bei den Probanden der NOKO-1 wurden zusätzlich Rhythmus, Lagetyp und das Vorliegen eines Rechtsschenkelblocks erhoben. Außerdem wurde für insgesamt 157 Probanden aus beiden Kohorten die LVEF mittels Echokardiographie oder Kardio-MRT bestimmt.

2.3.5 Laboruntersuchungen

Während der Studienvisite wurden den Probanden 100ml Vollblut entnommen. Die Blutproben wurden pseudonymisiert. Das hsTnT wurde direkt aus Lithium-Heparin-Plasma auf dem Gerät „cobas e 411“ von Roche Diagnostics® gemessen. Das LOD bei dieser Methode liegt bei 5ng/L. Für die NOKO-1 erfolgte die Messung im Studienlabor der Klinik Innere Medizin III des Universitätsklinikums Heidelberg. Die Messung für die NOKO-2 erfolgte im Zentrallabor des Universitätsklinikums Heidelberg. Die restlichen Proben wurden zentrifugiert und bei -70°C für die Messung weiterer Biomarker und für Nachmessungen eingefroren.

Außerdem wurden Kreatinin, CK, NT-proBNP, AST, Alanin-Aminotransferase (ALT), Gesamt-Bilirubin, Gesamteiweiß, C-reaktives Protein (CRP), Thyreotropin (TSH), freies T3 (fT3), freies T4 (fT4), Harnsäure, Triacylglyceride (TAG), Gesamtcholesterol (TC), High-density Lipoprotein (HDL), Low-density Lipoprotein (LDL), Erythrozyten, Hb, Hämatokrit, Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV), Hämoglobinkoeffizient (MCH), Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Erythrozytenverteilungsbreite (RDW), Leukozyten,

Thrombozyten, Natrium, Kalium, Nüchtern-Glucose sowie Glucose 2 Stunden nach dem oralen Glukosetoleranztest (oGTT) bestimmt. Für die NOKO-1 wurden zusätzlich Ferritin und hypochrome Erythrozyten gemessen. Bei den Probanden der NOKO-2 wurden γ -Glutamyltransferase (GGT), Harnstoff, Cystatin C und HbA1c bestimmt.

2.3.6 Dokumentation

Jedem Probanden wurde eine Identifikationsnummer zugeordnet. Die eindeutige Zuordnung der Identifikationsnummer zum entsprechenden Probanden ist nur dem Studienpersonal möglich.

Die erhobenen Daten wurden zunächst in das CRF der jeweiligen Subkohorte eingetragen und dann in ein eCRF übertragen. Diese Informationen wurden anschließend in eine Datei des Programmes Excel[®] überführt. Zur weiteren Auswertung wurden die Datensätze in Tabellen des Programmes IBM SPSS Statistics[®] umgewandelt.

2.3.6 Ethik

Die Studie „Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests“ erfolgte nach den ethischen Grundsätzen für die medizinische Forschung am Menschen nach der „Declaration of Helsinki“. Die unterschriebenen Einwilligungserklärungen aller Probanden liegen vor. Die gesetzlichen Bestimmungen zum Datenschutz wurden eingehalten. Ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg vom 25.04.2007 liegt vor.

2.3.7 Conflict of Interest

Für die Studie „Ein kardiovaskulär gesundes Referenzkollektiv für neue, hochsensitive Tests“ besteht kein Conflict of Interest.

2.4 Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte vorrangig in der MEDLINE-Datenbank PubMed mit den Hauptschlagwörtern „high-sensitivity cardiac troponin t“, „highly-sensitive cardiac troponin t“, „reference value“, „reference population“, „99th percentile“ und „myocardial infarction“. Weitere Publikationen wurden aus dem Literaturverzeichnis der über die Suchmaske identifizierten Artikel extrahiert. Artikel, die nicht im Volltext verfügbar waren, wurden über die Medizinische Bibliothek der Charité Berlin bestellt oder direkt bei den Autoren angefragt. Informationen zum Assay des hsTnT wurden unter anderem der Website des Herstellers Roche® entnommen. Für epidemiologische Daten wurden die Websites der World Health Organization (WHO), des statistischen Bundesamts und der Deutschen Herzstiftung konsultiert. Darüber hinaus wurden Fachbücher der Physiologie, Inneren Medizin und Kardiologie für die Literaturrecherche verwendet.

2.5 Datenaufbereitung

Für die statistische Auswertung wurden die Datensätze der BIC-1-Studie und beider Subkohorten des Normalkollektivs zunächst zu einer Datei des Programms IBM SPSS Statistics 25® zusammengeführt. Aus dem Kreatinin-Wert wurde die GFR nach Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)-Formel berechnet. HsTnT-Werte unter dem LOB von 3ng/l wurden mit 3ng/l angegeben.

Jede einzelne Variable wurde auf Plausibilität geprüft. Dafür wurden unter anderem Minimal-, Maximal- und Modalwerte erhoben sowie einzelne Variablen miteinander in Bezug gesetzt und so auf Plausibilität geprüft und wenn möglich korrigiert. Die Identifizierung von Outliern mit deutlich erhöhten und damit nicht-plausiblen hsTnT-Werten erfolgte anhand der Modifikation des Dixon-Q-Tests von Reed et al. [103]. X1 wurde dafür am LOB definiert. So wurde ein hsTnT-Wert von 31,72ng/l als falsch hoch eingestuft und der zugehörige Proband der NOKO-1 von der Datenanalyse ausgenommen.

$$r = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_1} > \frac{1}{3}$$

Formel 1: Identifizierung fehlerhaft erhöhter Werte in nicht-normalverteilten Stichproben nach der Modifikation des Dixon-Q-Tests von Reed et al. [103]

2.6 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung des Datensatzes wurde mit dem Programm IBM SPSS Statistics 25[®] durchgeführt.

Die Charakterisierung der Population erfolgte mit deskriptiver Statistik. Für qualitative Merkmale wurden die absoluten und relativen Häufigkeiten bestimmt. Quantitative Merkmale wurden graphisch (Histogramm mit Normalverteilungskurve) und analytisch (Kolmogorov-Smirnov-Test) auf Normalverteilung geprüft. Für normalverteilte quantitative Merkmale wurden Mittelwert, Standardabweichung und Varianz berechnet. Für nicht-normalverteilte quantitative Merkmale hingegen wurde der Median, die Quartilen und der Interquartilenabstand bestimmt. Für alle quantitativen Merkmale wurden außerdem Minimum und Maximum erhoben. Bei fehlenden Werten wurden die relativen Häufigkeiten in Bezug auf die Menge der erhobenen Werte dargestellt. In diesen Fällen wurde zusätzlich die Menge der erhobenen Werte angegeben.

Für das hsTnT erfolgte die Berechnung der 99. Perzentile für die Gesamtpopulation und für verschiedene Subpopulationen. Es wurden die 95%-Konfidenzintervalle mit 10000 Bootstrap-Stichproben berechnet. Für quantitative Merkmale mit mindestens 100 gültigen Werten wurde die Korrelation zum hsTnT nach Spearman berechnet. Probanden mit einem Wert unter dem LOB von $\leq 3\text{ng/L}$ wurden von der Korrelationsanalyse ausgeschlossen. Bei nominal- und ordinalskalierten Merkmalen erfolgte ein Vergleich mit dem Mann-Whitney-U- oder Kruskal-Wallis-Test. Der Vergleich von Häufigkeiten erfolgte mit Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat-Test. Das Signifikanzniveau wurde auf $p = 0,05$ festgelegt. Die berechneten p-Werte sind als explorativ anzusehen.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit IBM SPSS Statistics 25[®] sowie Excel 2016[®]. Es wurden Histogramme, Boxplots, Streudiagramme und Forest Plots erstellt.

3. Ergebnisse

3.1 Charakterisierung der Population

3.1.1 Demographische Daten

Von den in die Datenanalyse eingeschlossenen 546 Probanden sind 50,2% Männer (274) und 49,8% Frauen (272). Das mediane Alter liegt bei 44 (IQR 35-52) Jahren. Die Altersspanne reicht von 19 bis 74 Jahren. Tabelle 2 stellt die demographische Zusammensetzung der Subkohorten dar.

	BIC-1 (N = 300)	NOKO-1 (N = 119)	NOKO-2 (N = 127)
Geschlecht			
- Männer	150 (50,0%)	59 (49,6%)	65 (51,2%)
- Frauen	150 (50,0%)	60 (50,4%)	62 (48,8%)
Alter in Jahren			
- Median (Quartilen)	39 (33-39)	43 (29-52)	53 (48-61)
- Minimum	19	21	35
- Maximum	63	68	74

Tabelle 2: Demographische Zusammensetzung der Population nach Kohorten

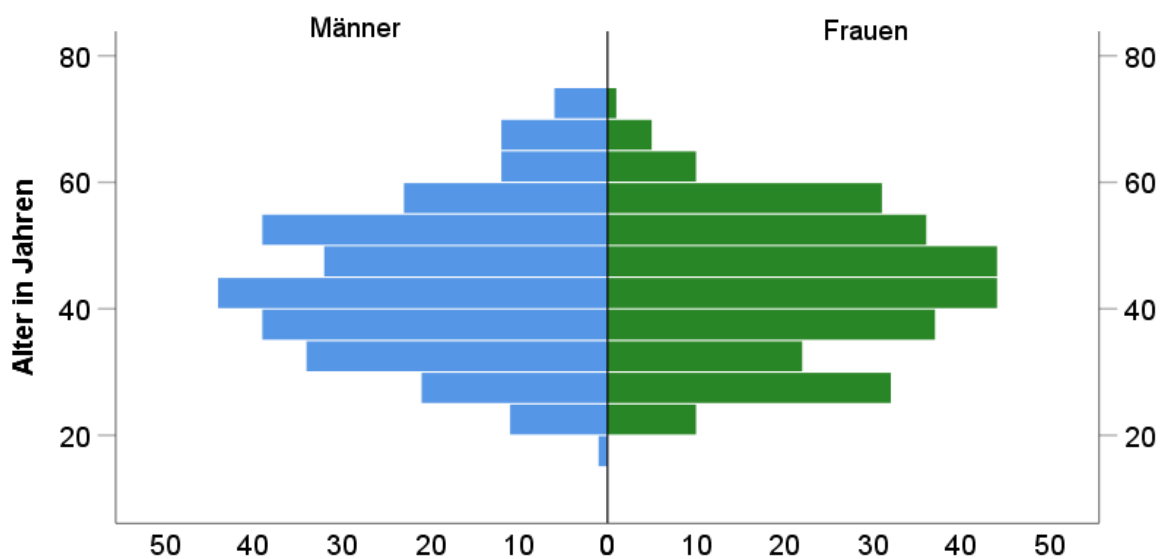


Abbildung 8: Populationspyramide der Gesamtpopulation (N = 546)

Für die 300 Probanden der BIC-1-Studie wurde außerdem die ethnische Zugehörigkeit erhoben. 299 Probanden sind Europäer. Eine Probandin ist Asiatin.

3.1.2 Anamnestische Angaben

Für die 300 Probanden der BIC-1-Studie wurde die Raucher-, Alkohol- und Familienanamnese (AMI vor 60. Lebensjahr bei Angehörigen 1. Grades) erhoben. Diese Ergebnisse sind in den Abbildungen 9-11 dargestellt. Der Alkoholkonsum der BIC-1-Probanden wurde in Anzahl der alkoholischen Getränke pro Woche dokumentiert. Der Median liegt bei 2 Getränken pro Woche (IQR 0-4). Die geringste Anzahl liegt bei 0 und das Maximum bei 21. Für die Probanden des Normalkollektivs des Universitätsklinikums Heidelberg galt ein übermäßiger Alkoholkonsum und fortgeführter Nikotinabusus als Ausschlusskriterium.

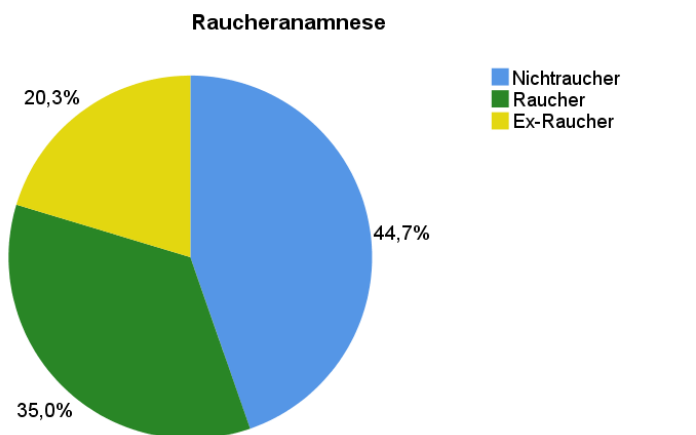


Abbildung 9: Rauchverhalten der BIC-1-Probanden (N = 300)

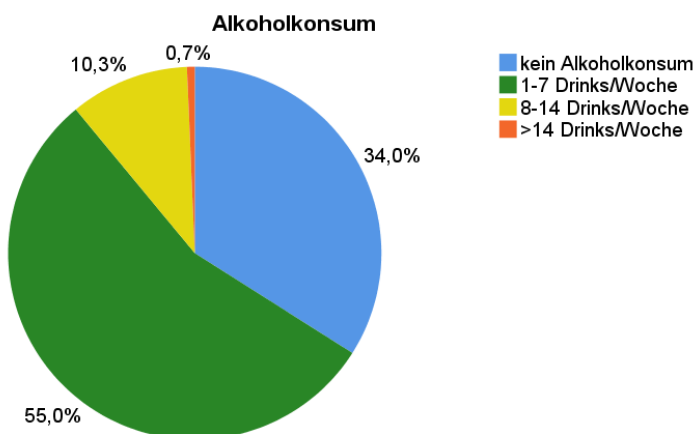


Abbildung 10: Alkoholkonsum der BIC-1-Probanden (N = 300)

AMI bei Familienangehörigen 1. Grades vor dem 60. Lebensjahr

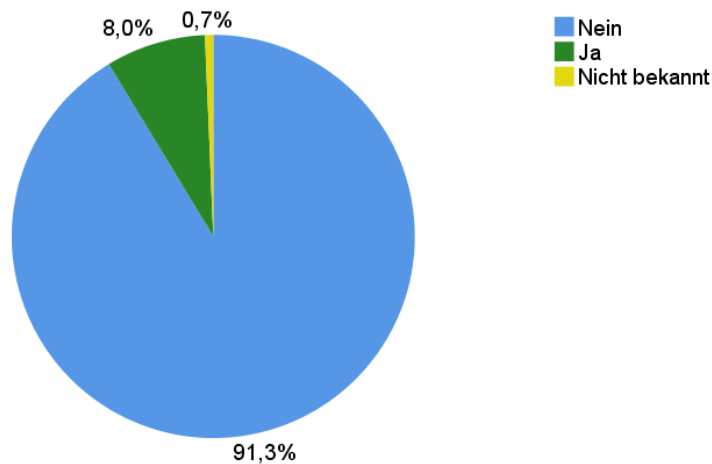


Abbildung 11: Familienanamnese der BIC-1-Probanden (N = 300)

Für die 119 Probanden aus NOKO-1 wurde erhoben, ob sie regelmäßig Sport oder Hochleistungssport treiben. 37 Probanden (31,1%) gaben an, keinen Sport zu treiben. 77 Probanden (64,7%) trieben regelmäßig Sport, 5 Probanden (4,2%) trieben sogar Hochleistungssport.

3.1.3 Körpermesswerte

Das mediane Körpergewicht aller Probanden liegt bei 74,0kg (IQR 65,0-83,5kg) mit einem Minimum von 46,4kg und einem Maximum von 141,6kg. Die mediane Größe liegt bei 173cm (IQR 167-180cm) mit einem Minimum von 150cm und einem Maximum von 199cm. In Tabelle 3 sind die Körpermesswerte nach Subkohorte aufgeführt.

	BIC-1 (N = 300)	NOKO-1 (N = 119)	NOKO-2 (N = 127)
Größe in cm	173,5 (167,0-180,0)	172,0 (167,0-180,0)	173,0 (165,0-178,0)
Gewicht in kg	75,6 (65,7-85,8)	72,0 (64,0-82,0)	72,0 (65,0-80,0)
BMI in kg/m ²	24,9 (22,4-27,7)	23,9 (21,6-26,4)	24,2 (22,6-26,9)

Tabelle 3: Körpermesswerte der Subkohorten mit Median und Quartilen

Der Median des BMI liegt bei $24,4\text{kg/m}^2$ (IQR $22,3\text{-}27,3\text{kg/m}^2$), das Minimum bei $17,5\text{kg/m}^2$ und das Maximum bei $40,9\text{kg/m}^2$. In Abbildung 12 ist die Verteilung des BMI in der Gesamtpopulation dargestellt.

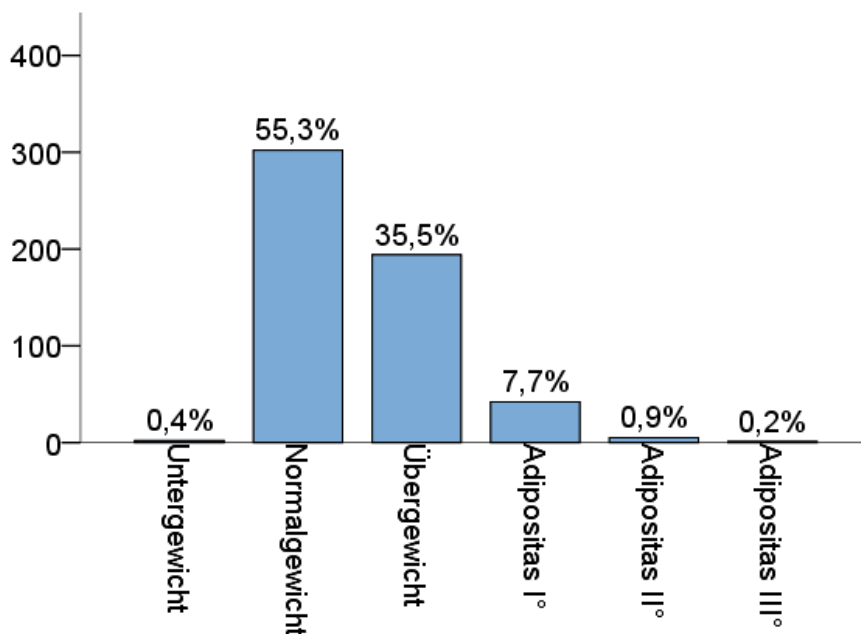


Abbildung 12: BMI der Gesamtpopulation (N = 546)

Für 114 Probanden der NOKO-1 wurde die Waist-Hip-Ratio erhoben. Der Median für Männer (N = 56) liegt bei 0,89 mit Quartilen von 0,86 und 0,95. Minimum und Maximum betragen 0,79 bzw. 1,06. Für die Frauen (N = 58) liegt der Median bei 0,82. Die Quartilen betragen 0,78 und 0,85 und Minimum und Maximum 0,70 und 1,08.

3.1.4 Vitalparameter

Der systolische und diastolische Blutdruck und die Pulsfrequenz wurden für alle 546 Probanden bestimmt. Der mediane systolische Blutdruck liegt bei 120mmHg mit Quartilen von 110mmHg und 130mmHg . Minimum und Maximum liegen bei 75mmHg bzw. 170mmHg . Der mediane Wert des diastolischen Blutdrucks liegt bei 70mmHg . Die Quartilen liegen bei 67 und 80mmHg und Minimum und Maximum bei 46mmHg bzw. 110mmHg . 84 (15,4%) Probanden weisen einen systolischen Blutdruck $\geq 140\text{mmHg}$ und 43 (7,9%) Probanden einen diastolischen Blutdruck $\geq 90\text{mmHg}$ auf. Die Verteilung der Blutdruckwerte in der Gesamtpopulation sind in Abbildung 13 dargestellt. Der mediane Puls liegt bei $71/\text{min}$. Die

Quartilen liegen bei 63/min und 80/min und Minimum und Maximum bei 42/min bzw. 124/min. In Tabelle 4 sind die Vitalparameter nach Subgruppen dargestellt.

	BIC-1 (N = 300)	NOKO-1 (N = 119)	NOKO-2 (N = 127)
Systolischer Blutdruck in mmHg	120 (110-130)	125 (118-134)	120 (110-113)
Diastolischer Blutdruck in mmHg	70 (65-80)	76 (70-82)	70 (60-80)
Puls pro Minute	76 (68-84)	64 (58-72)	68 (60-74)

Tabelle 4: Vitalparameter nach Subkohorten mit Median und Quartilen

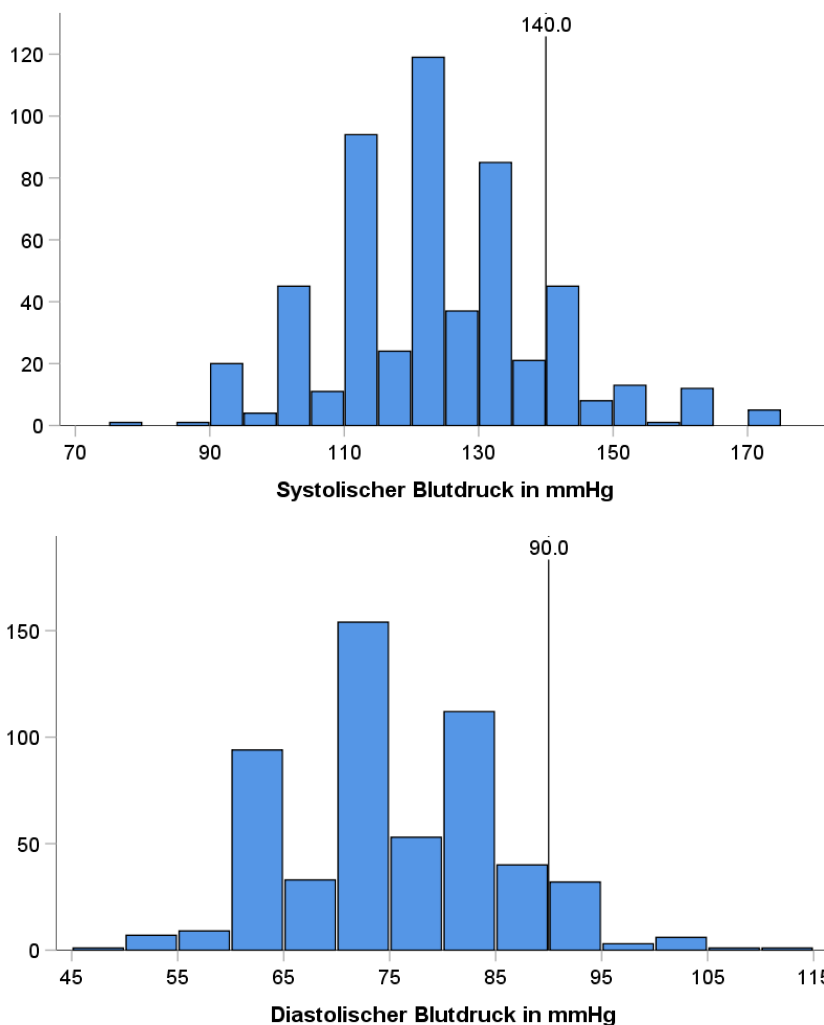


Abbildung 13: Verteilung der systolischen und diastolischen Blutdruckwerte in der Gesamtpopulation

3.1.5 Laborparameter

Tabelle 5 stellt die erhobenen Laborparameter mit Median, Quartilen und Minimum und Maximum dar.

	Einheit	Referenzbereich	N	Median	1. Quartile	3. Quartile	Minimum	Maximum
NT-proBNP	ng/L	altersabhängig	245 ^{1,2}	43	26	78	0	402
Kreatinin	mg/dl	≤1,10	246 ^{1,2}	0,82	0,72	0,91	0,47	1,21
GFR nach MDRD	ml/min/1,73 m ²	altersabhängig	246 ^{1,2}	93,6	82,5	106,9	57,76	163,01
HbA1c	%	<5,7	124 ²	5,5	5,3	5,7	4,8	6,3
Nüchtern-Glucose	mg/dl	≤100	246 ^{1,2}	91	84	98	64	132
Glucose 2h nach oGTT	mg/dl	<140	245 ^{1,2}	96	79	109	31	170
Natrium	mmol/L	135-145	246 ^{1,2}	140	139	142	133	147
Kalium	mmol/L	3,6-5,0	246 ^{1,2}	4,05	3,83	4,27	3,15	5,18
hsTnl	ng/L	<26,2	300 ³	0,52	0,00	1,34	0,00	73,21
CK	U/l	≤190	245 ^{1,2}	115,0	84,5	162,5	31	640
AST	U/l	<38	246 ^{1,2}	22	18	26	12	56
ALT	U/l	<41	246 ^{1,2}	21	17	29	8	79
GGT	U/l	≤60	127 ²	18	13	29	6	130
Gesamt-Bilirubin	mg/dl	≤1,1	245 ^{1,2}	0,6	0,5	0,8	0,2	3,0
Harnstoff	mg/dl	12-50	127 ²	29	24	34	15	52
Cystatin C	mg/l	0,5-0,96	127 ²	0,7	0,6	0,8	0,4	1,0
Harnsäure	mg/dl	≤7	246 ^{1,2}	4,95	4,28	5,9	1,13	37,0
TAG	mg/dl	150	246 ^{1,2}	83	65	116	28	337
TC	mg/dl	<200	246 ^{1,2}	203,5	182,5	224,3	129,0	338,0
HDL	mg/dl	>35	244 ^{1,2}	59,0	51,0	72,0	32,0	114,0
LDL	mg/dl	≤200	244 ^{1,2}	124,0	103,3	141,0	61,0	234,0
Gesamtprotein	g/L	66-83	246 ^{1,2}	73,4	70,9	75,7	62,8	86,2
Erythrozyten	/pl	4,0-5,6	246 ^{1,2}	4,7	4,4	4,9	3,6	6,0
Hämoglobin	g/dl	12-17	246 ^{1,2}	13,8	13,2	24,7	10,9	17,4
Hämatokrit	L/L	0,38-0,50	246 ^{1,2}	0,41	0,38	0,43	0,31	0,51
MCV	fl	85-98	246 ^{1,2}	88	85	90	74	97

MCH	pg	28-34	246 ^{1,2}	30	29	31	24	34
MCHC	g/dl	31-37	246 ^{1,2}	34	33	35	24	38
RDW	%	11,5-14,5	246 ^{1,2}	13,1	12,8	13,5	11,7	18,1
Hypochrome Erythrozyten	%	≤2,5	118 ¹	0,1	0,1	0,2	0,0	2,4
Leukozyten	/nl	3,8-10,5	246 ^{1,2}	5,59	4,87	6,56	3,12	10,51
Thrombozyten	/nl	140-345	246 ^{1,2}	256	226	299	132	503
CRP	mg/L	<5,0	19 ^{1,2}	4,9	3,3	7,2	2,5	12
Ferritin	µg/L	6-400	8 ¹	32,0	19,0	50,5	10,0	233,00
TSH	µU/L	0,4-4,0	136 ^{1,2}	1,42	0,93	1,88	0,13	14,49
fT3	pg/ml	2,0-4,4	128 ^{1,2}	3,10	2,86	3,33	2,31	4,07
fT4	ng/dl	0,83-1,70	128 ^{1,2}	11,57	10,75	12,94	8,56	17,10
MPO	pmol/l		300 ³	102,25	76,08	127,70	13,00	683,0
PLGF	pg/ml		300 ³	15,04	13,22	17,06	8,44	32,59
sFLT	pg/ml		300 ³	199,33	179,05	222,13	128,67	3512,86
GDF15	pg/L		300 ³	408,81	339,16	523,15	213,13	7765,39

Tabelle 5: Erhobene Laborparameter (Legende: ¹ – NOKO-1, ² – NOKO-2, ³ – BIC-1)

Die Abbildungen 14-17 zeigen die Verteilung der Werte für das NT-proBNP (N = 245), die GFR (N = 246), den HbA1c (N = 124) und die Nüchtern-Glucose (N = 246) in der Population. Bei 15,1% (N = 37) liegt das NT-proBNP ≥100ng/L, bei 6,1% (N = 15) ≥125ng/L und bei 0,8% (N = 2) ≥250ng/L. 100 (40,6%) Probanden haben eine GFR von ≤90ml/min/1,73m² und 1 (0,4%) von ≤60ml/min/1,73m². Der HbA1c liegt bei 35,5% (N = 44) der Probanden ≥5,7%. 1 (0,4%) Proband hatte einen Nüchtern-Glucose von ≥126mg/dl.

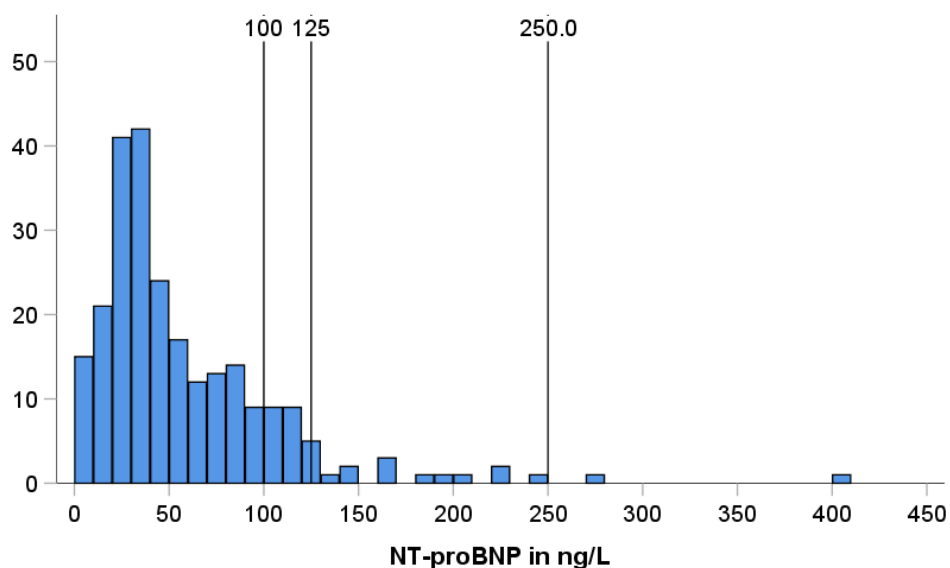


Abbildung 14: Verteilung der NT-proBNP-Werte (N = 245)

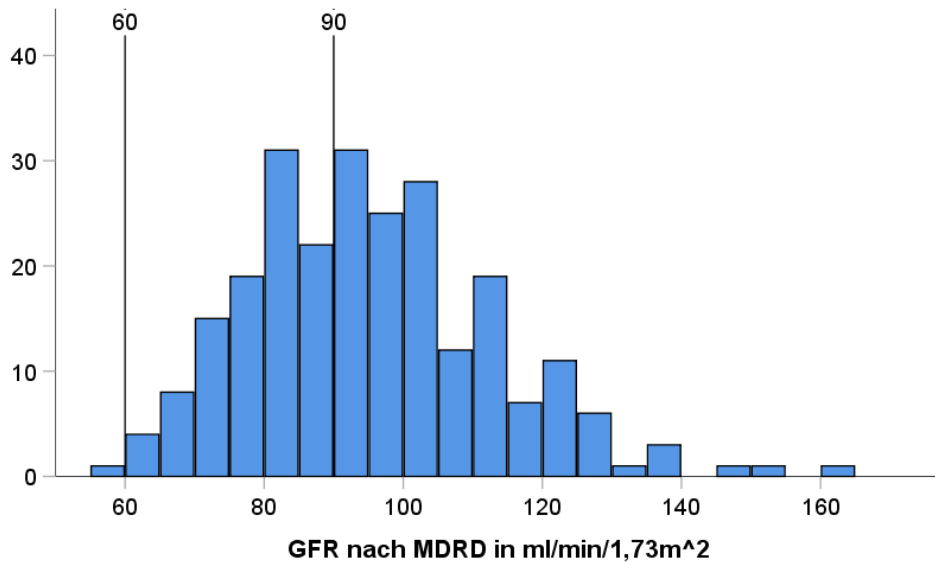


Abbildung 15: Verteilung der GFR-Werte (N = 246)

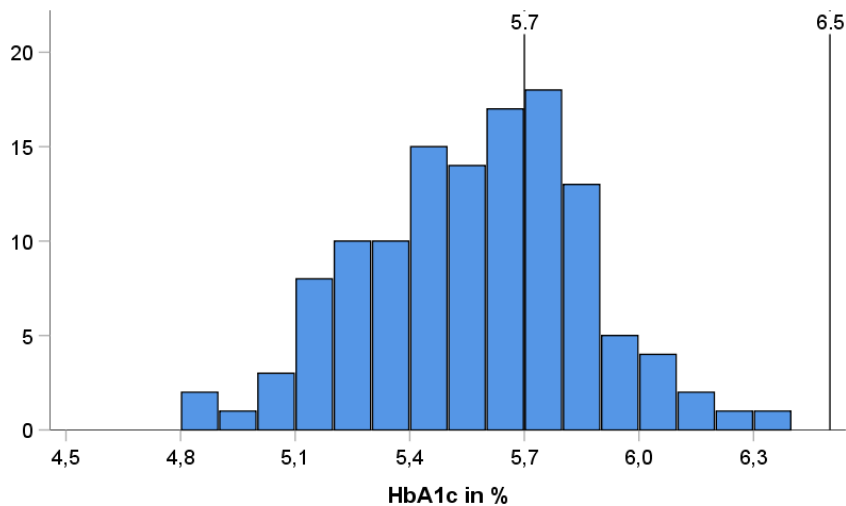


Abbildung 16: Verteilung der HbA1c-Werte (N = 124)

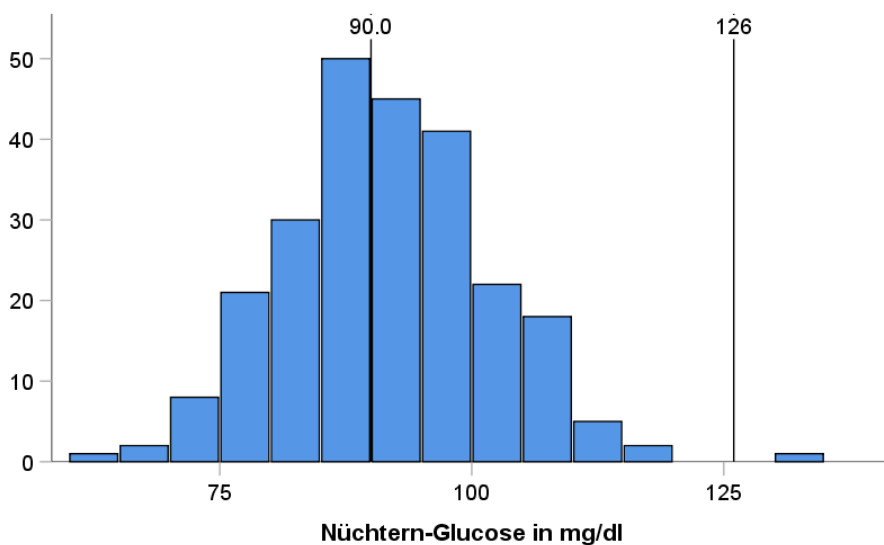


Abbildung 17: Verteilung der Nüchtern-Glucose-Werte (N = 246)

3.1.6 Apparative Untersuchungen

Bei den Probanden des Normalkollektivs wurde ein 12-Kanal-Ruhe-EKG geschrieben. Die mediane PQ-Zeit (N = 244) lag bei 150ms, die 25. und 75. Perzentilen bei 130ms bzw. 170ms. Das Minimum lag bei 66ms und das Maximum bei 252ms. Die mediane QRS-Zeit (N = 244) lag bei 95ms, die Quartilen bei 89ms und 102ms und Minimum und Maximum bei 71ms und 139ms.

Für die Probanden der NOKO-1 wurden zusätzlich Grundrhythmus, Lagetyp und das Vorliegen eines RSB erhoben. Alle 119 Probanden (100%) waren im Sinusrhythmus. Die Verteilung des Lagetyps ist in Abbildung 18 dargestellt. 1 (0,9%) Proband hatte einen kompletten und 10 (8,4%) Probanden einen inkompletten RSB.

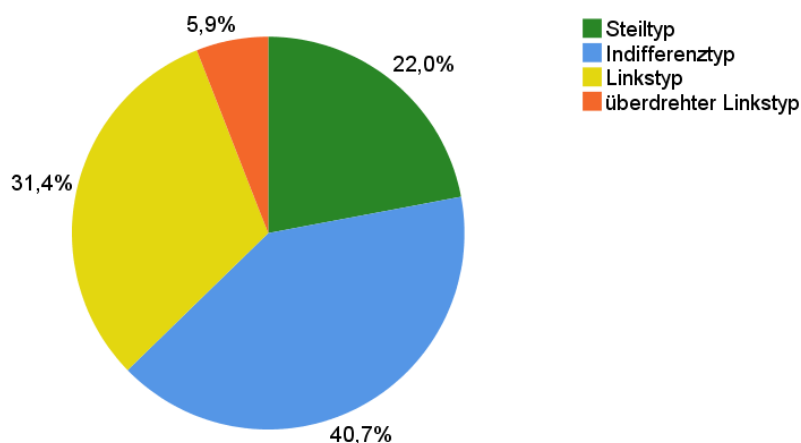


Abbildung 18: Lagetypen im EKG der Probanden der NOKO-1 (N = 118)

Die LVEF wurde für 156 Probanden des Normalkollektivs bestimmt. Der mediane Wert lag bei 62%, die Quartilen bei 59% und 65%. Minimum und Maximum waren 55% bzw. 77%.

3.2 Hochsensitives Troponin T

3.2.1 Verteilung

Das hsTnT wurde für alle 546 Probanden bestimmt. Der Median liegt bei 3,75ng/L, das Minimum bei 3ng/L und das Maximum bei 19,67 ng/L. Die Quartilen sind 3,00ng/L und

5,17ng/L. Abbildung 20 zeigt die Verteilung der hsTnT-Werte und Abbildung 19 die Verteilung der Werte anhand der Subkohorten. Im Kruskal-Wallis-Test zeigt sich ein signifikanter Unterschied in den hsTnT-Werten zwischen den Subkohorten (Kruskal-Wallis $H = 50,1$; $p < 0,001$). Der anschließend durchgeführte Post-hoc-Test (Dunn-Bonferroni-Test) zeigt, dass nur die hsTnT-Werte der NOKO-1 über denen der NOKO-2 und BIC-1 liegen ($z = 6,81$ bzw. $-5,68$; $p < 0,001$). Die hsTnT-Werte der NOKO-2 und BIC-1-Kohorte hingegen unterscheiden sich nicht.

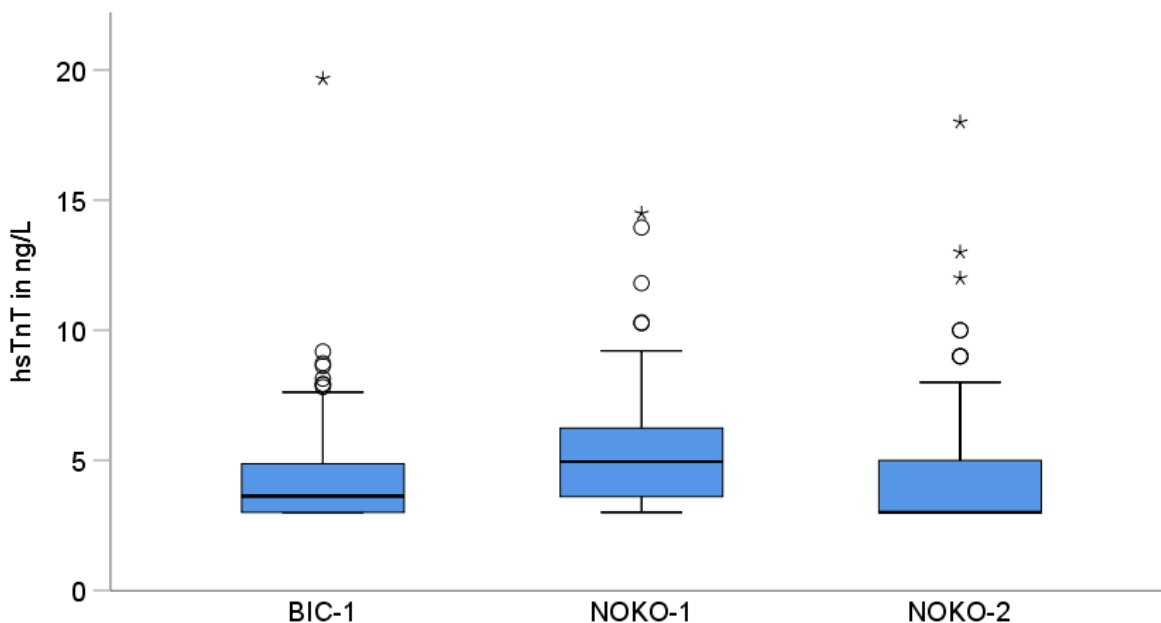


Abbildung 19: hsTnT-Werte nach Subkohorte (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

351 (64,3%) Probanden haben einen hsTnT-Wert über dem LOB von 3ng/L. 149 (27,3%) liegen über dem LOD von 5ng/L. In Tabelle 6 sind die Häufigkeiten der hsTnT-Werte über LOB und LOD nach Subkohorten dargestellt.

	N	hsTnT > LOB	hsTnT > LOD
BIC-1	300	201 (67,0%)	69 (23,0%)
NOKO-1	119	102 (85,7%)	55 (46,2%)
NOKO-2	127	48 (37,8%)	25 (19,7%)

Tabelle 6: Häufigkeiten für Werte über LOB und LOD nach Subkohorten

3.2.2 99. Perzentile

Die 99. Perzentile des hsTnT für die Gesamtpopulation beträgt 12,53ng/L. Das 95%-KI für diesen Wert liegt bei 9,62-16,35ng/L. Für die Probanden der BIC-1-Studie liegt die 99. Perzentile bei 8,73ng/L (95%-KI 7,82-19,57ng/L). Sie liegt unter der von NOKO-1 (14,38ng/L, 95%-KI 10,29-14,49ng/L) und NOKO-2 (16,60ng/L, 95%-KI 10,00-18,00ng/L). Insgesamt liegt das hsTnT bei 3 (0,5%) Probanden ≥ 14 ng/L und bei 1 (0,2%) Probandin ≥ 19 ng/L.

Die 97,5. Perzentile der Gesamtpopulation liegt bei 9,06ng/L (95%-KI 8,58-10,54ng/L). Nach Wiederaufnahme des nach Reed et al. identifizierten Outliers in die Analyse beträgt die 97,5. Perzentile 9,19ng/L (95%-KI 8,63-11,81ng/L).

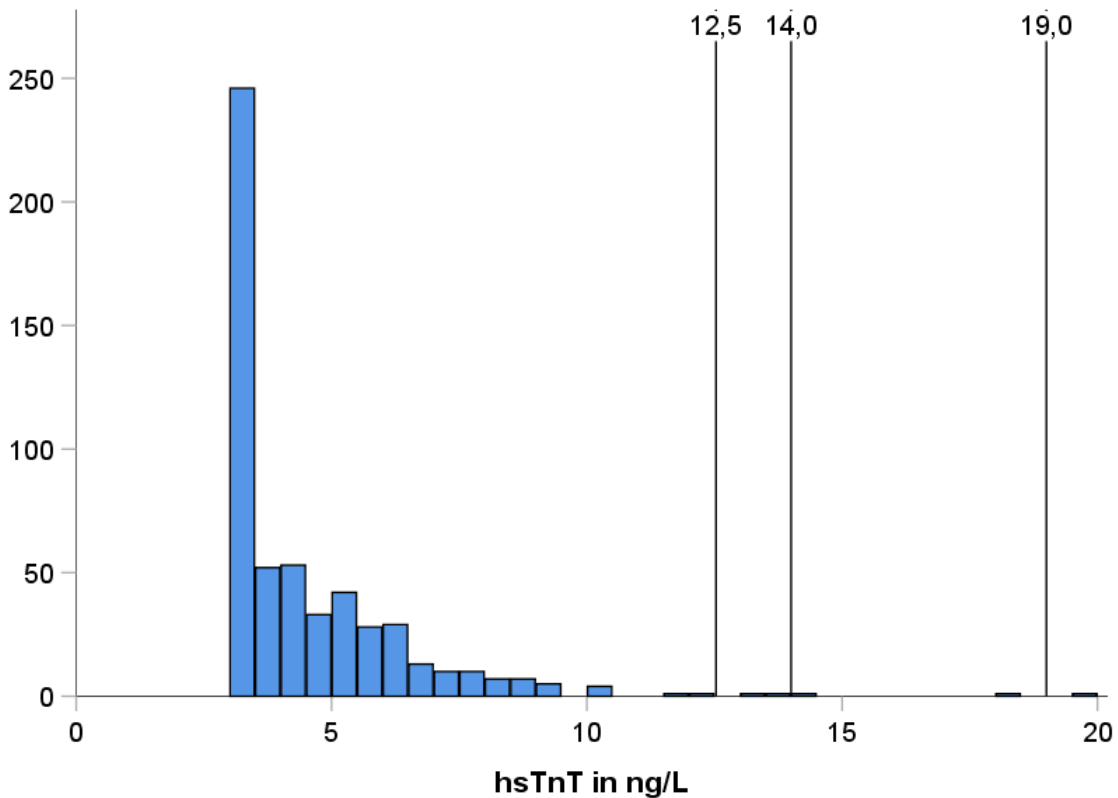


Abbildung 20: Histogramm des hsTnT mit 99. Perzentile

3.2.3 Einfluss des Geschlechts

Abbildung 21 zeigt die hsTnT-Werte unterteilt nach Männern und Frauen. Die Werte der Frauen liegen zwischen 3,00ng/L und 19,67ng/L und die der Männer zwischen 3,00ng/L und 18,00ng/L. Frauen haben geringe hsTnT-Werte (Median = 3,00ng/L) als Männer (Median = 4,84ng/L) (Mann-Whitney-U-Test: $U = 18264,5$; $p < 0,001$).

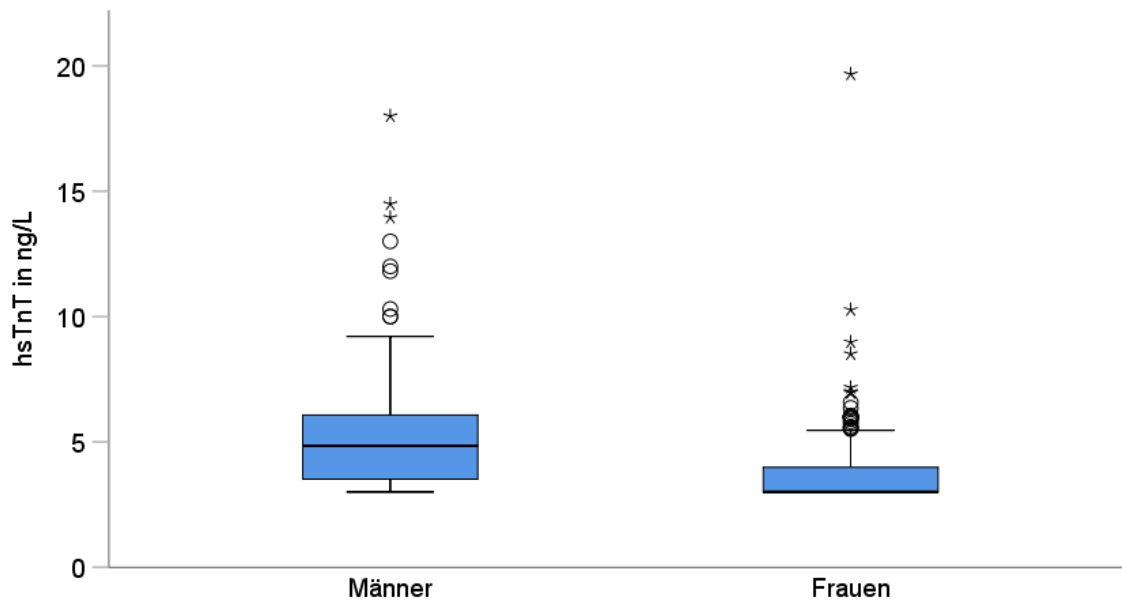


Abbildung 21: Verteilung hsTnT-Werte nach Geschlecht (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

Es haben signifikant mehr Männer hsTnT-Werte über dem LOB als Frauen ($p < 0,001$). Auch hsTnT-Werte über dem LOD kommen bei Männern häufiger vor als bei Frauen ($p < 0,001$). Die Kreuztabellen sind in Tabelle 7 dargestellt.

	hsTnT ≤ LOB	hsTnT > LOB	Gesamt		hsTnT ≤ LOD	hsTnT > LOD	Gesamt
Männer	48 (17,5%)	226 (82,5%)	274	Männer	156 (56,9%)	118 (43,1%)	274
Frauen	147 (54,0%)	125 (46,0%)	272	Frauen	241 (88,6%)	31 (11,4%)	272
Gesamt	195 (35,7%)	351 (64,3%)	546	Gesamt	397 (72,7%)	149 (27,3%)	546

Tabelle 7: Kreuztabellen für Geschlecht und Anzahl der hsTnT-Werte über LOB bzw. LOD

Die 99. Perzentile des hsTnT für Männer liegt bei 14,09ng/L und für Frauen bei 9,33ng/L. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant bei KI von 10,50-18,00ng/L für Männer und 6,96-19,67ng/L für Frauen. Diese Ergebnisse wurden in Abbildung 24 dargestellt. Die

97,5. Perzentile liegt für Männer bei 10,49ng/L (95%-KI 9,00-13,95ng/L) und für Frauen bei 6,97ng/L (95%-KI 6,00-8,98ng/L).

3.2.4 Einfluss des Alters

Die hsTnT-Werte in Bezug auf das Alter sind in Abbildung 22 dargestellt. Die Korrelation nach Spearman für das hsTnT zum Alter ist mittelstark und beträgt 0,301 ($p < 0,001$).

Das mediane Alter der Probanden mit einem hsTnT-Wert unter dem LOD liegt bei 42 Jahren, während das der Probanden mit einem Wert über dem LOD bei 48 Jahren liegt (Mann-Whitney-U-Test: $U = 22608,5$; $p < 0,001$). Bei hsTnT-Werten über dem LOB zeigt sich dies nicht ($U = 31721,0$; $p = 0,16$).

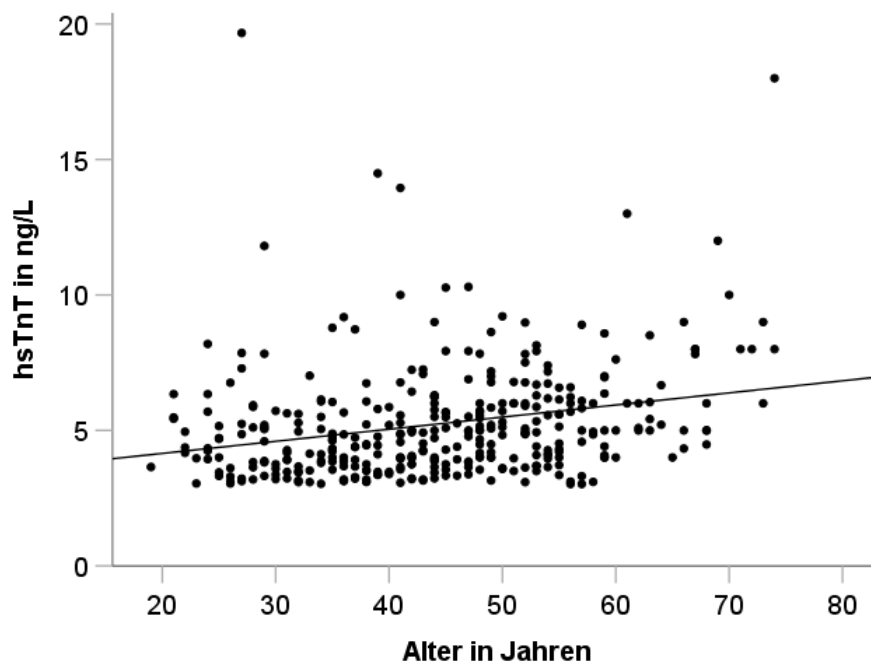


Abbildung 22: hsTnT-Werte in Abhängigkeit vom Alter (N = 546)

Die 99. Perzentile des hsTnT wurde für Probanden <45 Jahren (N = 295, medianes Alter 35 Jahre) und ≥ 45 Jahren (N = 251, medianes Alter 53 Jahre) bestimmt. Diese lag bei den Probanden <45 Jahren bei 13,97ng/L (95%-KI 9,00-19,67ng/L) und bei den Probanden ≥ 45 Jahren bei 12,48ng/L (95%-KI 9,59-18,00ng/L). Die 99. Perzentile der jüngeren Subgruppe liegt leicht über der der älteren Subgruppe. Dieser Unterschied ist nicht statistisch signifikant. Probanden <45 Jahre weisen geringe hsTnT-Werte (Median = 3,45ng/L) als Probanden ≥ 45 Jahre (Median = 4,19ng/L) auf (Mann-Whitney-U-Test: $U = 29966,0$; $p <$

0,001). Die 97,5. Perzentile lag für Probanden <45 Jahren bei 8,92ng/L (95%-KI 7,27-13,09ng/L) und für Probanden ≥45 Jahren bei 9,76ng/L (95%-KI 8,62-12,00ng/L).

Tabelle 8 zeigt die 99. Perzentile des hsTnT bei zusätzlicher Gruppierung nach Geschlecht. In Abbildung 23 ist die Verteilung der hsTnT-Werte innerhalb dieser Subgruppen dargestellt. Abbildung 24 zeigt die 99. Perzentilen und die Konfidenzintervalle für verschiedene Subpopulationen.

Alter in Jahren	Geschlecht	N	99. Perzentile des hsTnT in ng/L	95%-KI
<45	Männer	150	14,21	9,58-14,49
	Frauen	145	13,40	5,46-19,67
≥45	Männer	124	16,75	10,03-18,00
	Frauen	127	9,91	7,12-10,27

Tabelle 8: 99. Perzentile des hsTnT mit 95%-KI für Subgruppen nach Alter und Geschlecht

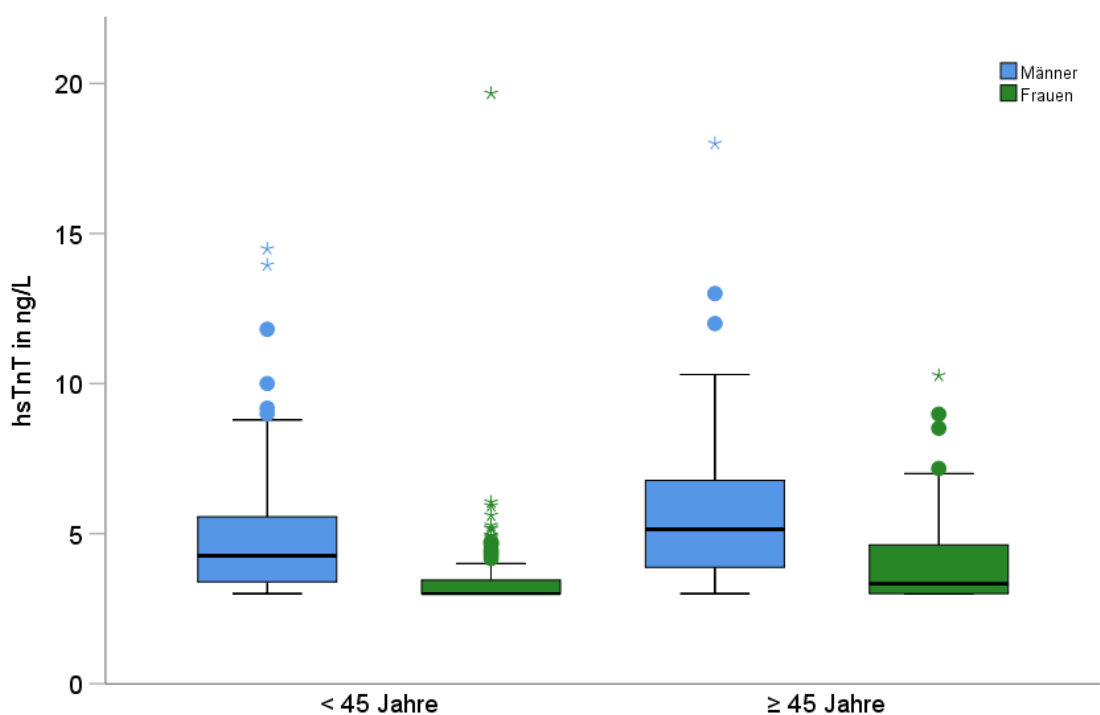


Abbildung 23: Verteilung der hsTnT-Werte innerhalb der Subgruppen nach Alter und Geschlecht (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

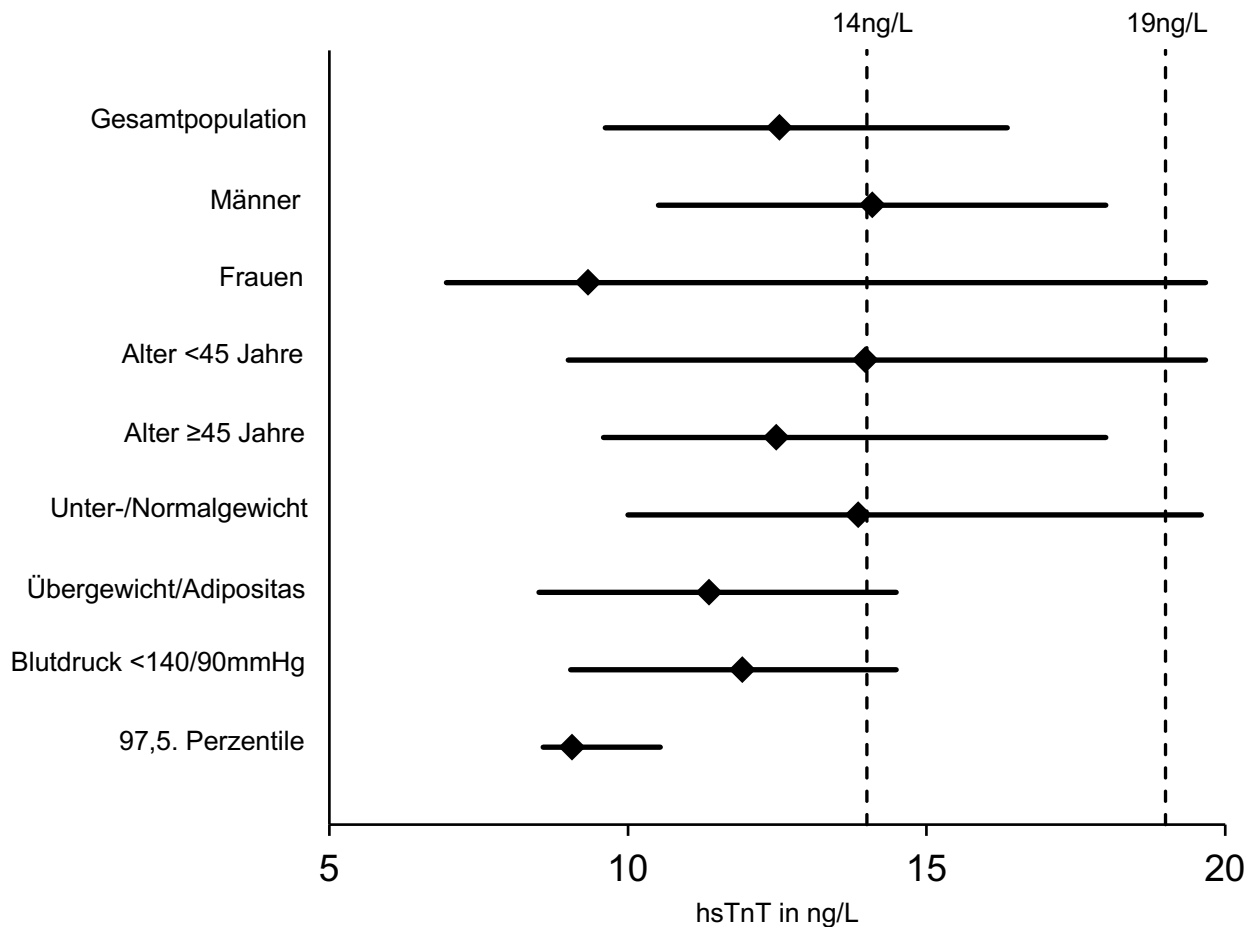


Abbildung 24: Forest Plot mit Darstellung der 99. Perzentilen des hsTnT und ihrer Konfidenzintervalle für die Gesamt- und verschiedene Subpopulationen im Verhältnis zu den offiziellen Referenzwerten von 14ng/L außerhalb der USA [77] und 19ng/L in den USA [78]

3.2.5 Einfluss anamnestischer Angaben

Für die 300 Probanden der BIC-1-Studie wurde die Raucher-, Alkohol- und Familienanamnese erhoben. Die hsTnT-Werte von Rauchern (Median = 3,40ng/L) liegen nicht über denen von Ex- (Median = 3,86ng/L) und Nichtrauchern (Median = 3,54ng/L) (Kruskal-Wallis-H = 3,3; $p = 0,19$). Die Verteilung der hsTnT-Werte nach Raucheranamnese ist in Abbildung 25 dargestellt. Der Ausschluss aller Raucher von der Bestimmung der 99. Perzentile senkt diese nicht ab (8,70ng/L vs. 9,60ng/L). Die Anzahl der alkoholischen Getränke pro Woche korreliert nicht signifikant mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,132; $p = 0,06$). Die Probanden mit einer positiven Familienanamnese (N = 24,

Median = 3,62ng/L) hatten keine höheren hsTnT-Werte als Probanden mit leerer Familienanamnese (N = 274, Median = 3,61ng/L), (Mann-Whitney-U-Test: U = 3228,5; p = 0,88).

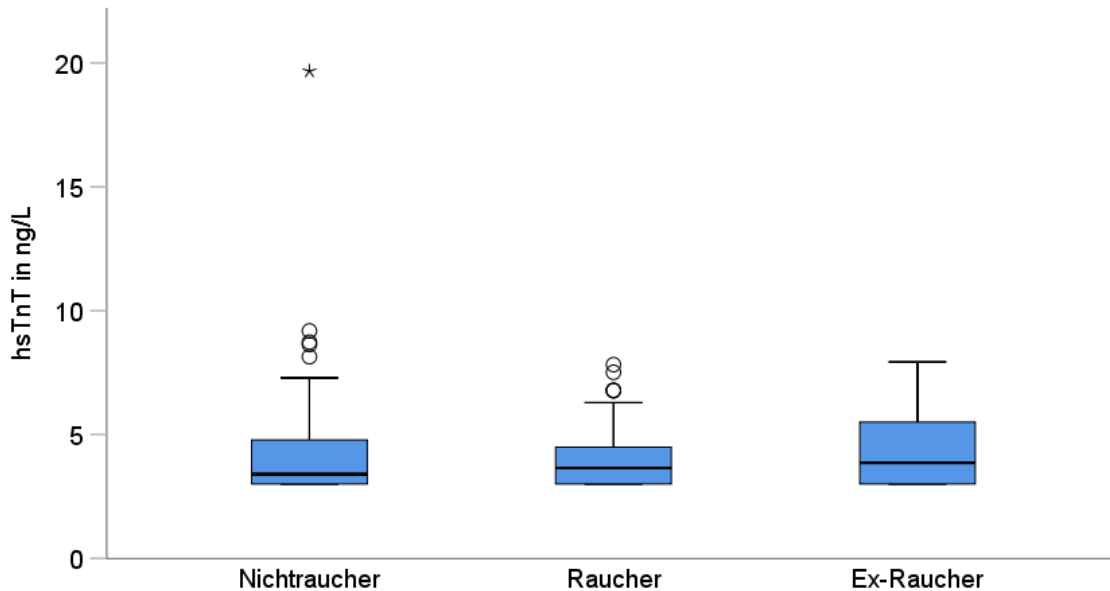


Abbildung 25: Verteilung der hsTnT-Werte nach Raucheranamnese (N = 300) (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

Für die NOKO-1-Kohorte wurde erhoben, ob regelmäßig Sport getrieben werde. Für die 5 Probanden, die Hochleistungssport treiben, liegt das hsTnT zwischen 4,25ng/L und 6,18ng/L. Der Ausschluss der Probanden, die Hochleistungssport betreiben, führt nicht zu einer Veränderung der 99. Perzentile des hsTnT (14,38ng/L 14,41ng/L). Die hsTnT-Werte von Probanden, die regelmäßig Sport treiben (N = 82, Median = 4,90ng/L), unterschieden sich nicht von den Werten der Probanden, die keinen Sport treiben (N = 37, Median = 4,96ng/L) (Mann-Whitney-U-Test: U = 1498,5; p = 0,92).

3.2.6 Einfluss der Körpermesswerte

Das hsTnT korreliert gering mit den Körpermesswerten. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman beträgt für die Größe 0,139 (p = 0,009) und für das Gewicht 0,116 (p = 0,03). Es gibt keine Korrelation zwischen dem hsTnT und dem BMI (Korrelationskoeffizient nach Spearman = 0,056; p = 0,30). Die Waist-Hip-Ratio korreliert nicht mit dem hsTnT bei einem

Korrelationskoeffizienten von 0,183 ($p = 0,22$) für Frauen und 0,160 ($p = 0,26$) für Männer. Die Abbildungen 26-28 stellt das hsTnT in Abhängigkeit der Körpermesswerte dar.

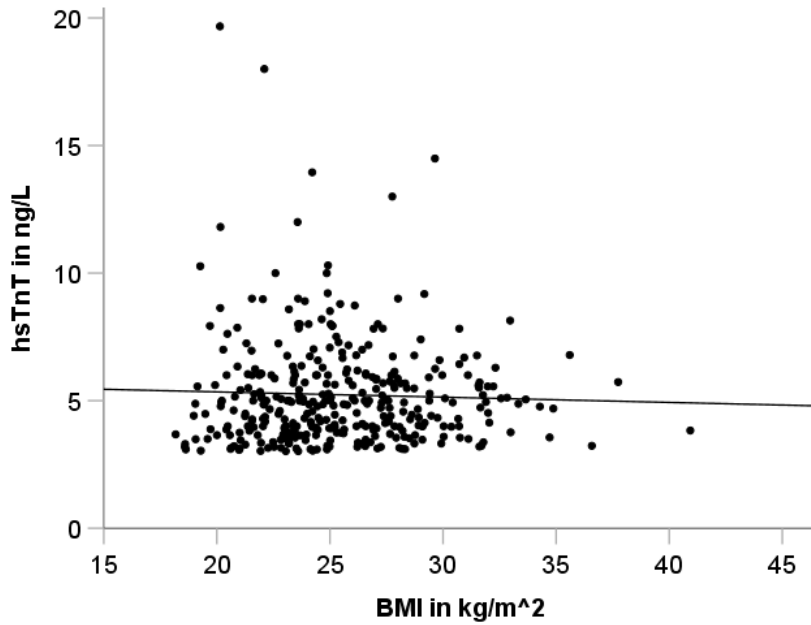


Abbildung 26: hsTnT in Abhängigkeit des BMI

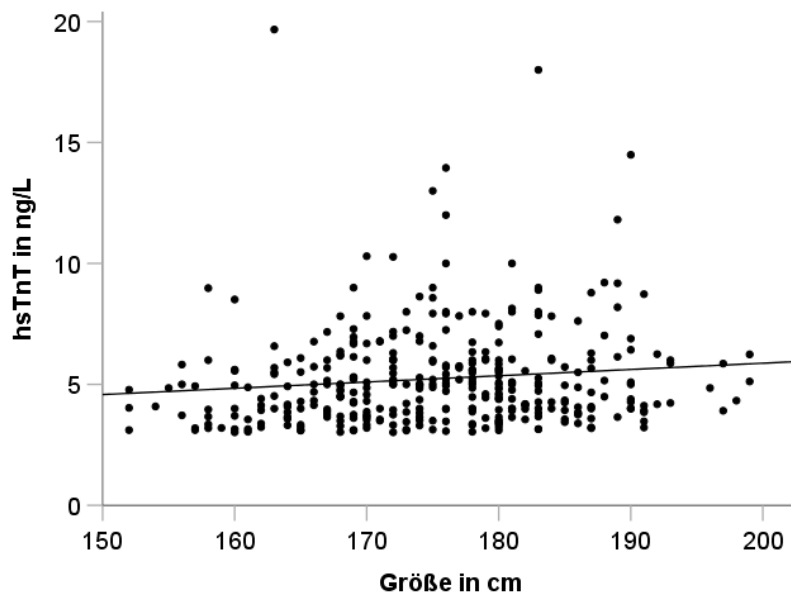


Abbildung 27: hsTnT in Abhängigkeit der Körpergröße

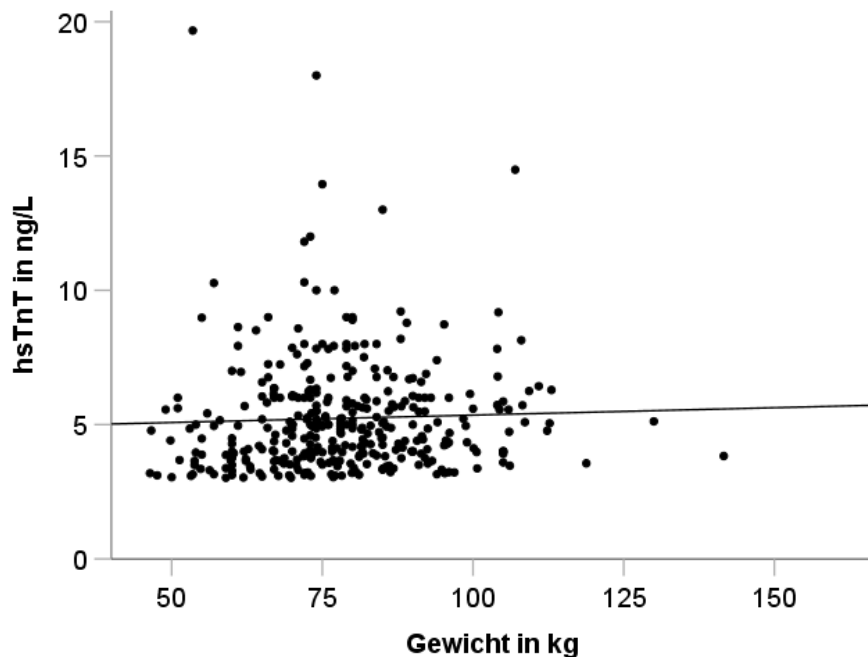


Abbildung 28: hsTnT in Abhängigkeit des Körpergewichts

Für die Probanden mit Unter- und Normalgewicht (N = 304) liegt die 99. Perzentile des hsTnT bei 13,85ng/L (95%-KI 10,00-19,60ng/L). Bei den Probanden mit Übergewicht oder Adipositas (N = 242) beträgt sie 11,35ng/L (95%-KI 8,51-14,49ng/L). Diese Unterschiede sind nicht statistisch signifikant. Die Verteilung der hsTnT-Werte nach unter-/normalgewichtigen, übergewichtigen und adipösen Probanden ist in Abbildung 29 dargestellt.

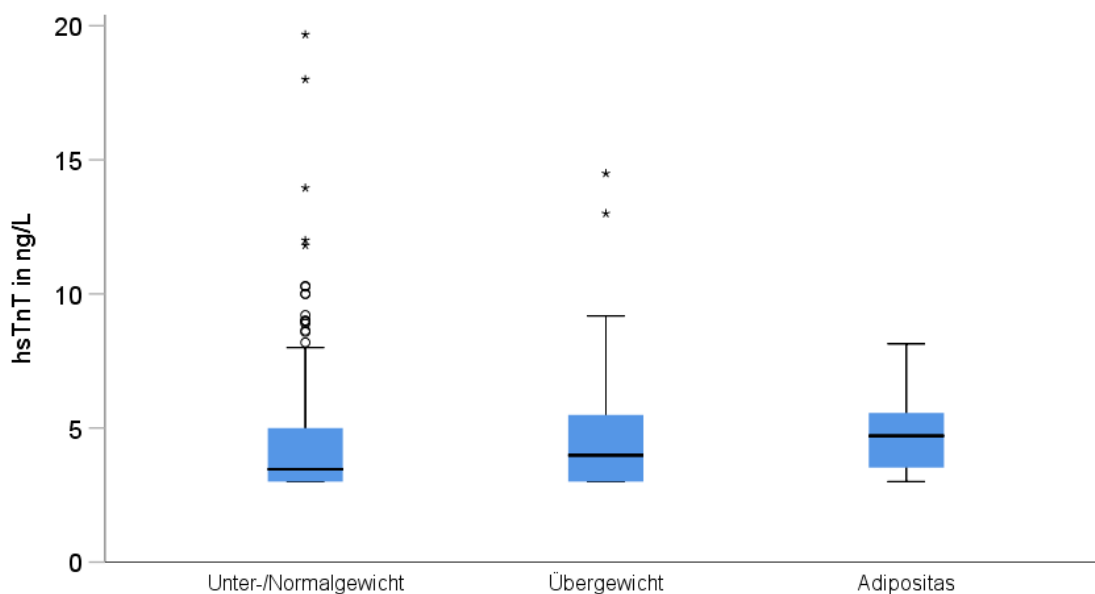


Abbildung 29: Boxplot mit Verteilung der hs-TnT-Werte nach BMI (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

Im Kruskal-Wallis-Test zeigt sich ein signifikanter Unterschied in den hsTnT-Werten zwischen den Subgruppen (Kruskal-Wallis $H = 10,5$; $p = 0,005$). Im anschließend durchgeführten Post-hoc-Test (Dunn-Bonferroni-Test) hat sich gezeigt, dass nur die hsTnT-Werte der unter-/normalgewichtigen Probanden sich signifikant von denen der adipösen unterscheiden ($z = -3,032$; $p = 0,002$). Die hsTnT-Werte der unter-/normalgewichtigen und übergewichtigen und übergewichtigen und adipösen Probanden unterscheiden sich nicht signifikant.

3.2.7 Einfluss der Vitalparameter

Die Vitalparameter korrelieren mit dem hsTnT. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman liegt für den Puls bei $-0,251$ ($p = 0,001$), für den systolischen Blutdruck bei $0,176$ ($p = 0,001$) und für den diastolischen Blutdruck bei $0,137$ ($p = 0,01$). Die Verteilung des hsTnT in Abhängigkeit zu den Vitalparametern ist in den Abbildungen 30-32 dargestellt.

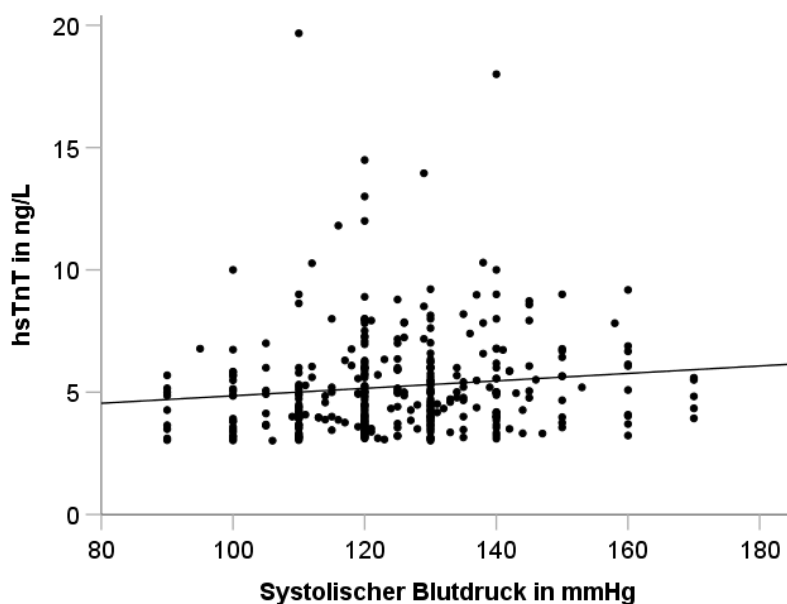


Abbildung 30: hsTnT in Abhängigkeit des systolischen Blutdrucks

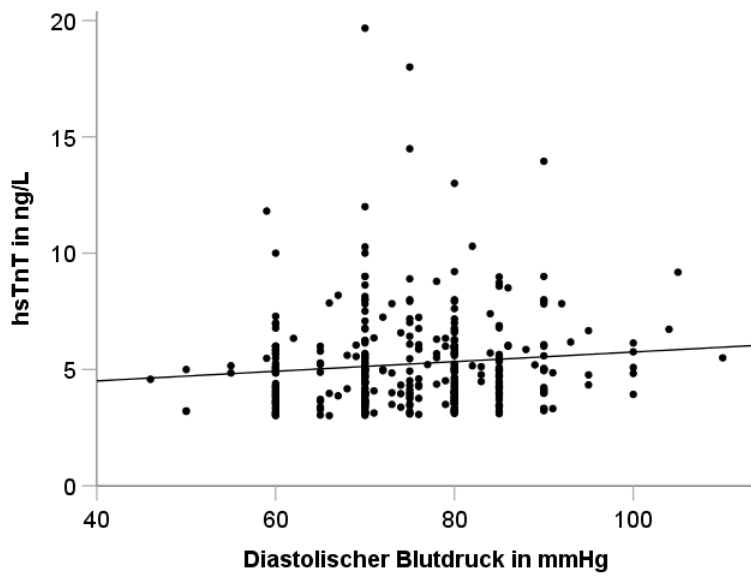


Abbildung 31: hsTnT in Abhängigkeit des diastolischen Blutdrucks

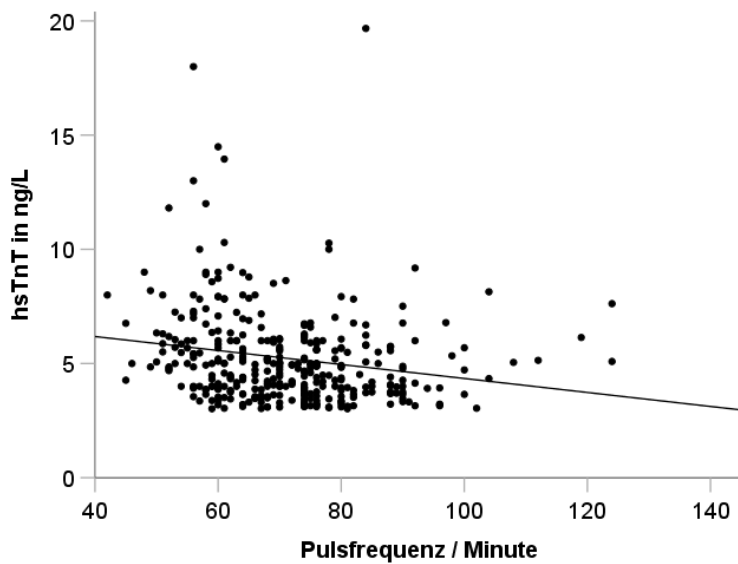


Abbildung 32: hsTnT in Abhängigkeit der Pulsfrequenz

Der Ausschluss von 98 Probanden mit einem systolischen Blutdruck ≥ 140 mmHg oder einem diastolischen Blutdruck ≥ 90 mmHg führte zu einer nicht signifikanten Absenkung der 99. Perzentile von 12,53 ng/L (95%-KI 9,62-16,35 ng/L) auf 11,91 ng/L (95%-KI 9,04-14,49 ng/L).

3.2.8 Einfluss von Laborparametern

3.2.8.1 Nierenretentionsparameter

Das Kreatinin der Probanden korreliert mittelstark mit dem hsTnT. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman liegt bei 0,318 ($p < 0,001$). Die GFR korreliert nicht signifikant mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman = -0,115; $p = 0,16$). Abbildung 33 stellt die Verteilung des hsTnT im Verhältnis zum Kreatinin und der GFR dar.

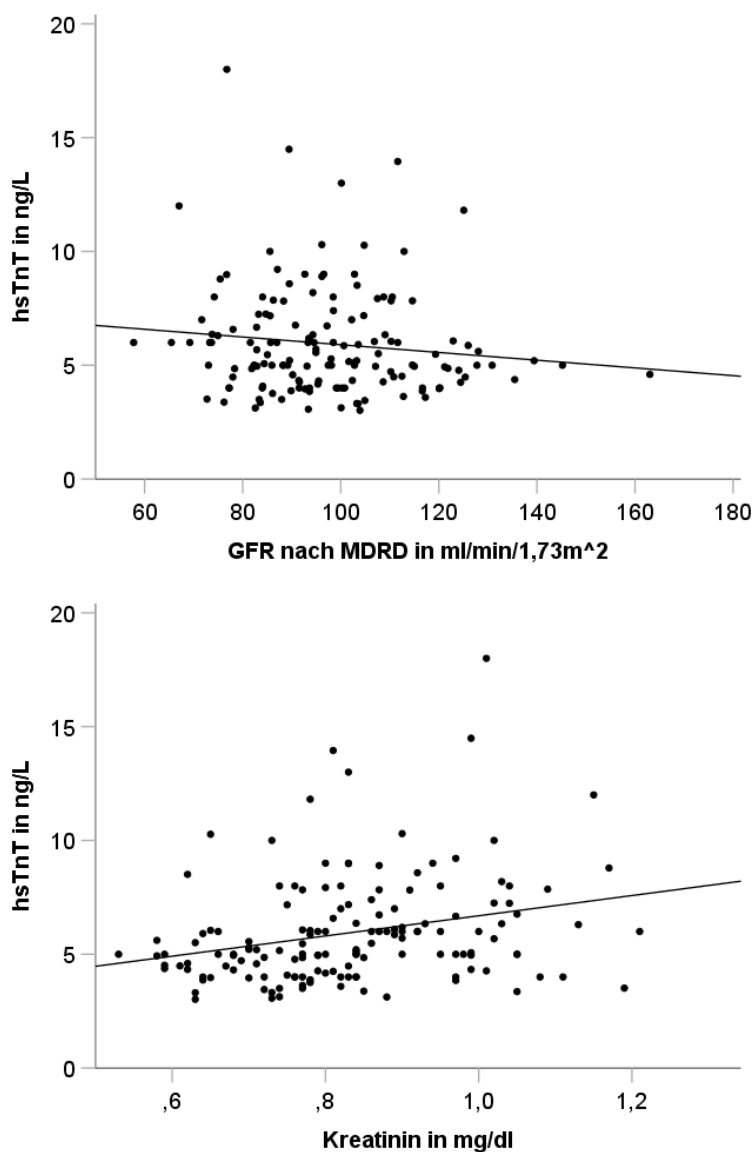


Abbildung 33: hsTnT im Verhältnis zu Kreatinin und GFR

Für 246 Probanden wurde die GFR berechnet. Die 99. Perzentile des hsTnT liegt für diese Probanden bei 14,24ng/L (KI 11,06-18,00ng/L). Werden Probanden mit einer GFR von $\leq 60\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ von der Analyse ausgeschlossen, so liegt die Perzentile bei 14,24ng/l (N = 245, KI 11,05-18,00ng/L). Werden darüber hinaus auch Probanden mit einer GFR $\leq 90\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ausgeschlossen, so liegt die 99. Perzentile bei 13,50ng/L (N = 146, KI 10,28-13,95ng/L). Die 99. Perzentile des hsTnT sinkt folglich nicht statistisch signifikant.

3.2.8.2 NT-proBNP

Das hsTnT und das NT-proBNP korrelieren nicht miteinander (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,108; $p = 0,19$). Tabelle 9 zeigt, dass die 99. Perzentile des hsTnT absinkt, wenn Probanden mit einem NT-proBNP über einem bestimmten Cutoff von der Berechnung ausgeschlossen werden. Diese Ergebnisse sind nicht statistisch signifikant.

NT-proBNP in ng/L	N	99. Perzentile hsTnT in ng/L	95%-KI
alle	245	14,24	11,06-18,00
≤ 250	243	14,25	11,16-18,00
≤ 125	230	13,66	10,29-14,49
≤ 100	208	13,86	9,21-14,49

Tabelle 9: Veränderung der 99. Perzentile des hsTnT bei Anwendung strengerer Cutoffs des NT-proBNP

3.2.8.3 Glucose und HbA1c

Der HbA1c korreliert nicht mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,153; $p = 0,31$). Auch die Nüchtern-Glucose und der Glucose-Wert 2 Stunden nach dem oGTT korrelieren nicht mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,116 ($p = 0,16$) bzw. 0,035 ($p = 0,67$)).

Die 99. Perzentile des hsTnT aller Probanden, für die der HbA1c bestimmt wurde, liegt bei 16,75ng/l (N = 124, 95%-KI 10,00-18,00ng/l). Bei diesen Probanden liegt der HbA1c $<6,5\%$. Die 99. Perzentile aller Probanden mit einem HbA1c $<5,7\%$ lässt sich aufgrund der zu geringen Fallzahl nicht berechnen. Die Nüchtern-Glucose wurde für alle Probanden der NOKO-1 und -2 bestimmt. Deren 99. Perzentile für das hsTnT liegt bei 14,24ng/L (N = 246,

95%-KI 11,05-18,00ng/L). Nach Ausschluss von eines Probandens mit einem Nüchtern-Glucose von ≥ 126 mg/dl sinkt die 99. Perzentile nicht ab (14,24ng/L, 95%-KI 11,00-18,00ng/L). Auch der Ausschluss von 134 Probanden mit einer Nüchtern-Glucose ≥ 90 mg/dl senkt die 99. Perzentile nicht signifikant ab (13,95ng/L, 95%-KI 9,82-14,49ng/L).

3.2.8.4 Blutfette

Die TAG korrelieren mit einem Korrelationskoeffizienten nach Spearman von 0,204 mit dem hsTnT ($p = 0,01$). Auch das LDL korreliert mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,209; $p = 0,1$). Die Verteilung der TAG- und LDL-Werte im Zusammenhang mit dem hsTnT sind in Abbildung 34 dargestellt. Das TC und das HDL hingegen korrelieren nicht signifikant mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient für TC 0,114 ($p = 0,16$), für HDL - 0,147 ($p = 0,8$)).

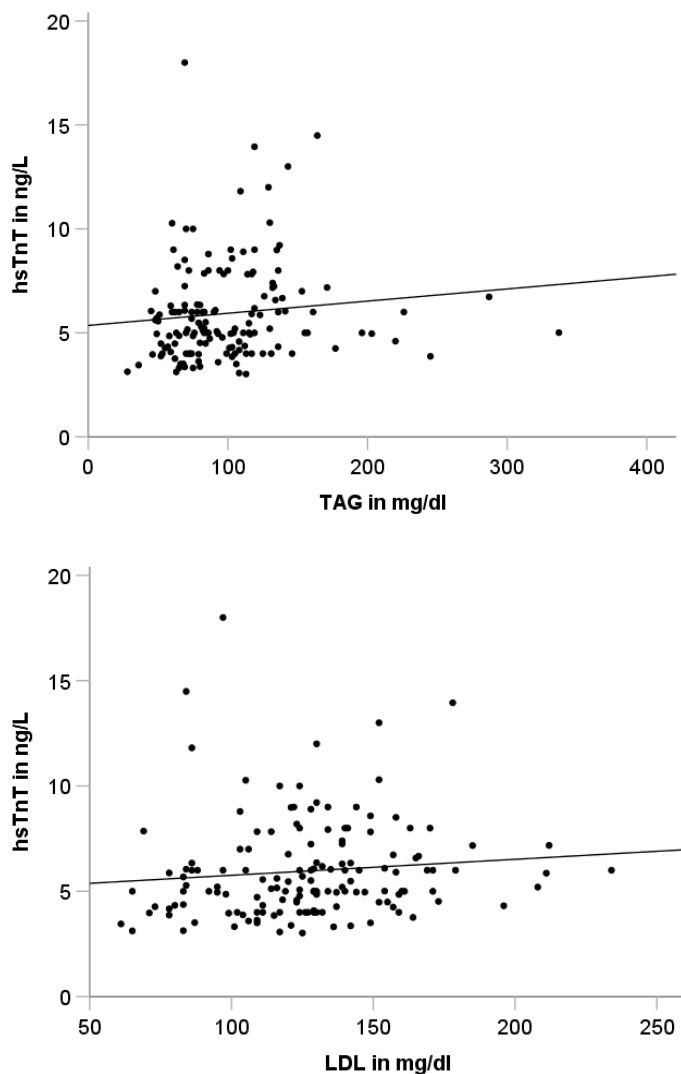


Abbildung 34: hsTnT im Verhältnis zu TAG und LDL

Von den 246 Probanden, für die die Blutfettwerte erhoben wurden, haben 183 (74,4%) Probanden eine Dyslipidämie (TAG \geq 150mg/dl, TC \geq 190mg/dl, HDL \leq 40mg/dl, LDL \geq 115mg/dl). Die 99. Perzentile des hsTnT für alle Probanden ohne Dyslipidämie kann aufgrund der geringen Fallzahl nicht berechnet werden.

3.2.8.5 Weitere Laborparameter

In Tabelle 10 zeigt die Korrelation des hsTnT zu weiteren Laborparametern

	Korrelation nach Spearman	p-Wert
Kalium	0,072	0,38
Natrium	0,221	0,007*
CK	0,286	< 0,001*
GOT	0,153	0,06
GPT	0,080	0,33
Gesamtbilirubin	0,225	0,006*
Harnsäure	0,219	0,007*
Gesamtprotein	0,076	0,356
Erythrozyten	0,217	0,008*
Hämoglobin	0,188	0,02*
Hämatokrit	0,259	0,001*
MCV	0,059	0,47
MCH	-0,048	0,56
MCHC	-0,175	0,03*
RDW	0,016	0,84
Hypochrome Erythrozyten	0,114	0,26
Leukozyten	-0,048	0,56
Thrombozyten	-0,157	0,06
MPO	0,051	0,47
PLGF	0,101	0,15
sFLT	0,252	< 0,001*
GDF15	0,089	0,21

Tabelle 10: Korrelation zwischen verschiedenen Laborparametern und hsTnT (signifikante Werte mit * markiert)

3.2.8.6 Hochsensitives Troponin I

Das hsTnI korreliert stark mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,417 ($p < 0,001$)). Dies ist in Abbildung 35 dargestellt.

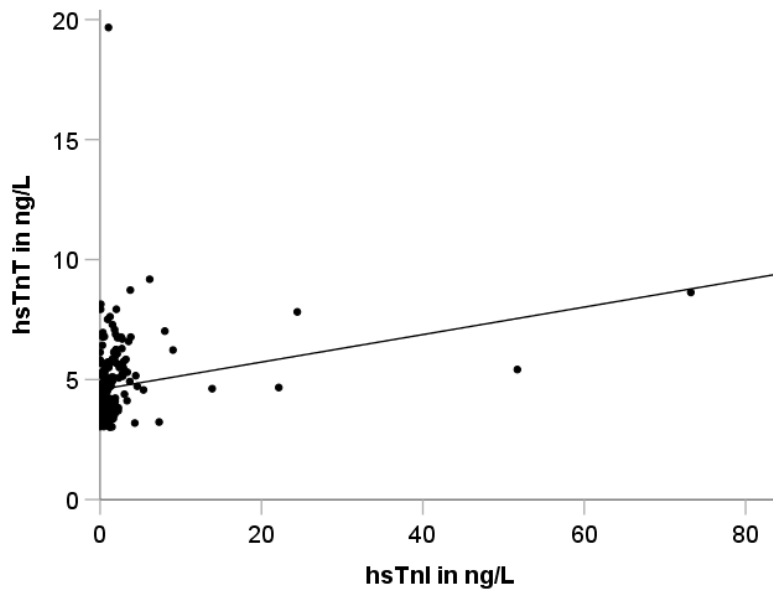


Abbildung 35: hsTnI in Abhängigkeit zum hsTnT

3.2.9 Einfluss von Ergebnissen apparativer Untersuchungen

Die QRS-Zeit, PQ-Zeit und die EF korrelieren nicht signifikant mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient nach Spearman: QRS-Zeit: -0,062; $p = 0,46$, PQ-Zeit: 0,051; $p = 0,54$, LVEF: -0,185; $p = 0,11$).

In Abbildung 36 sind die hsTnT-Werte in Abhängigkeit vom Lagetyp dargestellt. Im Kruskal-Wallis-Test unterscheiden sie sich nicht signifikant in ihren Rängen (Kruskal-Wallis H: 6,515; $p = 0,09$).

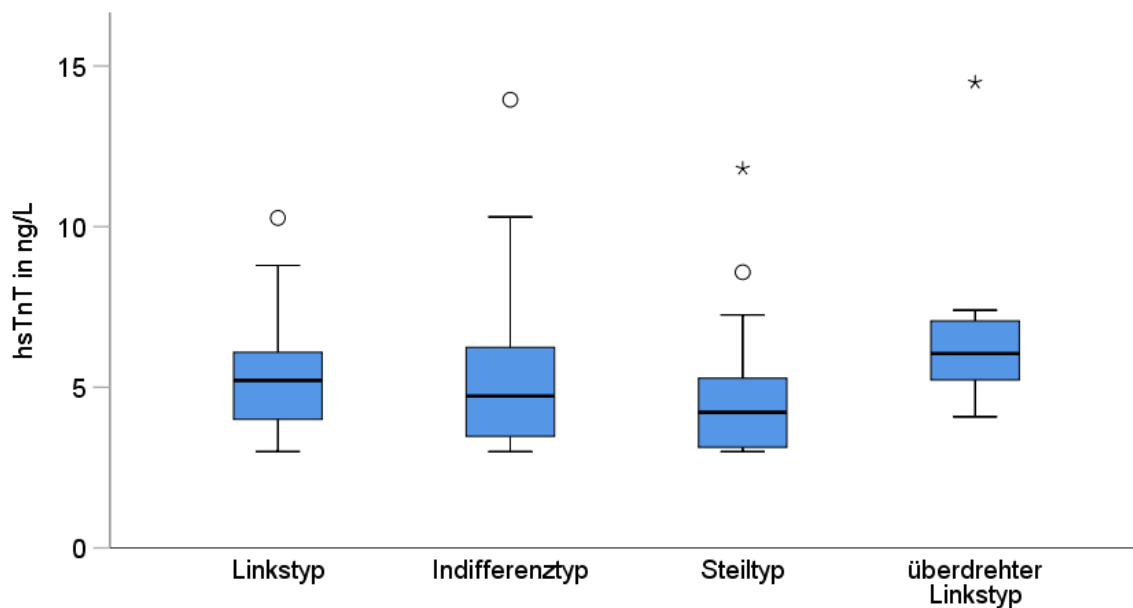


Abbildung 36: hsTnT in Abhängigkeit vom Lagetyp (N = 118) (Legende: ° 1,5-3x IQR ab 3. Quartile; * >3x IQR ab 3. Quartile)

3.4 Charakteristika des von der Datenanalyse ausgeschlossenen Probanden

Ein Proband mit einem hsTnT von 31,72ng/l wurde nach der Modifikation des Dixon-Q-Tests von Reed et al. [103] von der Datenanalyse ausgenommen. Der Proband der NOKO-1 ist männlich und 57 Jahre alt. Er ist 175cm groß und wiegt 72kg (BMI 23,51kg/m²). Der Blutdruck liegt bei 135/90mmHg und der Puls bei 59/min. Er gab an, regelmäßig Sport aber keinen Hochleistungssport zu treiben. Im Labor finden sich folgende Ergebnisse: NT-proBNP 50ng/L, Kreatinin 0,64mg/dl, GFR nach MDRD 137ml/min/173m², Nüchtern-Glucose 84mg/dl, Glucose 2h nach oGTT 103mg/dl, Natrium 141mmol/L, Kalium 3,83mmol/L, CK 88U/L, AST 21U/L, ALT 28U/L, Gesamtbilirubin 0,9mg/dl, Harnsäure 5,2mg/dl, TAG 57mg/dl, Gesamt-Cholesterol 235mg/dl, HDL 87mg/dl, LDL 137mg/dl, Gesamtprotein 78,3g/L, Erythrozyten 4,7/pl, Hb 15g/dl, Hämatokrit 0,42L/L, MCV 90fl, MCH 32pg, MCHC 36g/dl, RDW 12,9%, hypochrome Erythrozyten 0%, Leukozyten 6,4/nl, Thrombozyten 236/nl. Im EKG zeigt sich ein Sinusrhythmus, Steiltyp, PQ-Zeit 182ms, QRS-Zeit 92ms ohne Rechtsschenkelblock. Die LVEF liegt bei 59%.

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung und Bewertung

An der gesunden Referenzpopulation von 547 Probanden konnten folgende Hauptaussagen über das hsTnT getroffen werden:

1. Die 99. Perzentile für diese gesunde Referenzpopulation liegt bei 13ng/L (95%-KI 10-16ng/L). Sie bestätigt den außerhalb der USA genutzten Referenzwert des Herstellers von 14ng/L [77] aber nicht den der FDA von 19ng/L [78].
2. Frauen haben niedrigere Werte als Männer. Die 99. Perzentile für Frauen liegt bei 9ng/L (95%-KI 7-20ng/L) und für Männer bei 14ng/L (11-18ng/L). Bei sich überschneidenden KI ist der Unterschied nicht signifikant.
3. Das Alter korreliert mittelstark mit dem hsTnT mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,30. Die 99. Perzentile unterscheidet sich nicht zwischen zwei Alterssubpopulationen: Sie liegt für Probanden <45 Jahren bei 14ng/L (95%-KI 9-20ng/L) und für Probanden ≥45 Jahre bei 12ng/L (95%-KI 10-18ng/L).
4. Das Kreatinin korreliert mittelstark mit dem hsTnT (Korrelationskoeffizient 0,32). Alle weiteren untersuchten Parameter korrelieren gering oder nicht mit dem hsTnT. Durch die Anwendung strengerer Auswahlkriterien senkt sich die 99. Perzentile der gesunden Population nicht signifikant ab.
5. 27,3% der Probanden haben Werte über dem LOD von 5ng/L und 64,3% über dem LOB von 3ng/L. 43,1% der Männer und 11,4% der Frauen liegen über dem LOD.
6. Anforderungen an ein „hochsensitives cTn-Assay“ sind ein CV von ≤10% an der 99. Perzentile sowie messbare hsTn-Werte über dem LOD bei je ≥50% der gesunden männlichen und weiblichen Probanden [19,60,68]. Die 99. Perzentile von 9ng/L für Frauen liegt unterhalb des hsTnT-Werts mit einem CV von 10% und nur 27,3% der Probanden weisen messbare hsTnT-Werten über dem LOD auf. Das in dieser Studie verwendete hsTnT-Assay erfüllt daher die Vorgaben eines hsTn-Assays formal nicht. Mittlerweile ist eine verbesserte Version mit einem LOD von 3ng/L im Einsatz, die diese Einschränkung nicht mehr aufweist.

4.2. Vergleichbarkeit der Population und des Vorgehens

4.2.1 Auswahlkriterien für die Referenzpopulation

Die gesunde Referenzpopulation dieser Arbeit besteht aus 547 Probanden und erfüllt damit die Empfehlung, 300 Probanden in die Bestimmung der 99. Perzentile und des Konfidenzintervalls für cTn einzubeziehen [19,68]. Sie setzt sich aus drei Subkohorten zusammen. Bei den Probanden der BIC-1-Studie wurden die Ein- und Ausschlusskriterien mittels Screeningbogen überprüft. Eingeschlossen wurden volljährige Charité-Mitarbeiter ohne bekannte kardiale, nephrologische oder endokrinologische Vorerkrankungen. Für die Probanden des Normalkollektivs des Universitätsklinikums Heidelberg galten strengere Ausschlusskriterien: Probanden mit bekannten kardiovaskulären, nephrologischen, endokrinologischen, hepatologischen und aktiven onkologischen Erkrankungen sowie Probanden mit regelmäßiger Medikamenteneinnahme und Nikotinabusus wurden von der Studie ausgenommen. Laborchemisch wurden die Nierenfunktion (GFR) und das Vorliegen von Anämie (Hb), Herzinsuffizienz (NT-proBNP) und Diabetes mellitus (Nüchtern-Glucose, HbA1c) evaluiert. Zusätzlich erfolgte die Erhebung eines EKG-Befundes und bei einigen Probanden die Durchführung einer Echokardiographie oder MRT.

Diese Unterschiede zwischen den Kohorten spiegeln die unterschiedlichen Auswahlkriterien für gesunde Referenzpopulationen zur Bestimmung der 99. Perzentile von cTn in der Literatur wider. Während einige Autoren lediglich Fragebögen einsetzten [62,82,92,94,97], führten andere umfangreiche laborchemische und bildgebende Untersuchungen zur Identifizierung einzelner subklinisch erkrankter Probanden durch [84,85,89,91,93,95,101]. Einzelne Autoren beschrieben die Auswahlkriterien ihrer Referenzpopulation nicht [5,94,98]. Nach den aktuellen Empfehlungen für die Auswahl einer Referenzpopulation nach AACC und IFCC soll eine umfangreiche Diagnostik inklusive anamnestischer (Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme), laborchemischer (BNP/NT-proBNP, GFR, HbA1c) und bildgebender Methoden zur Identifizierung subklinischer Erkrankungen erfolgen [68]. Diese Empfehlungen basieren auf Studien, die gezeigt haben, dass sich mit zusätzlichen diagnostischen Maßnahmen subklinisch Erkrankte identifizieren und die 99. Perzentile für das hsTn absenken ließen [83,89,91,93,95,100,104]. Collinson et al. stellten eine Absenkung von 20,0ng/L auf 14,4ng/L durch die Hinzunahme von Vital-, Laborparametern, Lungenfunktionsuntersuchung und Bildgebung zu einem Screeningbogen fest [89]. Koerbin

et al. konnten einen Abfall der 99. Perzentile für das hsTnT von 42,2ng/L bei scheinbar gesunden Probanden auf 19,6ng/L durch die Anwendung von Fragebogen, Laborparametern und Echokardiographie feststellen [91]. Giannitsis et al. hingegen konnten nur eine minimale Absenkung der 99. Perzentile für hsTnT von 16,8ng/L auf 16,1ng/L durch strengere Auswahlkriterien mit Hinzunahme der Ergebnisse von EKG, laborchemischen Markern und Bildgebung zum Fragebogen nachweisen [84]. Passend hierzu wurden in Referenzwertstudien immer ähnlich niedrige wie die nach umfangreicher Diagnostik bestimmten Referenzwerte von 12,2-19ng/l erhoben, wenn lediglich ein Fragebogen zur Identifizierung kranker Individuen genutzt wurde [5,62,82,92,94,97,98]. Die Kriterien zur Auswahl der gesunden Referenzpopulation sind noch nicht abschließend geklärt.

4.2.2 Geschlecht

Die Geschlechter der Referenzpopulation dieser Arbeit sind nahezu gleichverteilt mit 49,8% Frauen. Bei der Rekrutierung der BIC-1-Studie wurde auf eine Gleichverteilung der Geschlechter geachtet, sodass hier genau 50% Frauen aufgenommen wurden. Insgesamt wurden 274 Männer und 272 Frauen in die Datenauswertung eingeschlossen. Damit konnte die Empfehlung, je 300 männliche und 300 weibliche Probanden für die Berechnung geschlechtsspezifischer 99. Perzentilen in die Referenzpopulation aufzunehmen, nicht erfüllt werden [19,68]. Dennoch ist die Gleichverteilung der Geschlechter positiv hervorzuheben, da Frauen niedrigere hsTn-Werte aufweisen als Männer [68,102,105] und sich eine ungleiche Geschlechterverteilung daher auf die 99. Perzentile der Gesamtpopulation auswirken kann. Bei einem Drittel der Studien zur 99. Perzentile des hsTnT finden sich Unterschiede von >10% für die Geschlechterverteilung in der Referenzpopulation [85,88,89,93,94,97,98]. Der niedrigste Anteil an Frauen fand sich in der Studie von Ungerer et al. [98] und der höchste Anteil in der Studie von Hammarsten et al. [90]. Die Geschlechterverteilung in den einzelnen Referenzwertstudien zum hsTnT ist in Tabelle 1 dargestellt.

4.2.3 Alter

Das mediane Alter dieser Referenzpopulation liegt bei 44 Jahren mit einer breiten Spanne von 19-74 Jahren und erfüllt so die Empfehlung von AACC und IFCC, Probanden allen

Alters in Studien zur Referenzwertbestimmung der cTn aufzunehmen [68]. Das mediane Alter anderer Studienpopulationen zur Referenzwertbestimmung des hsTnT lag zwischen 35 und 72 Jahren [93,97]. Die Diskussion zum Alter und zur Altersverteilung der Referenzpopulation ist noch nicht abgeschlossen. Apple et al. haben empfohlen, zwei Gruppen von Probanden <30 Jahren und ≥30 Jahren einzuschließen, wobei das mediane Alter der zweiten Gruppe bei 60-65 Jahren liegen sollte [67,106]. Die Probanden dieser Referenzpopulation wurden in zwei ähnlich große Gruppen <45 und ≥45 Jahren mit einem medianen Alter von 35 und 53 Jahren aufgeteilt und evaluiert.

4.2.4 Präanalytische und analytische Faktoren

Das hsTnT wurde in allen drei Kohorten dieser Referenzpopulation aus Lithium-Heparin-Plasma bestimmt. Laut Hersteller kann das hsTnT in Heparin-Plasma, EDTA und Serum bestimmt werden, wobei Serum- und Plasmaproben nicht austauschbar sind [77]. Im Gegensatz zu den „contemporary“ cTnT-Assays, bei denen in Lithium-Heparin-Proben niedrigere Werte als in Serum-Proben gemessen wurden [64], konnten Giannitsis et al. für das hsTnT-Assay gute Korrelationen für Werte aus Serum und Lithium-Heparin und Serum und EDTA zeigen [5]. Auch Michel et al. konnten keine Unterschiede zwischen der Messung von hsTnT aus Lithium-Heparin zu Serum feststellen [107]. Fitzgerald et al. fanden nur geringe Unterschiede zwischen Lithium-Heparin- und Serumproben [83]. In acht Studien zur Referenzwertbestimmung des hsTnT wurde Serum und in sechs Plasma als Messmedium verwendet. Für vier Studien wurden mindestens zwei Messmedien verwendet und für vier Studien wurde das Messmedium nicht angegeben. Eine Übersicht über die Messmedien der verschiedenen Studien ist in Tabelle 11 dargestellt.

Die Proben des Normalkollektivs des Universitätsklinikums Heidelberg wurden direkt auf dem Gerät cobas e 411 gemessen. Dieses Gerät wurde auch in sechs weiteren Referenzwertstudien verwendet [5,82,83,87,91,95]. Die Proben der Probanden der BIC-1-Studie wurden auf dem Gerät cobas e 801 gemessen, welches bisher in keiner weiteren Referenzwertstudie verwendet wurde. Eine Übersicht über die in den Studien verwendeten Geräte ist in Tabelle 11 zu finden. Saenger et al. konnten keine Unterschiede zwischen den hsTnT-Werten bei Verwendung von E170, Elecsys 2010, cobas e 601 und cobas e 411 feststellen [82]. Giannitsis et al. haben die 99. Perzentile ihrer Population mit dem cobas e 411 und e 601 erhoben und erhielten leicht höhere Werte für das cobas e 601 [84]. Fitzgerald et al. konnten geringe, nicht statistisch signifikante Unterschiede in der 99.

Perzentile zwischen dem cobas e 411 und e 601 und der Assay-Version von 18 Minuten und der STAT-Version feststellen [83]. Für die größeren Geräte (cobas e 601, E170) und für die 18-Minuten-Version konnte eine höhere Präzision als für die kleineren Geräte (cobas e411 und Elecsys 2010) und die STAT-Version nachgewiesen werden [82,108].

Die Proben der BIC-1-Studie wurden nach der Entnahme zunächst für höchstens eine Woche bei -20°C und anschließend bei -70°C aufbewahrt und erst sieben Jahre später gemessen. In 17 weiteren Studien wurden die Proben vor der Messung bei meist -70°C bis -80°C eingefroren. Eine Übersicht ist in Tabelle 11 dargestellt. Gillis et al. konnten zeigen, dass der Transport und das Einfrieren keinen Einfluss auf die Messwerte von hsTnT haben [109].

	Einfrieren	Messmedium	Messgerät
Mingels et al. [86]	-80°C	Serum	Elecsys 2010
Giannitsis et al. [5]	Keine Angabe	Serum, Plasma	Elecsys 2010, cobas e 411, cobas e 601
Koerbin et al. [87]	-80°C	Serum	cobas e 411
Saenger et al. [82]	Keine Angabe	Keine Angabe	Elecsys 2010, cobas e 601, cobas e 411
Chenevier-Gobeaux et al. [88]	-40°C	Lithium-Heparin	cobas e 601
Collinson et al. [89]	-70°C	Keine Angabe	Elecsys 2010
Hammarsten et al. [90]	Keine Angabe	Keine Angabe	E170
Apple et al. [62]	-70°C	Lithium-Heparin	cobas e 601
Koerbin et al. [91]	-80°C	Serum	cobas e 411
Fan et al. [92]	-80°C	Serum	Elecsys 2010
Gore et al. [93]	-70°C	Keine Angabe	Elecsys 2010
Gaggin et al. [94]	-80°C	EDTA, Serum	keine Angabe
Franzini et al. [95]	-80°C	Lithium-Heparin	cobas e 411
Kimenai et al. [96]	-80°C	Serum	cobas e 601
Mueller et al. [97]	-80°C	EDTA	E170
Ungerer et al. [98]	-80°C	Serum	cobas e 601
Ko et al. [99]	-70°C	Lithium-Heparin	E170
Gunsolus et al. [100]	-70°C	Lithium-Heparin	cobas e 602
Aw et al. [101]	-70°C	Serum	cobas e 602
Zhang et al. [85]	Kein Einfrieren	Serum	E170
Giannitsis et al. [84]	-80°C	Serum, Plasma	cobas e 602
Fitzgerald et al. [83]	-80°C	Serum, Lithium-Heparin	cobas e 411, cobas e 601

Tabelle 11: Präanalytische und analytische Charakteristika in Referenzwertstudien

4.2.5 Statistische Analyse

Die Auswahl der statistischen Methoden hat einen großen Einfluss auf die 99. Perzentile von hsTn [80,81]. Für die Berechnung der 99. Perzentile des hsTnT dieser gesunden Referenzpopulation wurde wie von AACC und IFCC empfohlen die einseitige, nicht-parametrische Methode verwendet [19,68]. Diese Methode wurde auch in 16 weiteren Studien zur Referenzwertbestimmung des hsTnT angewendet [62,82–87,89–92,95–98,100,101]. Für sechs Studien wurde die statistische Methode nicht angegeben [5,88,93,94,99]. Mögliche Methoden neben der nicht-parametrischen sind der Harrell-Davis-Schätzer mit ähnlichen Ergebnissen bei höherem Rechenaufwand und robuste Schätzverfahren, die eher für symmetrisch verteilte Daten geeignet sind [67,80,81]. Für die 99. Perzentile wurden in dieser Arbeit wie in den Studien von Hammarsten et al. [90], Gore et al. [93], Franzini et al. [95], Kimenai et al. [96], Gunsolus et al. [100] und Fitzgerald et al. [83] die 95%-KI berechnet. In anderen Studien wurden stattdessen die 90%-KI berechnet [62,84,85,98,101]. Für zehn Studien erfolgte keine Erhebung von KI [5,82,86–88,91,92,94,97,99].

Die Auswahl der Methode zur Outlier-Detektion wirkt sich besonders stark auf hsTn aus: Hickman et al. konnten je nach Methode Unterschiede in der 99. Perzentile von über 200% für hsTnT und über 300% für hsTnI feststellen [80]. Sie empfehlen die Anwendung der nicht-parametrischen Methode nach Dixon und Reed. Parametrische Methoden oder die Methode nach Tukey eignen sich hingegen nicht, da sie bei nicht normalverteilten Werten wie den hsTn zu viele Probanden identifizieren [80,81]. In dieser Arbeit wurde die Methode nach Reed et al. verwendet, mit der ein Proband der NOKO-1 identifiziert wurde. Dabei handelt es sich um eine Modifikation des Dixon-Q-Tests [103]. Sie wurde auch in den Studien von Apple et al. [62], Chenevier et al. [88], Kimenai et al. [96], Gunsolus et al. [100], Zhang et al. [85] und Giannitsis et al. [84] verwendet. Mingels et al. [86] und Franzini et al. [95] nutzten parametrische Methoden zur Identifizierung von Outliern (Mittelwert + 2 oder 3 Standardabweichungen). Die Methode nach Tukey wurde von Ko et al. [99], Franzini et al. [95], Kimenai et al. [96] und Giannitsis et al. [84] angewandt. Mueller et al. [97], Aw et al. [101] und Fitzgerald et al. [83] identifizierten keine Outlier, um sie von der Analyse auszuschließen. In elf Studien finden sich keine Angaben zur Outlier-Identifikation [5,82,87,89–94,98]. Die heterogene Auswahl der Methode zur Identifizierung von Outliern kann zur hohen Variabilität der in Studien erhobenen Referenzwerte des hsTnT beitragen. Diese Annahme wird durch verschiedene Studien gestützt, die verschiedene Methoden

angewandt haben und unterschiedliche 99. Perzentilen für dieselbe Population erhielten [80,84,95,96].

Die 97,5. Perzentile wird weniger stark von einzelnen hohen Werten beeinflusst als die 99. Perzentile. Sie wird als Referenzwert für viele Laborparameter genutzt und wurde wiederholt auch für das cTn diskutiert [79,80,110]. Die 97,5. Perzentile wurde für diese Referenzpopulation und in den Studien von Mingels et al. [86], Hammarsten et al. [90], Kimenai et al. [96], Mueller et al. [97], Ungerer et al. [98] und Giannitsis et al. [84] berechnet.

4.3. Vergleich der Ergebnisse

4.3.2 99. Perzentile der Gesamtpopulation

Die 99. Perzentile des hsTnT dieser gesunden Referenzpopulation mit 546 Probanden liegt bei 13ng/L (95%-KI 10-16ng/L). Sie bestätigt somit den vom Hersteller für Deutschland und die EU angegebenen Referenzwert von 14ng/L [77], stimmt aber nicht mit dem von der FDA empfohlenen Wert von 19ng/L überein [111]. Die 99. Perzentilen von 17 Populationen der Referenzwertstudien liegen im erhobenen KI [5,62,82,84–87,89,92–96,98–101]. In keiner Studie fand sich ein niedrigerer Wert, aber in sechs Studien wurden höhere Werte von 17-28ng/L festgestellt [83,88,90,91,93,94]. Die Ergebnisse der Studien zum Referenzwert des hsTnT sind in Tabelle 1 dargestellt.

Das mediane Alter der Population dieser Arbeit beträgt 44 Jahre und das der Referenzwertstudien, deren Ergebnisse im KI liegen, 37-58 Jahre [82,89,95]. Bei den Populationen, in denen höhere 99. Perzentilen erhoben wurden, fiel mit Ausnahme der Studien von Gaggin et al. [94] und Fitzgerald et al. [83] ein höheres medianes Alter von 52-72 Jahren auf [88,93]. Die älteste Referenzpopulation ist die Cardiovascular Health Study (CHS)-Kohorte von Gore et al., die auch die höchste 99. Perzentile für hsTnT aufwies [93]. In den Populationen dieser Studien fiel kein höherer Anteil männlicher Probanden auf (50% in dieser Arbeit, 35-65% in Studien mit Ergebnissen im Bereich des KI [98,101], 23-51% in Studien mit Ergebnissen über dem KI [90,94]). Sowohl in Studien mit 99. Perzentilen im als auch über dem KI wurden entweder ausschließlich Fragebögen oder auch umfangreiche Diagnostik bis hin zur Bildgebung durchgeführt. Die CHS-Kohorte von Gore et al. [93] mit der höchsten 99. Perzentile von 28ng/L wurde ebenso wie die Population von Aw et al. [101], die die niedrigste 99. Perzentile von 11,9ng/L aufwies, anamnestisch, laborchemisch

und bildgebend auf subklinisch erkrankte Individuen gescreent. Dies zeigt sich auch in den Subkohorten dieser Arbeit: Die 99. Perzentile für BIC-1 liegt bei 9ng/L, für NOKO-1 bei 14ng/L und für NOKO-2 bei 16ng/L. Die NOKO-1 unterscheidet sich in ihren medianen hsTnT signifikant von NOKO-2 und BIC-1. Das mediane Alter ist für die BIC-1-Kohorte mit 39 Jahren am geringsten und für die NOKO-2 mit 53 Jahren am höchsten. Die Geschlechterverteilung unterscheidet sich hingegen nicht. Obwohl die BIC-1-Kohorte die niedrigste 99. Perzentile dieser Arbeit hat, wurden die Probanden lediglich mit einem Fragebogen gescreent und es wurden nicht wie bei der NOKO-1 und -2 anamnestiche, laborchemische und apparative Methoden angewandt. Eine mögliche Erklärung hierfür ist neben dem Alter die Tatsache, dass es sich bei den Probanden der BIC-1-Studie um eine arbeitende Population aus dem Gesundheitssektor mit einem möglicherweise geringen Anteil subklinisch erkrankter Individuen handelt.

Gaggin et al. verglichen in ihrer Studie die hsTnT-Werte einer vietnamesischen mit denen einer US-amerikanischen Population. Für die vietnamesische Population mit einem medianen Alter von 41 Jahren ergab sich eine 99. Perzentile von 19ng/L. Die der US-amerikanischen Population, die ebenfalls ein medianes Alter von 41 Jahren aufwies, lag bei 15ng/L. Trotzdem hatten die US-amerikanischen Probanden im Median höhere hsTnT-Werte als die vietnamesischen. Die höhere 99. Perzentile ist auf drei zusätzliche Probanden der vietnamesischen Population zurückzuführen, die hsTnT-Werte über 14ng/L aufwiesen. Dies zeigt die Störanfälligkeit der 99. Perzentile für einzelne hohe Werte. Die Autoren gaben keine Auskunft zur Anwendung von Methoden zur Identifizierung von Outliern [94].

Fitzgerald et al. erhoben die hsTnT-Werte für 1301 mit einem Fragebogen auf Erkrankungen gescreenten Probanden mit verschiedenen Messmedien (Plasma, Serum), Geräten (cobas e 601 und e 411) und Assay-Versionen (STAT und 18 Minuten). So erhielten sie 10402 Messergebnisse, aus denen sie die 99. Perzentile von 19ng/L berechneten, die von der FDA übernommen wurde [78]. Nach Ausschluss von hämolytischen Proben und von Probanden mit einer GFR $<60\text{ml/min/1,73m}^2$ und einem NT-proBNP $>125\text{ng/L}$ senkte sich die 99. Perzentile auf 17,6ng/L ab. Sie liegt aber immer noch über dem in dieser Arbeit erhobenen KI. Eine mögliche Ursache ist neben geographischen Unterschieden, dass die Autoren auf die Identifizierung von Outliern verzichteten [83].

Die 97,5. Perzentile der Population dieser Arbeit liegt bei 9ng/L (95%-KI 9-11ng/L) und damit deutlich unter dem aktuellen Referenzwert von 14ng/L. Die in fünf weiteren Studien bestimmten 97,5. Perzentilen lagen etwas höher bei 11-14ng/L [86,90,98].

Collinson et al. konnten bei einer multinationalen Umfrage feststellen, dass nur 50,3% der befragten Labore den Referenzwert von 14ng/L für das hsTnT verwenden. Die meisten anderen URL lagen deutlich über den in Referenzwertstudien bestimmten 99. Perzentilen bei 30ng/L, 50ng/L und 100ng/L [112]. Die höheren Cutoff-Werte sind unter anderem auf Studien von Reichlin et al. [113] und Mueller et al. [114] zurückzuführen, die für einen Cutoff von 52ng/L ein Rapid-Rule-In-Protokoll mit einer hohen Spezifität von 97% bzw. 96% und einem positiv prädiktiven Wert von 84% bzw. 77% evaluierten. Es erlitten jedoch auch 22,5% der Patienten in der Observationsgruppe mit einem hsTnT von 12-51ng/L einen AMI [114]. Problematisch für die Diagnostik ist das Auftreten erhöhter hsTn-Werte bei weiteren akuten oder chronischen Erkrankungen wie Herzrhythmusstörungen, Lungenarterienembolie oder chronischer Niereninsuffizienz [42,46,47]. Die Verwendung verschiedener Referenzwerte führt zu einer inkonsistenten Diagnose des AMI mit therapeutischen und ökonomischen Folgen und Auswirkung auf klinische Endpunkte in der Forschung. Höhere Cutoff-Werte verbessern die Spezifität auf Kosten der Sensitivität und sollten daher ausschließlich zum Rule-In in den für sie getesteten Situationen angewandt werden. Die Expertengruppe der ESC/ACC/AHA/WHF für die Myokardinfarktdefinition hält seit über 20 Jahren an der 99. Perzentile fest [1–4]. In der individuellen Entscheidungsfindung sind neben dem absoluten Wert immer das klinische Gesamtbild aus der Differenz Delta, Symptomatik und Ergebnissen weiterer Untersuchungen einzubeziehen.

4.3.3 Geschlechtsspezifische Referenzwerte

In der vierten Version der Myokardinfarktdefinition von ESC/ACC/AHA/WHF und von der AACC/IFCC werden geschlechtsspezifische URL für hsTn-Assays empfohlen, da für Frauen niedrigere Werte nachgewiesen wurden als für Männer [1,68]. Dies bestätigen auch die Ergebnisse dieser Arbeit: Die 99. Perzentile für die 272 Frauen liegt bei 9ng/L und für die 274 Männer bei 14ng/L. Die 95%-KI von 7-20ng/L bzw. 11-18ng/L überschneiden sich, wobei die Aussagekraft der KI aufgrund der Probandenzahl <300 nicht ausreichend ist [19,68]. Das große KI der Frauen ist auf eine Probandin mit einem hsTnT-Wert von 19,67ng/L zurückzuführen. In den Medianen fand sich ein signifikanter Unterschied der hsTnT-Werte von 3ng/L bei Frauen und 4,84ng/L bei Männern ($p < 0,001$). Die in dieser Arbeit erhobenen 99. Perzentilen bestätigen die außerhalb der USA verwendeten geschlechtsspezifischen Referenzwerte von Saenger et al. von 9ng/L für Frauen und 16ng/L

für Männer [82]. In der Herstellerinformation findet sich noch keine Angabe zu geschlechtsspezifischen URL [77]. Die FDA hingegen empfiehlt nach Fitzgerald et al. [83] höhere Werte von 14ng/L für Frauen und 22ng/L für Männer [78].

Die 99. Perzentilen anderer Referenzwertstudien lagen mit 8-25ng/L für Frauen und 13-34ng/L für Männer im oder über dem in dieser Arbeit erhobenen KI. Mit Ausnahme der männlichen Population von Apple et al. [62] handelt es sich bei den Studien mit Referenzwerten über dem KI um dieselben, die auch für die Gesamtperzentile höhere Werte erhoben haben [83,91,93,94]. Nur Koerbin et al. [91], Gaggin et al. (nur vietnamesische Population) [94] und Franzini et al. [95] erhoben höhere 99. Perzentilen für Frauen als für Männer. Die einzelnen Studienergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Mögliche Ursachen für die Geschlechtsunterschiede der hsTn-Werte sind die höhere Herzmasse der Männer [115] sowie Unterschiede in der Pathophysiologie des AMI mit einem höheren Anteil von Plaqueeosionen und Typ 2-Infarkten bei Frauen [116].

Einheitliche Referenzwerte für hsTn-Assays können bei Männern zu falsch-positiven und bei Frauen zu falsch-negativen Ergebnissen mit therapeutischen und prognostischen Konsequenzen führen. Die Kombination aus atypischen Symptomen und niedrigeren Biomarkerwerten könnte also die weniger invasiven Therapiemaßnahmen und die höhere Mortalität von Frauen bei einem AMI erklären [117]. Dennoch ist der klinische Nutzen der Anwendung geschlechtsspezifischer Referenzwerte nicht gesichert [105,118]. Eggers et al. [119] und Müller-Hennessen et al. [120] haben bei ACS-Patientinnen nach Anwendung geschlechtsspezifischer URL für das hsTnT zwar einen Anstieg der AMI-Diagnosen um 8-9% registriert. Dieser wirkte sich jedoch nicht auf die Prognose aus. Diese Bedeutung geschlechtsspezifischer Referenzwerte könnte für hsTnI größer sein als für hsTnT, da die Unterschiede zwischen Männern und Frauen in der 99. Perzentile für hsTnI größer sind [84,102]. Ein weiteres Problem ist, dass bei Anwendung geschlechtsspezifischer Referenzwerte für das hsTnT der Wert für Frauen mit 9ng/L unter dem Wert mit einem CV von 10% (11-13ng/L [5,108]) liegt und damit nicht die Voraussetzung für ein hochsensitives Assay erfüllen würde [1,60,68].

4.3.4 Altersspezifische Referenzwerte

Sowohl in der Gesamtpopulation als auch in gesunden Referenzpopulationen hat sich ein Einfluss des Alters auf hsTn-Werte gezeigt [54,104,118]. Dieser scheint für hsTnT größer zu sein als für hsTnI [96]. Fitzgerald et al. stellten sogar einen größeren Effekt des Alters als

des Geschlechts auf das hsTnT fest [83]. Collinson et al. haben eine Korrelation nach Spearman von 0,44 für das hsTnT mit dem Alter erhoben [89]. Auch in dieser Arbeit konnte eine mittelstarke Korrelation zwischen hsTnT und dem Alter festgestellt werden (Korrelationskoeffizient nach Spearman 0,30).

Obwohl die Fachgesellschaften aktuell keine altersspezifischen Referenzwerte für hsTn-Assays empfehlen [1,68], hat sich gezeigt, dass die 99. Perzentile des hsTnT für ältere Subgruppen insbesondere bei Männern über der für jüngere liegt [84,85,87,90–93,95,96,98]. Gore et al. stellten fest, dass für >10% der Männer zwischen 65 und 74 Jahren trotz Ausschluss einer kardiovaskulären Erkrankung das hsTnT über dem aktuellen Referenzwert von 14ng/L lag. Sie schlugen deshalb einen höheren Cutoff von bis zu 31ng/L für Männer ≥ 50 und Frauen ≥ 65 Jahren vor [93]. Giannitsis et al. erhoben signifikant unterschiedliche URL für ≤ 55 -Jährige von 12,7ng/L und für > 55 -Jährige von 16,8ng/L [84]. Franzini et al. erhoben ähnliche, leicht höhere Werte für Probanden < 65 Jahren von 13,3ng/L und ≥ 65 Jahren von 17,8ng/L [95]. Zur Bestimmung altersspezifischer 99. Perzentilen in dieser Arbeit wurde die Gesamtpopulation in zwei ähnlich große Subpopulationen mit Probanden im Alter von < 45 Jahren und ≥ 45 Jahren aufgeteilt. Trotz der Korrelation zwischen hsTnT und Alter zeigt sich für die Subpopulationen kein deutlicher Unterschied in der 99. Perzentile (13,97ng/L vs. 12,48ng/L). Eine mögliche Erklärung ist, dass beide Populationen ein relativ niedriges medianes Alter von 35 und 53 Jahren aufweisen. Hammarsten et al. konnten zwar einen deutlichen Anstieg des hsTnT feststellen, aber erst ab einem Alter von 60 Jahren [90]. Dies zeigte sich auch in der Studie von Kimenai et al., wobei der Effekt nach Ausschluss von Outliern mit der Methode nach Reed et al. [103] vor allem bei den Frauen deutlich abnahm [96].

Mögliche Ursachen für die höheren hsTn-Werte bei Älteren auch nach Ausschluss subklinischer Erkrankungen mittels umfangreicher Diagnostik sind die vermehrte cTn-Freisetzung aus Kardiomyozyten sowie ein verminderter Zellturnover beispielsweise bei verringerter Nierenfunktion [121].

In der AMI-Diagnostik zeigt sich ein Vorteil durch die Anwendung altersspezifischer Referenzwerte: Reiter et al. bestimmten für 51% der > 70 -jährigen Notaufnahme-Patienten ohne AMI, die sich aber mit AMI-typischen Symptomen vorstellten, hsTnT-Werte über dem Referenzwert von 14ng/L. Sie empfehlen daher für diese Altersgruppe einen mittels Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analyse errechneten Cutoff von 54ng/L [122]. Müller-Hennessen et al. konnten in einer Subanalyse der TRAPID-AMI-Studie zeigen, dass

die Anwendung eines URL von 28ng/L für ≥ 65 -Jährige die Diagnose AMI um $>10\%$ senkte und zugleich die Prognosevorhersage verbesserte (106).

Obwohl es Hinweise auf Altersunterschiede in den hsTn-Werten und einen klinischen Nutzen von altersspezifischen Referenzwerten gibt, sprechen sich AACC und IFCC gegen die Anwendung derselben aus [68]. Die verschiedenen Altersgrenzen in den Referenzwertstudien erschweren die Auswahl des passenden Cutoffs für das hsTnT und auch der geeigneten Subgruppen. Zudem sind mindestens vier verschiedene Referenzwerte nach Alter und nach Geschlecht nicht praktikabel und können zu Verwirrung in der klinischen Anwendung führen. Dennoch sollte die Einführung altersspezifischer Referenzwerte erneut diskutiert und die Empfehlung gegebenenfalls angepasst werden. Die individuelle Entscheidung liegt beim behandelnden Arzt, der sich der Problematik des Einflusses von Geschlecht und Alter auf hsTn-Assays bewusst sein sollte.

4.3.5 Detektierbare und messbare hochsensitive Troponin T-Werte

In den letzten Jahren kamen vermehrt Zweifel auf, ob das hsTnT die Kriterien für ein hochsensitives Assay erfüllt [67,100,106,123]. Die Bezeichnung „hochsensitives cTn-Assay“ erfordert einen CV $\leq 10\%$ an der 99. Perzentile sowie messbare hsTn-Werte über dem LOD bei $\geq 50\%$ der gesunden Referenzpopulation [19,60]. Nach den neuen Empfehlungen von AACC und IFCC von 2018 sollte dies sowohl für männliche als auch weibliche Probanden zutreffen [68]. Giannitsis et al. fanden in der ersten Studie zur analytischen Validierung des hsTnT eine 99. Perzentile von 13,5ng/L, einen CV von 10% bei 13ng/L für das Elecsys 2010, ein LOB von 3ng/L und ein LOD von 5ng/L. Die Zahl der Probanden mit einem hsTnT-Wert über dem LOD wurde nicht angegeben [5]. Saenger et al. erhoben ebenfalls ein LOB von 3ng/L und ein LOD von 5ng/L und konnten nur bei 32% der Probanden Werte über dem LOD erheben. Mit Ausnahme von einem der acht Standorte der Multicenter-Studie fand sich immer ein CV $\leq 10\%$ an der 99. Perzentile [82]. In dieser sowie in den meisten anderen Studien waren bei weniger als 50% der Probanden hsTnT-Werte über dem LOD nachweisbar [62,87,88,93,94,96,98–100]. Nur Gore et al. konnten für die CHS-Kohorte ihrer Studie bei 52,3% der gesunden Probanden messbare hsTnT-Werte feststellen [93]. In dieser Arbeit fand sich nur bei 27,3% der Probanden ein Wert über dem LOD von 5ng/L. 43,1% der Männer und 11,4% der Frauen wiesen messbare hsTnT-Werte auf. Damit erfüllt das hsTnT nicht die Kriterien für ein hochsensitives Assay. Zudem liegt

zwar die erhobene 99. Perzentile von 13ng/L im Bereich des CV von 10%, die für Frauen mit 9ng/L liegt aber darunter.

Fitzgerald et al. untersuchten in einer von 2019 veröffentlichten Studie das LOB und das LOD für zwei verschiedene Geräte: Für das cobas e 411 erhielten sie analog zu früheren Studienergebnissen ein LOB von 3ng/L und ein LOD von 5ng/L. Für das cobas e 601 und e 602 hingegen bestimmten sie ein LOB von 2,5ng/L und ein LOD von 3ng/L. Der hsTnT-Wert mit einem CV von 10% lag bei 11ng/L [108]. Giannitsis et al. wiesen mit diesen neuen Maßen mit dem cobas 602 bei 88,4% der Probanden (81,4% der Frauen, 96,5% der Männer) hsTnT-Werte über dem LOD von 3ng/L nach. Für das cobas e 411 konnten sie hingegen nur bei 43% der Probanden (36,8% der Frauen, 50,2% der Männer) Werte über dem LOD von 5ng/L messen [84]. Fitzgerald et al. maßen ebenfalls für das cobas e 601 bei 55,1% und für cobas e 411 bei 35,0% ihrer Probanden hsTnT-Werte über 3ng/L [83]. Gunsolus et al. hingegen konnten mit dem cobas e 602 nur bei 44,5% der Probanden (65% der Männer, 21% der Frauen) hsTnT-Werte über dem LOD erheben [100]. Chenevier-Gobeaux et al. [88] und Ungerer et al. [98] haben in ihren Studien das cobas e 601 verwendet und konnten nur bei 38,0% bzw. 44,1% der Probanden Werte über 3ng/L feststellen.

Ob das hsTnT die Kriterien für ein hochsensitives Assay erfüllt, hängt vom Messgerät ab. Mit dem für NOKO-1 und -2 verwendeten cobas e 411 kann es nicht als hochsensitives Assay eingestuft werden, da bei <50% gesunder Probanden Werte über dem LOD von 5ng/L erhoben wurden. Zu dem für die BIC-1-Kohorte verwendeten Gerät cobas e 801 gibt es bisher keine Informationen. Zu cobas e 601 und e 602 hingegen finden sich widersprüchliche Studienergebnisse [83,84,88,98,100].

Obwohl nicht sicher festzustellen ist, ob es sich nach aktuellen Kriterien beim hsTnT um ein hochsensitives Assay handelt, sind schon niedrige, detektierbare Werte über dem LOB von 3ng/L mit einer höheren Mortalität in der Gesamtbevölkerung assoziiert [53,54]. Die Bedeutung und klinische Anwendung von hsTn-Assays in der Risikostratifizierung sind derzeit noch unklar [124]. Es fehlen außerdem Richtlinien für die erforderliche Präzision im Messbereich unter der 99. Perzentile [68].

4.4 Einflussfaktoren auf hochsensitive Troponin T-Werte

4.4.1 Körpermesswerte

Der BMI ist bei den Teilnehmern der Artherosclerosis Risk in Communities (ARIC)-Studie ohne kardiovaskuläre Vorerkrankungen auch nach Ausschluss weiterer kardiovaskulärer Risikofaktoren positiv mit dem hsTnT assoziiert [125]. Eine mögliche Ursache ist der konzentrische Umbau des Myokards mit erhöhter linksventrikulärer Masse bei zunehmendem BMI und Waist-to-Hip-Ratio [126].

Für die gesunden Probanden dieser Arbeit hat sich gezeigt, dass der BMI und die Waist-to-Hip-Ratio nicht mit dem hsTnT korrelieren. Die 99. Perzentile der übergewichtigen/adipösen Probanden liegt geringfügig unter der für unter-/normalgewichtige Probanden (11ng/L vs. 14ng/L), wobei dieser Unterschied nicht statistisch signifikant ist. Der Median des hsTnT adipöser Probanden liegt aber signifikant über dem unter-/normalgewichtiger und übergewichtiger Probanden. Auch Fitzgerald et al. konnten keinen Unterschied an der 99. Perzentile zwischen normalgewichtigen und übergewichtigen Probanden zeigen. Für die sehr kleine Gruppe adipöser Probanden stieg die 99. Perzentile um etwa 6ng/L an [83]. Zhang et al. konnten durch den Ausschluss von Probanden mit einem BMI $\geq 25\text{kg/m}^2$ eine nicht signifikante Absenkung der 99. Perzentile um 1ng/L feststellen [85]. Obwohl der BMI in dieser Arbeit nicht mit dem hsTnT korreliert, gibt es Hinweise für höhere hsTnT-Werte bei Individuen mit einem BMI $\geq 35\text{kg/m}^2$. Dies sollte in Zukunft weiter evaluiert werden, da die geringe Zahl gesunder adipöser Probanden in den meisten Studien aktuell keine weiteren Schlussfolgerungen erlaubt. Die mittelstarken Korrelationen für Größe und Gewicht entstehen möglicherweise durch den Einfluss des Geschlechts auf das hsTnT.

4.4.2 Anamnestische Daten

Die hsTnT-Werte von Rauchern und Nichtrauchern unterscheiden sich nicht signifikant. Durch den Ausschluss der rauchenden Probanden ließ sich die 99. Perzentile nicht absenken. Dies bestätigt die Ergebnisse von Aw et al., die für ihre gesunden Probanden keine Assoziation zwischen dem Raucherstatus und dem hsTnT und hsTnI zeigen konnten [101]. Auch in der Gesamtbevölkerung konnten für Raucher keine höheren hsTnT-Werte

nachgewiesen werden als für Nichtraucher [53,54]. Nur Krintus et al. stellten fest, dass das hsTnI mit der Raucheranamnese assoziiert ist [104].

Auch der Alkoholkonsum und die Familienanamnese hatten keine Auswirkung auf das hsTnT und dessen 99. Perzentile. Hierzu ließen sich in der wissenschaftlichen Literatur bisher keine Informationen finden.

Die Sportanamnese wirkt sich in dieser Arbeit ebenfalls nicht auf die hsTnT-Werte und deren 99. Perzentile aus. Es hat sich aber gezeigt, dass exzessiver Sport wie ein Marathonlauf aber auch kürzere, intensive Sporteinheiten zu cTn-Erhöhungen führen können. Die höchsten cTn-Werte fanden sich 2-6 Stunden nach der Belastung und nach spätestens 48 Stunden kam es zur Normalisierung der Werte [127]. Die Aufnahme von gesunden Sportlern in die Referenzpopulation kann daher je nach zeitlichem Abstand zur letzten Sporteinheit die 99. Perzentile von cTn-Assays beeinflussen.

In dieser Arbeit zeigt sich kein Einfluss des Nikotin- und Alkoholkonsum oder der Familien- und Sportanamnese auf das hsTnT. Für einen übermäßiger Alkoholkonsum von >3 Getränken pro Tag oder sportliche Aktivität vor der Blutentnahme kann ein Einfluss auf das Bestimmung der 99. Perzentile cTn-Assays nicht ausgeschlossen werden.

4.4.3 Vitalparameter

Arterielle Hypertonie geht in der Gesamtbevölkerung mit höheren hsTnT-Werten einher [53,54]. In vielen Referenzwertstudien wird das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie als Vorerkrankung mittels Fragebogen evaluiert [62,82–85,87,89,91,92,97,100]. Aw et al. konnten durch Ausschluss von Probanden mit bekannter arterieller Hypertonie die 99. Perzentile des hsTnT ihrer im kardialen MRT unauffälligen gesunden Probanden von 15,2ng/L auf 13,7ng/L senken [101]. Auch für die Probanden aller drei Kohorten dieser Arbeit wurde das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie mittels Fragebogen erhoben. Zusätzlich wurden der systolische und diastolische Blutdruck sowie der Puls bestimmt. Das hsTnT korreliert gering negativ mit dem Puls und gering positiv mit dem systolischen und diastolischen Blutdruck. Auch Aw et al. konnten eine Assoziation zwischen systolischem Blutdruck und hsTnT feststellen [101]. Durch den Ausschluss von Probanden mit einem systolischen Blutdruck von ≥ 140 mmHg oder diastolischen Blutdruck ≥ 90 mmHg zusätzlich zur Anwendung eines Fragebogens konnte die 99. Perzentile des hsTnT in anderen Studien um 1ng/L bzw. 2ng/L abgesenkt werden [85,89]. In dieser Arbeit führt die Anwendung dieser Kriterien ebenfalls zu einer nicht signifikanten Absenkung der 99. Perzentile von 13ng/L auf

12ng/L. Das Messen des Blutdrucks neben Anwendung eines Fragebogens kann zusätzlich subklinisch vorerkrankte Probanden identifizieren und als einfache, kostengünstige Screeningmethode bei Referenzwertstudien angewandt werden.

4.4.4 Laborparameter

AACC und IFCC empfehlen die Bestimmung von GFR, NT-proBNP oder BNP und HbA1c zusätzlich zur Nutzung eines Fragebogens zum Ausschluss subklinisch erkrankter Probanden [68]. In dieser Arbeit wurden diese drei und weitere Laborparameter auf ihren Einfluss auf das hsTnT und dessen 99. Perzentile für die Probanden der NOKO-1 und -2 hin untersucht.

Eine Niereninsuffizienz kann durch kardiale Schädigung oder verminderte Clearance zu erhöhten cTn-Werten führen [50,128]. Sie hat einen größeren Einfluss auf das hsTnT als auf das hsTnI [50,89,101]. AACC und IFCC empfehlen zur Rekrutierung gesunder Probanden für die GFR einen Cutoff von 60ml/min/1,73m² oder 90ml/min/1,73m². Sie präferieren den niedrigeren Cutoff, da ein Wert von 90ml/min/1,73m² den Einschluss älterer Probanden erschwert [68]. Collinson et al. stellten fest, dass der Ausschluss von Probanden mit einer GFR ≤ 60 ml/min/1,73m² zusätzlich zu einem Screening mit Fragebogen zur Absenkung der 99. Perzentile des hsTnT von 20ng/L auf 14,4ng/L führt [89]. Für die Probanden der NOKO-1 und -2 galt ein Kreatinin von $>1,3$ mg/dl als Ausschlusskriterium. In dieser Arbeit korreliert die GFR der gesunden Probanden nicht mit dem hsTnT. Nur ein Proband weist eine GFR von <60 ml/min/1,73m² auf. Dessen Ausschluss führt nicht zu einer Absenkung der 99. Perzentile. Auch ein Cutoff von 90ml/min/1,73m² senkt die 99. Perzentile in dieser Population nicht ab. Dies widerspricht den Ergebnissen von Aw et al., die bei ihren Probanden mit unauffälligem kardialen MRT und einer GFR ≥ 60 ml/min/1,73m² eine signifikante Absenkung von 15ng/L auf 12ng/L erreichten [101]. Insbesondere eine niedrige GFR von <60 ml/min/1,73m² hat einen Einfluss auf das hsTnT [50,89]. Sie ist daher ein geeigneter Biomarker zur Identifizierung subklinisch vorerkrankter Probanden. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit führt ein strengerer Cutoff von 90ml/min/1,73m² trotz des Ausschlusses weiterer Probanden nicht zu einer Absenkung der 99. Perzentile des hsTnT. Das NT-proBNP als Marker für hämodynamischen Stress ist in der Gesamtbevölkerung und in Patienten mit Herzinsuffizienz mit dem hsTnT assoziiert [49,53,54]. AACC und IFCC empfehlen für die Rekrutierung einer gesunden Referenzpopulation altersspezifische Cutoffs von 125ng/L für <75 -Jährige und 450ng/L für ≥ 75 -Jährige [68]. In anderen

Referenzwertstudien wird häufig ein Gesamtcutoff von 125ng/L verwendet [83,96,100,101]. Collinson et al. konnten durch den Ausschluss von Probanden mit einem NTproBNP <100ng/L die 99. Perzentile des hsTnT im Vergleich zu einem Cutoff von 250ng/L um 1ng/L absenken [89]. Für NOKO-1 und -2 galt ein NT-proBNP >450ng/L als Ausschlusskriterium. In dieser Arbeit führt die Anwendung der strengeren Cutoffs zu einer nicht signifikanten Absenkung der 99. Perzentile des hsTnT um weniger als 1ng/L. Strengere Cutoffs erscheinen nicht notwendig.

Zum Ausschluss von Probanden mit unerkanntem Diabetes mellitus sollte die Bestimmung von Nüchtern-Glucose oder HbA1c erfolgen [79]. AACC und IFCC empfehlen für den HbA1c einen Cutoff von 6,5%. Auch 5,7% wird als Cutoff diskutiert [68]. Für die Probanden der NOKO-1 und -2 galt ein HbA1c $\geq 6,5\%$ als Ausschlusskriterium. Bei einem Cutoff von 5,7% war die Berechnung der 99. Perzentile aufgrund der geringen Probandenzahl nicht mehr möglich. Bisher wurde nur in vier Referenzwertstudien für die gesunden Probanden das HbA1c bestimmt: Dabei wurden 6% [99] und 6,5% [84,100] als Cutoffs verwendet. Für eine Studie wurde der angewendete Cutoff nicht angegeben [87]. In weiteren Studien wurde statt dem HbA1c die Nüchtern-Glucose bestimmt [85,89,91,95]. Die Cutoffs variierten dabei von 90mg/dl bis 126mg/dl [85,91,95]. Der Ausschluss von Probanden mit einem Nüchtern-Glucose von 126mg/dl und 90mg/dl führte in dieser Arbeit nicht zu einer Absenkung der 99. Perzentile. In der Literatur werden verschiedene Cutoff-Werte für HbA1c und Nüchtern-Glucose verwendet. Diese Arbeit bestätigt den von IFCC und AACC empfohlenen Cutoff von 6,5% für HbA1c.

AACC und IFCC geben aktuell keine Empfehlung zur Bestimmung der Blutfette zur Identifizierung subklinisch erkrankter Probanden [68]. Krintus et al. stellten in ihrer gesunden Referenzpopulation bei 66% der Probanden eine Dyslipidämie fest und erhoben geringe bis mittelstarke Korrelationen für das hsTnI mit TAG, TC, HDL und LDL [104]. In dieser Arbeit ist das hsTnT gering mit den TAG und dem LDL korreliert. Zhang et al. erreichten durch den zusätzlichen Ausschluss von Probanden mit Dyslipidämie (26% der gesunden Population) eine nicht signifikante Absenkung der 99. Perzentile des hsTnT um 2ng/L [85]. In dieser Arbeit weisen 74% der Probanden der NOKO-1 und -2 eine Dyslipidämie auf. Nach Ausschluss dieser Probanden ist die Berechnung der 99. Perzentile aufgrund der geringen Anzahl verbleibender Probanden nicht mehr möglich. Der Ausschluss einer Dyslipidämie zur Bestimmung der 99. Perzentile des hsTnT an einer gesunden Referenzpopulation führt zu einem übermäßigen Ausschluss von Probanden und kann daher nicht empfohlen werden.

4.4.5 Apparative Untersuchungen

Das EKG wird in verschiedenen Referenzwertstudien zur Identifizierung von Probanden mit Myokardhypertrophie oder Herzrhythmusstörungen eingesetzt [84,85,89,93,95,96]. In der Gesamtbevölkerung ist eine im EKG nachgewiesene linksventrikuläre Hypertrophie mit höheren hsTnT-Werten assoziiert [53]. Bei den Probanden der NOKO-1 dieser Arbeit wurde ein 12-Kanal-EKG durchgeführt. Probanden mit ST-Strecken-Veränderungen, atrioventrikulärem Blockbild, Linksschenkelblock und Vorhofflimmern wurden von der Studie ausgeschlossen. Die QRS- und PQ-Zeit korrelieren nicht mit dem hsTnT. Auch der Lagetyp wirkt sich nicht signifikant auf die hsTnT-Werte aus. In einer Studie von Collinson et al. hat sich gezeigt, dass die Hinzunahme des EKG-Befunds in einer mit einem Fragebogen gescreenten Population die 99. Perzentile des hsTnT nicht zusätzlich absenken kann [89]. Das EKG eignet sich nicht als alleinige apparative Untersuchungsmethode zum Ausschluss subklinisch erkrankter Probanden.

Für Patienten zeigt sich eine Assoziation zwischen hsTnT und LVEF [129]. Collinson et al. konnten eine Absenkung der 99. Perzentile von 20ng/L auf 17,3ng/L durch den zusätzlichen Ausschluss von Probanden mit einer LVEF >50% im Vergleich zu einem Fragebogen zeigen [89]. Bei 157 Probanden der NOKO-1 und -2 wurde eine Stress-Echokardiographie oder ein Kardio-MRT durchgeführt. Die LVEF dieser gesunden Probanden korreliert nicht mit dem hsTnT. Auch Aw et al. konnten keine Assoziation für das hsTnI oder hsTnT mit der im kardialen MRT-bestimmten LVEF in ihrer Referenzpopulation detektieren. Es zeigte sich aber eine signifikante Assoziation mit der linksventrikulären Masse und dem links- und rechtsventrikulären Volumen [101]. Franzini et al. stellten ebenfalls eine geringe positive Korrelation zwischen hsTnT und linksventrikulärer Masse in der kardialen Computertomographie (CT) fest [95]. AACC und IFCC empfehlen trotz des hohen Kostenaufwands bildgebende Verfahren zum Ausschluss subklinisch erkrankter Probanden [68]. Dafür kommen Echokardiographie, MRT und CT infrage. Aktuell gibt es weder Empfehlungen für die Auswahl der Untersuchungsmethode noch für geeignete Kriterien zum Ausschluss von Probanden. Neben der LVEF sollten kardiale Hypertrophie und Herzklappenerkrankungen diskutiert werden.

4.5 Limitationen

Als erste Limitation dieser Arbeit ist die Populationsgröße zu nennen. Die Probandenzahl von 547 reicht zur Bestimmung der 99. Perzentile mit KI für die Gesamtpopulation aus, aber nach Einteilung in zwei Subgruppen konnte die Anzahl von mindestens 300 Probanden zur Berechnung der KI der 99. Perzentile mit ausreichender statistischer Sicherheit nicht mehr erreicht werden. Die Stichprobengröße ist aber ausreichend für die Erhebung der 99. Perzentile, den Vergleich der hsTnT-Werte in verschiedenen Subgruppen und zur Darstellung von Korrelationen. Positiv hervorzuheben sind die breite Altersspanne und die gleiche Geschlechterverteilung in der Population. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte in zwei Studienzentern innerhalb Deutschlands. Daher können diese Ergebnisse nicht vorbehaltlos auf andere geographische Regionen und Populationen anderer Ethnizitäten übertragen werden. Sie geben aber Auskunft über hsTnT-Werte von Personen im westeuropäischen Raum.

Eine weitere Limitation ist die Zusammensetzung der Population aus drei Subpopulationen (BIC-1, NOKO-1, -2). Während für NOKO-1 und -2 strenge Ein- und Ausschlusskriterien mit mehreren, teils aufwendigen Untersuchungsmethoden überprüft wurden, wurde die BIC-1-Kohorte lediglich mittels Fragebogen gescreent. Da die hsTnT-Werte der BIC-1-Probanden unter denen der Probanden der NOKO-1 und -2 liegen, ist der vermehrte Einschluss subklinisch erkrankter Probanden unwahrscheinlich. Problematisch ist ferner, dass für die verschiedenen Subpopulationen unterschiedliche Parameter erhoben wurden. So sind für die BIC-1-Probanden vor allem anamnestische Informationen verfügbar, während für die Probanden der NOKO-1 und -2 Laborergebnisse und Befunde der kardiologischen Funktionsdiagnostik ausgewertet wurden. Wichtige Informationen wie Alter und Geschlecht und auch Vitalparameter standen für alle Probanden zur Verfügung. Die Variabilität der Parameter ermöglichte zudem die Auswertung vieler Einflussfaktoren auf das hsTnT, auch wenn diese Informationen nicht für die gesamte Population dieser Arbeit erhoben wurden. In der Ergebnisdarstellung wurde stets beachtet, Informationen in gültigen Prozenten anzugeben. Ein weiterer Kritikpunkt ist, dass die Proben der Subpopulationen auf verschiedenen Geräten gemessen wurden. Dies erschwert insbesondere die Interpretation der detektierbaren und messbaren hsTnT-Werte, da sich diesbezüglich Unterschiede zwischen den Geräten zeigen. Es gibt bisher noch keine Informationen zum cobas e 801, auf dem die Proben der BIC-1-Probanden gemessen wurden. Positiv zu erwähnen ist die Verwendung von Lithium-Heparin-Plasma als einheitliches Messmedium.

Als letzte Limitation ist zu nennen, dass in dieser Arbeit als statistische Methoden lediglich univariate Korrelationen, aber keine multivariaten Regressionsmodelle gerechnet wurden. Die Kausalität der erhobenen Korrelationen ist daher nur eingeschränkt beurteilbar. Die Fachgesellschaften empfehlen zur Berechnung von Referenzwerten des hsTnT ausdrücklich die Anwendung nicht-parametrischer Methoden, da cTn-Werte nicht normalverteilt sind. Zur Entwicklung eines Regressionsmodells hätten die Daten für eine annähernde Normalverteilung umgewandelt werden müssen, was wiederum zu eingeschränkter Beurteilbarkeit geführt hätte. Diese Arbeit erfüllt die statistischen Empfehlungen von AACC und IFCC.

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Das hsTnT ist bereits seit mehr als 10 Jahren als laborchemischer Marker für myokardiale Zellschädigung in der Akutdiagnostik etabliert. Darüber hinaus gibt es erste Hinweise für einen Nutzen als prognostischen Marker in der Routinediagnostik. Dabei erfüllt das hsTnT-Assay formal nicht die Anforderungen an ein hochsensitives Assay, da <50% der gesunden Probanden sowohl in der Gesamtauswertung als auch nach Genderstratifizierung keine messbaren hsTnT-Werte über dem LOD aufweisen. Der Referenzwert des hsTnT ist noch immer Gegenstand der wissenschaftlichen Debatte. Diese Arbeit bestätigt den außerhalb der USA genutzten Wert des Herstellers von 14ng/L, nicht aber den der FDA von 19ng/L. Es zeigte sich ein Einfluss von Geschlecht und Alter auf das hsTnT, wobei nur bei Aufteilung nach Geschlecht unterschiedliche 99. Perzentilen erhoben werden konnten. Der klinische Nutzen subgruppenspezifischer Referenzwerte ist noch unklar und muss an Patienten im klinischen Setting evaluiert werden. In dieser Arbeit erscheint ein Fragebogen als Screeningmethode zur Identifizierung subklinisch erkrankter Probanden bei einer jüngeren Population durchaus als ausreichend. Für ältere Probanden hingegen sind laborchemische und bildgebende Untersuchungen trotz des hohen Kostenaufwands indiziert. Der Ausschluss weiterer Probanden durch Anwendung strengerer Kriterien führte nicht zu einer signifikanten Absenkung der 99. Perzentile. Es zeigten sich aber Hinweise auf einen Einfluss von BMI-Werten $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ und Blutdruck-Werten $\geq 140/90 \text{ mmHg}$, die in Zukunft weiter evaluiert werden sollten. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit müssen die Vorgaben von AACC und IFCC zur Referenzwertbestimmung nicht zusätzlich verschärft, sollten aber zukünftig einschließlich der Cutoff-Werte klar definiert werden.

Literaturverzeichnis

1. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018 Nov 13;138(20):e618–51.
2. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, Thygesen K, Alpert JS, White HD, Jaffe AS, Katus HA, Apple FS, Lindahl B, Morrow DA, Chaitman BR, Clemmensen PM, Johanson P, Hod H, Underwood R, Bax JJ, Bonow JJ, Pinto F, Gibbons RJ, Fox KA, Atar D, Newby LK, Galvani M, Hamm CW, Uretsky BF, Steg PG, Wijns W, Bassand J-P, Menasche P, Ravkilde J, Ohman EM, Antman EM, Wallentin LC, Armstrong PW, Simoons ML, Januzzi JL, Nieminen MS, Gheorghide M, Filippatos G, Luepker RV, Fortmann SP, Rosamond WD, Levy D, Wood D, Smith SC, Hu D, Lopez-Sendon J-L, Robertson RM, Weaver D, Tendera M, Bove AA, Parkhomenko AN, Vasilieva EJ, Mendis S, Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, Morais J, Aguiar C, Almahmeed W, Arnar DO, Barili F, Bloch KD, Bolger AF, Botker HE, Bozkurt B, Bugiardini R, Cannon C, de Lemos J, Eberli FR, Escobar E, Hlatky M, James S, Kern KB, Moliterno DJ, Mueller C, Neskovic AN, Pieske BM, Schulman SP, Storey RF, Taubert KA, Vranckx P, Wagner DR. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Oct 16;60(16):1581–98.
3. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Sep;36(3):959–69.
4. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Nov 27;50(22):2173–95.
5. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin Chem*. 2010 Feb;56(2):254–61.
6. Todd J, Freese B, Lu A, Held D, Morey J, Livingston R, Goix P. Ultrasensitive flow-based immunoassays using single-molecule counting. *Clin Chem*. 2007 Nov;53(11):1990–5.

7. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016 Jan 14;37(3):267–315.
8. Spezifikation für Indikator 516 - Sterbefälle für die 10 20 50 100 häufigsten Todesursachen [Internet]. [cited 2020 Mar 19]. Available from: http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=3&p_aid=20432393&nummer=516&p_sprache=D&p_indsp=4065&p_aid=20444560
9. Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachen die höchsten Kosten [Internet]. Statistisches Bundesamt. [cited 2020 Mar 19]. Available from: https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2017/09/PD17_347_236.html
10. WHO | Disease burden and mortality estimates [Internet]. [cited 2020 Mar 19]. Available from: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/
11. Baer FM, Rosenkranz S. Koronare Herzkrankheit und akutes Koronarsyndrom. In: Erdmann E, editor. *Klinische Kardiologie - Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*. 8. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2011. p. 44–5.
12. Falk E, Nakano M, Bentzon JF, Finn AV, Virmani R. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. *Eur Heart J*. 2013 Mar;34(10):719–28.
13. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med*. 1992 Jan 23;326(4):242–50.
14. Piper HM, Schwartz P, Hutter JF, Spieckermann PG. Energy metabolism and enzyme release of cultured adult rat heart muscle cells during anoxia. *J Mol Cell Cardiol*. 1984 Nov;16(11):995–1007.
15. Neri M, Riezzo I, Pascale N, Pomara C, Turillazzi E. Ischemia/Reperfusion Injury following Acute Myocardial Infarction: A Critical Issue for Clinicians and Forensic

- Pathologists. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:7018393.
16. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, Caforio ALP, Crea F, Goudevenos JA, Halvorsen S, Hindricks G, Kastrati A, Lenzen MJ, Prescott E, Roffi M, Valgimigli M, Varenhorst C, Vranckx P, Widimsky P. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2018 Jan 7;39(2):119–77.
 17. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, Morando G, Prando MD, Mafrici A, Cavallini C, Melandri G, Thompson TD, Vahanian A, Ohman EM, Califf RM, Van de Werf F, Topol EJ. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA.* 1999 Feb 24;281(8):707–13.
 18. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, Huber K, Plebani M, Biasucci LM, Tubaro M, Collinson P, Venge P, Hasin Y, Galvani M, Koenig W, Hamm C, Alpert JS, Katus H, Jaffe AS. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J.* 2012 Sep;33(18):2252–7.
 19. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, Mockel M, Ordonez-Llanos J, Lindahl B, Hollander J, Plebani M, Than M, Chan MHM. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem.* 2015 Mar;48(4–5):201–3.
 20. Apple FS, Jesse RL, Newby LK, Wu AHB, Christenson RH. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: Analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Circulation.* 2007 Apr 3;115(13):e352-355.
 21. Herold G, Mellwig K-P, Schmidt K. Koronare Herzkrankheit. In: Herold G, editor. *Innere Medizin.* Köln: Gerd Herold; 2019. p. 237–59.
 22. Hescheler J. Muskulatur. In: Speckmann E-J, editor. *Physiologie.* 6. Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2013. p. 172.
 23. Katrukha IA. Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochem Biokhimiia.* 2013 Dec;78(13):1447–65.
 24. Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem.* 1995 Dec;41(12 Pt 1):1710–5.
 25. Anderson PA, Malouf NN, Oakeley AE, Pagani ED, Allen PD. Troponin T isoform

- expression in humans. A comparison among normal and failing adult heart, fetal heart, and adult and fetal skeletal muscle. *Circ Res*. 1991 Nov;69(5):1226–33.
26. Jaffe AS, Vasile VC, Milone M, Saenger AK, Olson KN, Apple FS. Diseased skeletal muscle: a noncardiac source of increased circulating concentrations of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Oct 18;58(17):1819–24.
 27. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, Lindahl B, Giannitsis E, Hasin Y, Galvani M, Tubaro M, Alpert JS, Biasucci LM, Koenig W, Mueller C, Huber K, Hamm C, Jaffe AS. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J*. 2010 Sep;31(18):2197–204.
 28. Schreier T, Kedes L, Gahlmann R. Cloning, structural analysis, and expression of the human slow twitch skeletal muscle/cardiac troponin C gene. *J Biol Chem*. 1990 Dec 5;265(34):21247–53.
 29. Anderson PA, Greig A, Mark TM, Malouf NN, Oakeley AE, Ungerleider RM, Allen PD, Kay BK. Molecular basis of human cardiac troponin T isoforms expressed in the developing, adult, and failing heart. *Circ Res*. 1995 Apr;76(4):681–6.
 30. Katus HA, Remppis A, Scheffold T, Diederich KW, Kuebler W. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1991 Jun 15;67(16):1360–7.
 31. Hessel MHM, Michielsen ECHJ, Atsma DE, Schaliij MJ, van der Valk EJM, Bax WH, Hermens WT, van Dieijen-Visser MP, van der Laarse A. Release kinetics of intact and degraded troponin I and T after irreversible cell damage. *Exp Mol Pathol*. 2008 Oct;85(2):90–5.
 32. Mair J. Tissue release of cardiac markers: from physiology to clinical applications. *Clin Chem Lab Med*. 1999 Dec;37(11–12):1077–84.
 33. La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, Inder WJ, Taylor AJ, Bogaert J, Macisaac AI, Heidbuchel H, Prior DL. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(8):998–1006.
 34. Turer AT, Addo TA, Martin JL, Sabatine MS, Lewis GD, Gerszten RE, Keeley EC, Cigarroa JE, Lange RA, Hillis LD, de Lemos JA. Myocardial ischemia induced by rapid atrial pacing causes troponin T release detectable by a highly sensitive assay: insights from a coronary sinus sampling study. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Jun 14;57(24):2398–405.
 35. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute

- changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J*. 2009 Jan;30(2):162–9.
36. Hammarsten O, Mair J, Mockel M, Lindahl B, Jaffe AS. Possible mechanisms behind cardiac troponin elevations. *Biomark Biochem Indic Expo Response Susceptibility Chem*. 2018 Dec;23(8):725–34.
 37. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol*. 2011 Jun 14;57(24):2406–8.
 38. Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, Muller C, Giannitsis E, Huber K, Mockel M, Plebani M, Thygesen K, Jaffe AS. How is cardiac troponin released from injured myocardium? *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018 Sep;7(6):553–60.
 39. Dunn ME, Coluccio D, Hirkaler G, Mikaelian I, Nicklaus R, Lipshultz SE, Doessegger L, Reddy M, Singer T, Geng W. The complete pharmacokinetic profile of serum cardiac troponin I in the rat and the dog. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol*. 2011 Oct;123(2):368–73.
 40. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kubler W. Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol*. 1989 Dec;21(12):1349–53.
 41. Starnberg K, Jeppsson A, Lindahl B, Hammarsten O. Revision of the troponin T release mechanism from damaged human myocardium. *Clin Chem*. 2014 Aug;60(8):1098–104.
 42. Giannitsis E, Katus HA. Cardiac troponin level elevations not related to acute coronary syndromes. *Nat Rev Cardiol*. 2013 Nov;10(11):623–34.
 43. French JK, White HD. Clinical implications of the new definition of myocardial infarction. *Heart Br Card Soc*. 2004 Jan;90(1):99–106.
 44. Lindahl B, Venge P, James S. The new high-sensitivity cardiac troponin T assay improves risk assessment in acute coronary syndromes. *Am Heart J*. 2010 Aug;160(2):224–9.
 45. Giannitsis E, Steen H, Kurz K, Ivandic B, Simon AC, Futterer S, Schild C, Isfort P, Jaffe AS, Katus HA. Cardiac magnetic resonance imaging study for quantification of infarct size comparing directly serial versus single time-point measurements of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Jan 22;51(3):307–14.
 46. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J*. 2011 Feb;32(4):404–11.

47. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. *Clin Chem*. 2009 Dec;55(12):2098–112.
48. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, Christophi CA, Rice MM, Jablonski KA, Tjora S, Domanski MJ, Gersh BJ, Rouleau JL, Pfeffer MA, Braunwald E. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2009 Dec 24;361(26):2538–47.
49. Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, Angelici L, Barlera S, Parrinello G, Maggioni AP, Tognoni G, Cohn JN. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation*. 2007 Sep 11;116(11):1242–9.
50. deFilippi C, Seliger SL, Kelley W, Duh S-H, Hise M, Christenson RH, Wolf M, Gaggin H, Januzzi J. Interpreting cardiac troponin results from high-sensitivity assays in chronic kidney disease without acute coronary syndrome. *Clin Chem*. 2012 Sep;58(9):1342–51.
51. McGill D, Talaulikar G, Potter JM, Koerbin G, Hickman PE. Over time, high-sensitivity TnT replaces NT-proBNP as the most powerful predictor of death in patients with dialysis-dependent chronic renal failure. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2010 Jul 4;411(13–14):936–9.
52. McFalls EO, Larsen G, Johnson GR, Apple FS, Goldman S, Arai A, Nallamothu BK, Jesse R, Holmstrom ST, Sinnott PL. Outcomes of hospitalized patients with non-acute coronary syndrome and elevated cardiac troponin level. *Am J Med*. 2011 Jul;124(7):630–5.
53. Saunders JT, Nambi V, de Lemos JA, Chambless LE, Virani SS, Boerwinkle E, Hoogeveen RC, Liu X, Astor BC, Mosley TH, Folsom AR, Heiss G, Coresh J, Ballantyne CM. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 2011 Apr 5;123(13):1367–76.
54. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, Hashim I, Berry JD, Das SR, Morrow DA, McGuire DK. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA*. 2010 Dec 8;304(22):2503–12.
55. Cummins B, Cummins P. Cardiac specific troponin-I release in canine experimental myocardial infarction: development of a sensitive enzyme-linked immunoassay. *J Mol*

- Cell Cardiol. 1987 Oct;19(10):999–1010.
56. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 1987 Jun;113(6):1333–44.
 57. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Remppis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem.* 1992 Mar;38(3):386–93.
 58. Adams JE 3rd, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, Jaffe AS. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation.* 1993 Jul;88(1):101–6.
 59. Muller-Bardorff M, Hallermayer K, Schroder A, Ebert C, Borgya A, Gerhardt W, Remppis A, Zehelein J, Katus HA. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem.* 1997 Mar;43(3):458–66.
 60. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem.* 2009 Jul;55(7):1303–6.
 61. Contemporary Cardiac Troponin I and T Assay Analytical Characteristics Designated by Manufacturer IFCC Committee on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers (C-CB) v122019 [Internet]. [cited 2020 Mar 25]. Available from: <https://www.ifcc.org/media/478230/contemporary-cardiac-troponin-i-and-t-assay-analytical-characteristics-designated-by-manufacturer-v122019.pdf>
 62. Apple FS, Ler R, Murakami MM. Determination of 19 cardiac troponin I and T assay 99th percentile values from a common presumably healthy population. *Clin Chem.* 2012 Nov;58(11):1574–81.
 63. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, Bodor G. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization. *Clin Chem.* 1998 Jun;44(6 Pt 1):1198–208.
 64. Gerhardt W, Nordin G, Herbert AK, Burzell BL, Isaksson A, Gustavsson E, Haglund S, Muller-Bardorff M, Katus HA. Troponin T and I assays show decreased concentrations in heparin plasma compared with serum: lower recoveries in early than in late phases of myocardial injury. *Clin Chem.* 2000 Jun;46(6 Pt 1):817–21.
 65. Wu AHB, Fukushima N, Puskas R, Todd J, Goix P. Development and preliminary

- clinical validation of a high sensitivity assay for cardiac troponin using a capillary flow (single molecule) fluorescence detector. *Clin Chem*. 2006 Nov;52(11):2157–9.
66. Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *Clin Biochem Rev*. 2008 Aug;29 Suppl 1:S49-52.
 67. Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, Ordonez-Llanos J. Cardiac Troponin Assays: Guide to Understanding Analytical Characteristics and Their Impact on Clinical Care. *Clin Chem*. 2017 Jan;63(1):73–81.
 68. Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, Jaffe AS, Kavsak PA, Ordonez-Llanos J, Apple FS. Clinical Laboratory Practice Recommendations for the Use of Cardiac Troponin in Acute Coronary Syndrome: Expert Opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem*. 2018 Apr;64(4):645–55.
 69. Jaffe AS, Apple FS, Morrow DA, Lindahl B, Katus HA. Being rational about (im)precision: a statement from the Biochemistry Subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the definition of myocardial infarction. *Clin Chem*. 2010 Jun;56(6):941–3.
 70. High-Sensitivity Cardiac Troponin I and T Assay Analytical Characteristics Designated by Manufacturer IFCC Committee on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers (C-CB) v122019 [Internet]. [cited 2020 Mar 25]. Available from: <https://www.ifcc.org/media/478231/high-sensitivity-cardiac-troponin-i-and-t-assay-analytical-characteristics-designated-by-manufacturer-v122019.pdf>
 71. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, Biedert S, Schaub N, Buergle C, Potocki M, Noveanu M, Breidthardt T, Twerenbold R, Winkler K, Bingisser R, Mueller C. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med*. 2009 Aug 27;361(9):858–67.
 72. Eggers KM, Lindahl B, Melki D, Jernberg T. Consequences of implementing a cardiac troponin assay with improved sensitivity at Swedish coronary care units: an analysis from the SWEDHEART registry. *Eur Heart J*. 2016 Aug 7;37(30):2417–24.
 73. Twerenbold R, Jaeger C, Rubini Gimenez M, Wildi K, Reichlin T, Nestelberger T, Boeddinghaus J, Grimm K, Puelacher C, Moehring B, Pretre G, Schaerli N, Campodarve I, Rentsch K, Steuer S, Osswald S, Mueller C. Impact of high-sensitivity cardiac troponin on use of coronary angiography, cardiac stress testing, and time to

- discharge in suspected acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2016 Nov 21;37(44):3324–32.
74. Twerenbold R, Jaffe A, Reichlin T, Reiter M, Mueller C. High-sensitive troponin T measurements: what do we gain and what are the challenges? *Eur Heart J*. 2012 Mar;33(5):579–86.
 75. Frankenstein L, Wu AHB, Hallermayer K, Wians FHJ, Giannitsis E, Katus HA. Biological variation and reference change value of high-sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem*. 2011 Jul;57(7):1068–71.
 76. Willeit P, Welsh P, Evans JDW, Tschiderer L, Boachie C, Jukema JW, Ford I, Trompet S, Stott DJ, Kearney PM, Mooijaart SP, Kiechl S, Di Angelantonio E, Sattar N. High-Sensitivity Cardiac Troponin Concentration and Risk of First-Ever Cardiovascular Outcomes in 154,052 Participants. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Aug 1;70(5):558–68.
 77. Elecsys Troponin T high sensitive FactSheet [Internet]. 2020. Available from: https://www.roche.de/res/content/9799/tnt_hs_factsheet.pdf
 78. 510(k) SUBSTANTIAL EQUIVALENCE DETERMINATION DECISION SUMMARY ASSAY ON TEMPLATE [Internet]. [cited 2020 Apr 8]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K162895.pdf
 79. Sandoval Y, Apple FS. The global need to define normality: the 99th percentile value of cardiac troponin. *Clin Chem*. 2014 Mar;60(3):455–62.
 80. Hickman PE, Koerbin G, Potter JM, Abhayaratna WP. Statistical considerations for determining high-sensitivity cardiac troponin reference intervals. *Clin Biochem*. 2017 Jun;50(9):502–5.
 81. Eggers KM, Apple FS, Lind L, Lindahl B. The applied statistical approach highly influences the 99th percentile of cardiac troponin I. *Clin Biochem*. 2016 Oct;49(15):1109–12.
 82. Saenger AK, Beyrau R, Braun S, Cooray R, Dolci A, Freidank H, Giannitsis E, Gustafson S, Handy B, Katus H, Melanson SE, Panteghini M, Venge P, Zorn M, Jarolim P, Bruton D, Jarausch J, Jaffe AS. Multicenter analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2011 Apr 11;412(9–10):748–54.
 83. Fitzgerald RL, Hollander JE, Peacock WF, Limkakeng AT, Breitenbeck N, Rivers EJ, Ziegler A, Laimighofer M, deFilippi C. The 99th percentile upper reference limit for the 5th generation cardiac troponin T assay in the United States. *Clin Chim Acta Int J Clin*

Chem. 2020 May;504:172–9.

84. Giannitsis E, Mueller-Hennessen M, Zeller T, Schuebler A, Aurich M, Biener M, Vafaie M, Stoyanov KM, Ochs M, Riffel J, Mereles D, Blankenberg S, Katus HA. Gender-specific reference values for high-sensitivity cardiac troponin T and I in well-phenotyped healthy individuals and validity of high-sensitivity assay designation. *Clin Biochem.* 2019 Nov 28;
85. Zhang X, Han X, Zhao M, Mu R, Wang S, Yun K, Shang H. Determination of high-sensitivity cardiac troponin T upper reference limits under the improved selection criteria in a Chinese population. *J Clin Lab Anal.* 2019 Aug 16;e23007.
86. Mingels A, Jacobs L, Michielsen E, Swaanenburg J, Wodzig W, van Dieijen-Visser M. Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays. *Clin Chem.* 2009 Jan;55(1):101–8.
87. Koerbin G, Tate JR, Hickman PE. Analytical characteristics of the Roche highly sensitive troponin T assay and its application to a cardio-healthy population. *Ann Clin Biochem.* 2010 Nov;47(Pt 6):524–8.
88. Chenevier-Gobeaux C, Meune C, Blanc M-C, Cynober L, Jaffray P, Lefevre G. Analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay and its clinical assessment in acute coronary syndrome. *Ann Clin Biochem.* 2011 Sep;48(Pt 5):452–8.
89. Collinson PO, Heung YM, Gaze D, Boa F, Senior R, Christenson R, Apple FS. Influence of population selection on the 99th percentile reference value for cardiac troponin assays. *Clin Chem.* 2012 Jan;58(1):219–25.
90. Hammarsten O, Fu MLX, Sigurjonsdottir R, Petzold M, Said L, Landin-Wilhelmsen K, Widgren B, Larsson M, Johanson P. Troponin T percentiles from a random population sample, emergency room patients and patients with myocardial infarction. *Clin Chem.* 2012 Mar;58(3):628–37.
91. Koerbin G, Abhayaratna WP, Potter JM, Apple FS, Jaffe AS, Ravalico TH, Hickman PE. Effect of population selection on 99th percentile values for a high sensitivity cardiac troponin I and T assays. *Clin Biochem.* 2013 Nov;46(16–17):1636–43.
92. Fan LY, Yu P, Yu SS, Gu YY, Zong M, Cai Y, Liu ZM. Age-specific 99th percentile cutoff of high-sensitivity cardiac troponin T for early prediction of non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI) in middle-aged patients. *J Clin Lab Anal.* 2014 Jan;28(1):10–5.
93. Gore MO, Seliger SL, Defilippi CR, Nambi V, Christenson RH, Hashim IA, Hoogeveen

- RC, Ayers CR, Sun W, McGuire DK, Ballantyne CM, de Lemos JA. Age- and sex-dependent upper reference limits for the high-sensitivity cardiac troponin T assay. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Apr 15;63(14):1441–8.
94. Gaggin HK, Dang PV, Do LD, deFilippi CR, Christenson RH, Lewandrowski EL, Lewandrowski KB, Truong BQ, Pham VQ, Vu VH, Vu TV, Nguyen TB, Belcher AM, Femia A, Kelley C, Januzzi JL. Reference interval evaluation of high-sensitivity troponin T and N-terminal. *Clin Chem*. 2014 May;60(5):758–64.
95. Franzini M, Lorenzoni V, Masotti S, Prontera C, Chiappino D, Latta DD, Daves M, Deluggi I, Zuin M, Ferrigno L, Mele A, Marcucci F, Caserta CA, Surace P, Messineo A, Turchetti G, Passino C, Emdin M, Clerico A. The calculation of the cardiac troponin T 99th percentile of the reference population is affected by age, gender, and population selection: a multicenter study in Italy. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2015 Jan 1;438:376–81.
96. Kimenai DM, Henry RMA, van der Kallen CJH, Dagnelie PC, Schram MT, Stehouwer CDA, van Suijlen JDE, Niens M, Bekers O, Sep SJS, Schaper NC, van Dieijen-Visser MP, Meex SJR. Direct comparison of clinical decision limits for cardiac troponin T and I. *Heart Br Card Soc*. 2016 Apr;102(8):610–6.
97. Mueller T, Egger M, Leitner I, Gabriel C, Haltmayer M, Dieplinger B. Reference values of galectin-3 and cardiac troponins derived from a single cohort of healthy blood donors. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2016 May 1;456:19–23.
98. Ungerer JPJ, Tate JR, Pretorius CJ. Discordance with 3 Cardiac Troponin I and T Assays: Implications for the 99th Percentile Cutoff. *Clin Chem*. 2016 Aug;62(8):1106–14.
99. Ko D-H, Jeong T-D, Cho E-J, Lim J, Ji M, Lee K, Lee W, Yun Y-M, Chun S, Song J, Kwon K-C, Min W-K. The 99th percentile values of six cardiac troponin assays established for a reference population using strict selection criteria. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2017 Jan;464:1–5.
100. Gunsolus IL, Jaffe AS, Sexter A, Schulz K, Ler R, Lindgren B, Saenger AK, Love SA, Apple FS. Sex-specific 99th percentiles derived from the AACC Universal Sample Bank for the Roche Gen 5 cTnT assay: Comorbidities and statistical methods influence derivation of reference limits. *Clin Biochem*. 2017 Dec;50(18):1073–7.
101. Aw T-C, Huang W-T, Le T-T, Pua C-J, Ang B, Phua S-K, Yeo K-K, Cook SA, Chin CWL. High-Sensitivity cardiac Troponins in Cardio-Healthy Subjects: A Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging Study. *Sci Rep*. 2018 Oct 18;8(1):15409.

102. Kimenai DM, Janssen EBNJ, Eggers KM, Lindahl B, den Ruijter HM, Bekers O, Appelman Y, Meex SJR. Sex-Specific Versus Overall Clinical Decision Limits for Cardiac Troponin I and T for the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction: A Systematic Review. *Clin Chem*. 2018 Jul;64(7):1034–43.
103. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem*. 1971 Apr;17(4):275–84.
104. Krintus M, Kozinski M, Boudry P, Lackner K, Lefevre G, Lennartz L, Lotz J, Manysiak S, Shih J, Skadberg O, Chargui AT, Sypniewska G. Defining normality in a European multinational cohort: Critical factors influencing the 99th percentile upper reference limit for high sensitivity cardiac troponin I. *Int J Cardiol*. 2015;187:256–63.
105. Eggers KM, Lindahl B. Impact of Sex on Cardiac Troponin Concentrations-A Critical Appraisal. *Clin Chem*. 2017 Sep;63(9):1457–64.
106. Apple FS, Collinson PO. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012 Jan;58(1):54–61.
107. Michel M, Mestari F, Alkouri R, Gregory A, Dever S, Devilliers C, Imbert-Bismut F, Bonnefont-Rousselot D, Monneret D. High-Sensitivity Cardiac Troponin T: a Preanalytical Evaluation. *Clin Lab*. 2016;62(4):743–8.
108. Fitzgerald RL, Hollander JE, Peacock WF, Limkakeng AT, Breitenbeck N, Blechschmidt K, Laimighofer M, deFilippi C. Analytical performance evaluation of the Elecsys(R) Troponin T Gen 5 STAT assay. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2019 Aug;495:522–8.
109. Gillis JM, Dunselman P, Jarausch J, de Jong N, Cobbaert CM. Preanalytical storage does not affect 99th percentile cardiac troponin T concentrations measured with a high-sensitivity assay. *Clin Chem*. 2013 Feb;59(2):442–3.
110. Cardinaels EPM, Mingels AMA, Jacobs LHJ, Meex SJR, Bekers O, van Dieijen-Visser MP. A comprehensive review of upper reference limits reported for (high-)sensitivity cardiac troponin assays: the challenges that lie ahead. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Mar 16;50(5):791–806.
111. Elecsys® Troponin T Gen 5 STAT [Internet]. Diagnostics. [cited 2020 Apr 8]. Available from: <https://diagnostics.roche.com/us/en/products/params/electsys-troponin-t-high-sensitive-tnt-hs.html>
112. Collinson P, Hammerer-Lercher A, Suvisaari J, Apple FS, Christenson RH, Pulkki K, van Dieijen-Visser MP, Duff CJ, Baum H, Stavljenic-Rukavina A, Aakre KM, Langlois MR, Stankovic S, Laitinen P. How Well Do Laboratories Adhere to Recommended

- Clinical Guidelines for the Management of Myocardial Infarction: The CARdiac MARker Guidelines Uptake in Europe Study (CARMAGUE). *Clin Chem*. 2016 Sep;62(9):1264–71.
113. Reichlin T, Schindler C, Drexler B, Twerenbold R, Reiter M, Zellweger C, Moehring B, Ziller R, Hoeller R, Rubini Gimenez M, Haaf P, Potocki M, Wildi K, Balmelli C, Freese M, Stelzig C, Freidank H, Osswald S, Mueller C. One-hour rule-out and rule-in of acute myocardial infarction using high-sensitivity cardiac troponin T. *Arch Intern Med*. 2012 Sep 10;172(16):1211–8.
 114. Mueller C, Giannitsis E, Christ M, Ordonez-Llanos J, deFilippi C, McCord J, Body R, Panteghini M, Jernberg T, Plebani M, Verschuren F, French J, Christenson R, Weiser S, Bendig G, Dilba P, Lindahl B. Multicenter Evaluation of a 0-Hour/1-Hour Algorithm in the Diagnosis of Myocardial Infarction With High-Sensitivity Cardiac Troponin T. *Ann Emerg Med*. 2016 Jul;68(1):76-87.e4.
 115. Sandstede J, Lipke C, Beer M, Hofmann S, Pabst T, Kenn W, Neubauer S, Hahn D. Age- and gender-specific differences in left and right ventricular cardiac function and mass determined by cine magnetic resonance imaging. *Eur Radiol*. 2000;10(3):438–42.
 116. Westerman S, Wenger NK. Women and heart disease, the underrecognized burden: sex differences, biases, and unmet clinical and research challenges. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2016 Apr;130(8):551–63.
 117. Graham G. Acute Coronary Syndromes in Women: Recent Treatment Trends and Outcomes. *Clin Med Insights Cardiol*. 2016;10:1–10.
 118. Mueller-Hennessen M, Giannitsis E. Do we need to consider age and gender for accurate diagnosis of myocardial infarction? *Diagn Berl Ger*. 2016 Dec 1;3(4):175–81.
 119. Eggers KM, Jernberg T, Lindahl B. Prognostic Importance of Sex-Specific Cardiac Troponin T 99(th) Percentiles in Suspected Acute Coronary Syndrome. *Am J Med*. 2016 Aug;129(8):880.e1-880.e12.
 120. Mueller-Hennessen M, Lindahl B, Giannitsis E, Biener M, Vafaie M, deFilippi CR, Christ M, Santalo-Bel M, Panteghini M, Plebani M, Verschuren F, Jernberg T, French JK, Christenson RH, Body R, McCord J, Dilba P, Katus HA, Mueller C. Diagnostic and prognostic implications using age- and gender-specific cut-offs for high-sensitivity cardiac troponin T - Sub-analysis from the TRAPID-AMI study. *Int J Cardiol*. 2016 Apr 15;209:26–33.

121. Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, Masotti S, Prontera C, Passino C, Plebani M. The 99th percentile of reference population for cTnl and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*. 2017 Oct 26;55(11):1634–51.
122. Reiter M, Twerenbold R, Reichlin T, Haaf P, Peter F, Meissner J, Hochholzer W, Stelzig C, Freese M, Heinisch C, Breidhardt T, Freidank H, Winkler K, Campodarve I, Gea J, Mueller C. Early diagnosis of acute myocardial infarction in the elderly using more sensitive cardiac troponin assays. *Eur Heart J*. 2011 Jun;32(11):1379–89.
123. Sandoval Y, Smith SW, Apple FS. Present and Future of Cardiac Troponin in Clinical Practice: A Paradigm Shift to High-Sensitivity Assays. *Am J Med*. 2016 Apr;129(4):354–65.
124. Sze J, Mooney J, Barzi F, Hillis GS, Chow CK. Cardiac Troponin and its Relationship to Cardiovascular Outcomes in Community Populations - A Systematic Review and Meta-analysis. *Heart Lung Circ*. 2016 Mar;25(3):217–28.
125. Ndumele CE, Coresh J, Lazo M, Hoogeveen RC, Blumenthal RS, Folsom AR, Selvin E, Ballantyne CM, Nambi V. Obesity, subclinical myocardial injury, and incident heart failure. *JACC Heart Fail*. 2014 Dec;2(6):600–7.
126. Turkbey EB, McClelland RL, Kronmal RA, Burke GL, Bild DE, Tracy RP, Arai AE, Lima JAC, Bluemke DA. The impact of obesity on the left ventricle: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010 Mar;3(3):266–74.
127. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *Int J Cardiol*. 2016 Oct 15;221:609–21.
128. Mair J, Lindahl B, Muller C, Giannitsis E, Huber K, Mockel M, Plebani M, Thygesen K, Jaffe AS. What to do when you question cardiac troponin values. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018 Sep;7(6):577–86.
129. Biener M, Giannitsis E, Lamerz J, Mueller-Hennessen M, Vafaie M, Katus HA. Prognostic value of elevated high-sensitivity cardiac troponin T levels in a low risk outpatient population with cardiovascular disease. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2016 Oct;5(6):409–18.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marie Mazelka, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die 99. Perzentile des hochsensitiven Troponin T einer gesunden Referenzpopulation und dessen Einflussfaktoren“/„The 99th percentile of high-sensitivity troponin T in a healthy reference population and its factors of influence" selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung

Marie Mazelka hatte folgenden Anteil an den folgenden Postern:

Poster 1

A. Slagman, **M. Mazelka**, M. Möckel, J. Searle, M. Müller-Hennessen, E. Giannitsis: Reference values of high-sensitivity troponin T in a healthy reference population. European Society of Cardiology Congress, 2016, Rom, Italy, Posterpräsentation

Der Beitrag im Einzelnen bestand in der Mitarbeit bei der Datenaufbereitung und Datenauswertung und der Erstellung des Posters inklusive Abbildungen und Tabellen.

Poster 2

M. Mazelka, A. Slagman, M. Möckel, J. Searle, E. Giannitsis, M. Müller-Hennessen: Die 99. Perzentile von hochsensitivem Troponin T in einer gesunden Referenzpopulation. 49. Gemeinsame Jahrestagung Österreichische Gesellschaft für Internistische und Allgemeine Intensivmedizin und Notfallmedizin und Deutsche Gesellschaft für Internistische Intensivmedizin und Notfallmedizin, 2017, Innsbruck, Austria, Posterpräsentation

Der Beitrag im Einzelnen bestand in der Mitarbeit bei der Datenaufbereitung und Datenauswertung und der Erstellung des Posters inklusive Abbildungen und Tabellen und der Posterpräsentation.

Unterschrift der Doktorandin

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

- 08/16 A. Slagman, **M. Mazelka**, M. Möckel, J. Searle, M. Müller-Hennessen, E. Giannitsis: Reference values of high-sensitivity troponin T in a healthy reference population. European Society of Cardiology Congress, Rom, Italy, Poster
- 05/17 A. Slagman, M. Bolanaki, J. Frick, F. Holert, **M. Mazelka**, H.L. Neumeier, S. Rabsch, F. Ruggaber, J. Searle, C. Thomas, S. Toro, C. Werk-Wenzel, M. Mockel: Screening for the Improve Management of heart failure with Procalcitonin (IMPACT)-study. Heart Failure, Paris, France, Poster
- 06/17 **M. Mazelka**, A. Slagman, M. Möckel, J. Searle, E. Giannitsis, M. Müller-Hennessen: Die 99. Perzentile von hochsensitivem Troponin T in einer gesunden Referenzpopulation. 49. Gemeinsame Jahrestagung Österreichische Gesellschaft für Internistische und Allgemeine Intensivmedizin und Notfallmedizin und Deutsche Gesellschaft für Internistische Intensivmedizin und Notfallmedizin, Innsbruck, Austria, Poster

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Möckel sowohl für die Überlassung des Dissertationsthemas als auch für die kritische Durchsicht der Arbeit. Während der gesamten Zeit stand er mir mit seinem fundierten Wissen unterstützend zur Seite.

Desweiteren gilt mein Dank meiner Betreuerin Prof. Dr. rer. medic. Anna Slagman für ihre Expertise und ihre Geduld, mit der sie stets all meine offenen Fragen klärte.

Außerdem möchte ich mich beim Studienteam des Arbeitsbereichs „Notfallmedizin/Rettungsstellen der Charité Nord-Campi“ bedanken, das mich während meiner Zeit als Doktorantin und studentische Hilfskraft so herzlich aufgenommen und angelernt hat.

Zum Schluss möchte ich noch meiner Familie und Freunde meinen Dank aussprechen für ihre Unterstützung und die lieben Worte, die sie in schwierigen Phasen für mich fanden.