

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen
Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

**Untersuchungen über die normale Konstellation der
Kupfer- und Coeruloplasmin-Konzentrationen im
Serum des Menschen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Reta Pelz

aus

Braunschweig

2006

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Eife

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K.-S. Boos
Prof. Dr. M. Fischereder

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 23.03.2006

1. GLOSSAR	1
1.1. Abkürzungen	1
1.2. Formeln	3
2. EINLEITUNG	4
2.1 Kupfer als Spurenelement und Auslöser von Erkrankungen	4
2.2 Die Kupfervergiftungen der Gegenwart	4
2.3 Die Kupfer-Kompartimente im Serum des Menschen	5
2.4 Hypothesen und Zielstellung	6
3. METHODEN	8
3.1 Zahl und Herkunft der für die Untersuchungen verwendeten Kupfer- und Coeruloplasmin-Messungen	8
3.2. Methodik	10
3.2.1 Messanalytische Verfahren	10
3.2.2 Dokumentation der Daten	10
3.2.3 Deskriptive Statistik	11
3.2.4 Regressionsanalyse	11
3.3. Probleme bei der Auswertung der Messdaten	12
3.3.1 Messmethodische Probleme	12
3.3.2 Proben-bedingte Probleme	13
3.3.3 Krankheits- oder Patienten-bedingte Probleme	14
3.3.4 Stark abweichende Cu _{und} Cpl-Messungen	14
3.3.4.1 Definition und Erkennung stark abweichender Cu _{und} Cpl-Messungen	14
3.3.4.2 Entfernen stark abweichender Cu _{und} Cpl-Messungen aus den Datensätzen	19
4. ERGEBNISSE DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN	22
4.1 Untersuchungsserie Hannover 1988	24
4.1.1 Untersuchungen am Original-Datensatz der Studie Hannover 1988	24
4.1.1.1 Statistische Analysen - Beschreibung der Messwerte	24
4.1.1.2 Graphische Darstellung aller Cu _{und} Cpl-Messwertepaare	27
4.1.1.3 Die Regressionsanalyse der Studie H 1988	28
4.1.1.4 Berechnung des Anteils des nichtCplCu am gesCu in den Serumproben	29
4.1.2 Untersuchungen am Datenkollektiv der Serie Hannover 1988 nach Ausschluss der zwei Seren von Patienten mit letal verlaufener chronischer Kupfervergiftung	29
4.1.2.1 Statistische Analysen	30
4.1.2.2 Graphische Darstellung der Cu _{und} Cpl-Messungen mit Kennzeichnung der Messwertpaare der Cu-vergifteten Patienten	31
4.1.2.3 Regressionsanalyse	32
4.1.3 Zusammenfassende Bewertung der Studie H 1988	33
4.2 Die Untersuchungsserie A 2000/2001 (n = 400)	34
4.2.1 Die graphische Darstellung der Cu _{und} Cpl-Messwertepaare der Serie A 2000/2001	34
4.2.2 Die statistischen Analysen	37
4.2.2.1 Beschreibung der Cu _{und} Cpl-Messungen (Tabelle 4.2.2.1a und 4.2.2.1b)	37
4.2.2.2 Untersuchungen über das Verhältnis von Cu und Cpl in den Seren	38
4.2.2.3 Die Regressionsanalysen der Untersuchungsserie Augsburg	39

4.2.2.4 Methoden zur Erkennung stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare im Datenkollektiv	39
4.2.2.4.1 Verfahren zur Erkennung stark abweichender Cu _{und} Cpl-Messungen, definiert durch ΔCu_{REGR} (Tab. 4.2.2.4)	40
4.2.2.4.2 Der Einfluss abweichender Cu _{und} Cpl-Messwertepaare, definiert durch $\Delta Cu_{MedianCu/Cpl-Q}$ (Tab. 4.2.2.4.2)	47
4.2.3 Bewertung der Ergebnisse der Untersuchungsserie Augsburg	50
4.2.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen aus der Untersuchungsserie „Augsburg“	52
4.3 Die Untersuchungsserie „M 1998 01-06“ (n = 230)	54
4.3.1 Statistische Analysen des kompletten Datensatzes	54
4.3.2 Graphische Darstellung	56
4.3.3 Regressionsanalysen an den 230 Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren der Studie M 1998	56
4.3.3.1 Regressionsanalysen nach Entfernen von stark abweichenden Cu_{und}Cpl-Messungen	57
4.3.3.1.1 Cu _{und} Cpl-Messungen mit stark abweichendem ΔCu_{REGR}	57
4.3.3.1.2 Entfernen von Cu _{und} Cpl-Messungen mit ΔCu_{REGR} außerhalb der Sigma-Bereiche	60
4.3.3.1.3 Entfernen von Cu _{und} Cpl-Messungen mit ΔCu_{REGR} außerhalb der Perzentilen	61
4.3.3.1.4 Bestimmen und Entfernen von Cu _{und} Cpl-Messungen mit stark abweichendem $\Delta Cu_{MedianCu/Cpl-Q}$	63
4.3.4 Bewertung der Untersuchungsserie M 1998	66
4.4 Untersuchungen über die Ursachen der Nicht-Kompatibilität verschiedener Cu und Cpl-Messwerteserien (n, insgesamt = 872)	67
4.4.1 Untersuchungen an zusammengeführten Serien von Messungen ohne Angleichung der Cpl-Messwerte	71
4.4.1.1 Die graphische Darstellung der vereinigten Cu _{und} Cpl-Messwertepaare aus den Serien H, M und A	71
4.4.1.2 Statistische Analysen	72
4.4.1.3 Regressionsanalyse	72
4.4.2 Zusammenführen der Messdaten der drei Studien A, M, H nach Anpassen der Cpl-Messwerte	72
4.4.2.1 Graphische Darstellung der vereinigten Cu _{und} Cpl-Messwertepaare	72
4.4.2.2 Statistische Analysen	73
4.4.2.3 Regressionsanalyse	74
4.4.3 Bewertung	76
4.5 Untersuchungen über den Einfluss abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare auf die Analysen	77
4.5.1 Der Einfluss einiger weniger stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare auf die Analysen	77
4.5.1.1 Ergebnisse	78
4.5.1.2 Bewertung	81
4.5.2 Der Einfluss schwach abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare auf die Analysen	81
4.5.2.1 Methodisches Vorgehen	82
4.5.2.2 Ergebnisse	82
4.5.2.3 Bewertung	85
4.5.3 Schlussfolgerungen aus den Studien 4.5	85
4.6 Studie Göttingen	86
4.7 Die „Australische Studie“	87
5. DISKUSSION	91
5.1. Ziele der Arbeit	91
5.2 Die eigenen Untersuchungsergebnisse - Prüfung der Hypothesen	92
5.2.1 Prüfung der Hypothese I	92
5.2.2. Prüfung der Hypothese II	92
5.3.3. Prüfung der Hypothese III	93
5.3. Untersuchungsbefunde anderer Untersucher	94
5.3.1 Angaben über das nichtCplCu	94
5.3.2 Angaben über den Cu/Cpl-Koeffizienten	95

5.4. Erörterung der hier entwickelten Testmethoden	97
5.5. Anwendung der entwickelten Testmethode an veröffentlichter Daten	101
5.6. Kommentar zu den Normwerten von Cu und Cpl im Serum	105
5.7 Praktisches Vorgehen bei der Bewertung von Cu- und Cpl-Messwerten	105
5.8 Probleme bei der Gewinnung der Stichproben für die eigenen Untersuchungen	107
6. ZUSAMMENFASSUNG	109
7. LITERATURVERZEICHNIS	113
8. DANKSAGUNG	117
9. PERSÖNLICHE DATEN UND TABELLARISCHER LEBENS LAUF	118

1. Glossar

1.1. Abkürzungen

In dieser Arbeit werden folgende Bezeichnungen und Abkürzungen verwendet:

Cpl	Coeruloplasmin Konzentrations-Einheiten in mg/dl oder $\mu\text{mol/l}$
Cpl _{IST}	gemessene (IST-) Konzentration des Coeruloplasmins
Cu	Kupfer Konzentrations-Einheiten in $\mu\text{g/dl}$ oder $\mu\text{mol/l}$
Cu _{IST}	gemessene Konzentration des Kupfers
Cu _{SOLL}	erwartete Konzentration des Kupfers = eine berechnete Größe
Cu _{SOLL-Regr}	mit Hilfe des Cu/Cpl-Koeffizienten und des nichtCplCu (Ergebnisse der Regressionsanalyse) berechnete Soll- Konzentration des Kupfers
Cu _{SOLL-MedianCu/Coer-Q}	mit Hilfe des Medians der Cu/Cpl-Quotienten annäherungsweise berechnete Soll-Konzentration des Kupfers
Cu/Cpl-Koeffizient	Kupfer-Coeruloplasmin-Koeffizient = b-Wert (Steigung) der linearen Regressionsgeraden = die errechnete mittlere Zahl der Kupfer-Atome pro Cpl- Molekül; eine Konstante, die jedoch abhängig von der analytischen Methode (Labor-abhängig) variieren kann; Einheit: $\mu\text{molCu/l} / \mu\text{molCpl/l}$
Cpl * Cu/Cpl-Koeffizient	Die mittlere Konzentration des an Coeruloplasmin gebundenen Kupfers im Serum; = Zahl der Kupferatome gebunden an die Gesamtheit aller Coeruloplasmin-Moleküle pro Volumeneinheit im Serum = Kupferkonzentration im Cpl-Kompartiment des Serums = eine berechnete Größe mit der Einheit mol/l bzw. $\mu\text{mol/l}$
gesCu	Gesamt-Kupferkonzentration des Serums, eine Messgröße mit der Einheit: $\mu\text{g/dl}$ oder $\mu\text{mol/l}$; entspricht dem Cu _{IST}
deltaCu = ΔCu	Differenz zwischen der gemessenen Kupferkonzentration (Cu _{IST}) und der berechneten Kupferkonzentration im Serum (Cu _{SOLL}) = eine berechnete Größe mit der Einheit: $\mu\text{mol/l}$
ΔCu	deltaCu, siehe dort
$\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	ΔCu berechnet mit Hilfe des Medians der Cu/Cpl-Quotienten
$\Delta\text{Cu}_{\text{MWCu/Cpl-Q}}$	ΔCu berechnet mit Hilfe des Mittelwerts der Cu/Cpl-Quotienten
$\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$	ΔCu = Residuum, berechnet mit Hilfe der durch die lineare Regressionsanalyse ermittelten Werte nichtCplCu und Cu/Cpl- Koeffizient, sowie Cpl _{IST} in der Formeln: $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}} = \text{Cu}_{\text{IST}} -$ (nichtCplCu + Cpl _{IST} * Cu/Cpl-Koeff.)

nichtCplCu	das nichtCoeruloplasmin-Kupfer; = das Kupfer im "nichtCoeruloplasmin-Kompartiment" des Serums = der "a-Wert" = y-Achsenabschnitt der Regressionsgeraden
Cu/Cpl-Quotient	Quotient von Cu ($\mu\text{mol/l}$) und Cpl ($\mu\text{mol/l}$) im Serum; Einheit: $\mu\text{molCu/l} / \mu\text{molCpl/l}$ = die rechnerisch ermittelte Zahl der auf jedes Cpl-Molekül entfallenden Cu-Atome in einem Serum ohne Zuordnung dieser zum Cpl- oder nichtCpl-Kupferkompartiment des untersuchten Serums
Median _{Cu/Cpl-Q}	Median aller Cu/Cpl-Quotienten der Seren einer Untersuchungsserie
Cu _{und} Cpl-Messung	Bestimmung der Konzentrationen von Cu und Cpl in ein und demselben Serum (Parallel- oder Simultan-Messung von Cu und Cpl); jede solche Messung wird als Messwertepaar bezeichnet
Kuprismus	Kupfervergiftung
Hypercuprosis	Überladung des Körpers mit Kupfer
Hypercuprämie	über die Norm erhöhte Kupferkonzentration im Blut
Hypercupraemia vera	echte Hypercuprämie = echter Kupferüberschuss im Serum = Überschuss an Kupfer im nichtCplCu-Kompartiment (z.B. bei Kupfervergiftung, Morbus Wilson oder mit Cholestase einhergehenden Lebererkrankungen)
Hypercupraemia simplex	einfache oder „falsche“ Hypercupraemia = scheinbarer Kupferüberschuss im Serum = proportionale Erhöhung von Cu und Cpl im Serum (z.B. Beispiel bei infektiösen und malignen Erkrankungen oder in der Schwangerschaft)
Md	Median
MW	Mittelwert
StAbw	Standardabweichung
StAbwMW	Standardabw. vom Mittelwert (Standard Error of the Mean)
Min	Minimum
Max	Maximum

1.2. Formeln

Formeln zur Berechnung des Cu_{SOLL}

$$Cu_{SOLL}^{MedianCu/Cpl-Q.} = Median_{Cu/Cpl-Quotient} * Cpl_{IST}$$

$$Cu_{SOLL}^{Regr} = nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeff. * Cpl_{IST}$$

Formeln zur Berechnung des ΔCu

$$\Delta Cu_{MedianCu/Cpl-Q.} = Cu_{IST} - Cu_{SOLL}^{MedianCu/Cpl-Q.} \text{ oder } Cu_{IST} - Median_{Cu/Cpl-Quotient} * Cpl_{IST}$$

$$\Delta Cu_{REGR} = Cu_{IST} - Cu_{SOLL}^{Regr.} \text{ oder } Cu_{IST} - (nichtCplCu + CplCu * Cpl_{IST})$$

Formeln zur linearen Regressionsanalyse

$$(Y = a + b * X)$$

$$gesCu = nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl$$

In dieser Arbeit gilt:

$$a = nichtCplCu$$

dieser Wert gibt an, wie viel Kupfer ($\mu\text{mol/l}$) alle untersuchten Serumproben im Mittel enthalten würden, wenn sie frei wären von Cpl;

dieser Wert entspricht dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Ordinate = intercept der Regressionsgeraden

$$b = Cu/Cpl-Koeffizient$$

dieser Wert gibt an, wie viele Kupferatome im Mittel einem Coeruloplasmin-Molekül zugeordnet werden können

dieser Wert repräsentiert die Steigung der Regressionsgeraden

dieser Wert multipliziert mit der Cpl-Konzentration in einem bestimmten Serum ($\mu\text{mol/l}$) ergibt dessen SOLL-Kupfergehalt im CplCu-Kompartiment

2. Einleitung

2.1 Kupfer als Spurenelement und Auslöser von Erkrankungen

Kupfer gehört zu den für den Menschen essentiellen Spurenelementen. Es ist Bestandteil einer Reihe von Cuproproteinen, die im Organismus als Strukturproteine oder als Enzyme dienen. Kupfer als Element kann im Körper nicht abgebaut werden, so dass zwischen seiner Aufnahme und seiner Ausscheidung ein Gleichgewicht bestehen muss. Dies gilt jedoch nicht für das Kind, insbesondere nicht für den Säugling, denn im wachsenden Organismus muss die Kupferbilanz positiv, d.h. die Aufnahme größer als die Ausscheidung sein, da das zum Organaufbau verwendete Kupfer im wachsenden Organismus verbleibt.

Die Kupfer-Homöostase wird durch eine überhöhte Zufuhr gestört. Der Körper kann einer erhöhten Zufuhr einerseits eine erhöhte Ausscheidung und andererseits eine erhöhte Speicherung von Kupfer in verschiedenen Organen entgegensetzen. Werden die Maxima der Ausscheidungs- und Speicherkapazität überschritten, kommt es zur Überladung und konsekutiv zur Vergiftung durch Kupfer. Diese wird erkenn- oder messbar einerseits durch eine pathologische Akkumulation von Kupfer in Körpergeweben oder –flüssigkeiten und andererseits durch die primären und sekundären kupferinduzierten Organschäden. (Walker-Smith J., Blomfield J., 1973; Eife et al., 1999; Turnlund et al., 2004; Turnlund et al., 2005; Araya et al., 2005).

2.2 Die Kupfervergiftungen der Gegenwart

Kupfervergiftungen sind seit den 70er Jahren des letzten Jahrhunderts in den Industrieländern insbesondere bei Kindern erkannt worden als Erkrankungen, die ausgelöst wurden durch Kupfer im Trinkwasser aus kupfernen Wasserleitungen. Tödlich verlaufene Vergiftungen sind beobachtet worden in Ländern wie den USA, Irland, Italien, Australien, Großbritannien, Japan und in größerer Zahl in Deutschland. In der Vergangenheit sind gleiche Erkrankungen aufgetreten in Ländern, in denen unverzinnertes Bronze- und Kupfergeschirr zum Erhitzen oder Aufbewahren von Milch verwendet wurde (z.B. in Indien und Tirol).

Die chronische Kupfervergiftung konnte bisher klinisch nicht sicher diagnostiziert werden, weil sich die Diagnose auf den Nachweis einer speziellen Form einer Leberzirrhose oder –fibrose (die sog. Indian Childhood Cirrhosis) stützte. Das bedeutete aber, dass die Kupfervergiftung nur im Final- oder Präfinalstadium und dann nur durch eine Autopsie oder eine Leberbiopsie diagnostiziert werden konnte. Dies war aus klinischer Sicht eine unbefriedigende Situation.

Ausgehend von der Annahme, dass Kupfer bei einer chronischen Vergiftung im gesamten Organismus und somit auch im Blut im Überschuss vorhanden sein muss, wird in dieser Arbeit untersucht, wie eine Hypercuprämie nachgewiesen werden kann. Dabei geht es nicht um die Bestimmung der (Gesamt-)Kupferkonzentration im Blut, sondern vielmehr um die Messung oder Bestimmung der Kupferkonzentrationen in den Kupferkompartimenten des Blutserums. Diese Kompartimente werden deshalb im Folgenden zunächst beschrieben.

2.3 Die Kupfer-Kompartimente im Serum des Menschen

Coeruloplasmin-Kupfer (Cpl-Cu)

Das Kupfer im Serum lässt sich – schematisch - zwei Kompartimenten zuordnen:

Der größere Anteil des Kupfers befindet sich im sogenannten CplCu-Kompartiment. Das Kupfer dieses Kompartiments ist fest an das Cuproprotein Coeruloplasmin gebunden (besser: in das Coeruloplasmin-Molekül integriert); dieses Kupfer wird in dieser Arbeit als das Coeruloplasmin-Kupfer (Cpl-Cu) bezeichnet.

nichtCoeruloplasmin-Kupfer (nichtCplCu)

Ein kleinerer, allerdings in seiner Größe nicht exakt definierter Anteil des Kupfers ist in lockerer Form an Albumin und Aminosäuren gebunden, dem sogenannten nichtCplCu-Kompartiment. Diesem zugerechnet werden muss z.B. das Kupfer in anderen Cuproproteinen des Serums, wie z.B. im Gerinnungsfaktor VIII. Die Gesamtheit des Kupfers in diesem Kompartiment wird hier als das nichtCoeruloplasmin-Kupfer (nichtCplCu) bezeichnet.

Über die quantitative Verteilung des Serum-Kupfers auf diese beiden Kompartimente gibt es keine einheitlichen Ansichten. Eine ausführliche Besprechung dieser erfolgt in Kapitel 5.

2.4 Hypothesen und Zielstellung

Der Anteil des nichtCplCu am Gesamt-Kupfer des Serums (gesCu) wird - je nach Autor - zwischen <1% bis zu 40% angegeben (Kleinbaum H., 1968; Wirth PL., Linder MC., 1985; Poulik, Weiss, 1975). Diese Anteile wurden mittels verschiedener statistischer Methoden errechnet. Mittels hochempfindlicher, laborchemischer Methoden konnte die Arbeitsgruppe von Evans kein nichtCplCu (nichtCplCu <0,6%) (Evans PJ et al., 1989) nachweisen. Aus dieser Divergenz ergibt sich:

I. Hypothese:

„Unter normalen Bedingungen lassen sich im Serum des Menschen keine signifikanten Konzentrationen von nichtCplCu nachweisen“.

In Zusammenhang mit Hypothese I und der Bedingung, dass es eine feste Anzahl von Bindungsstellen für Kupfer im Coeruloplasminmolekül gibt und diese immer besetzt sind, gilt die zweite der hier zu prüfenden Hypothesen:

II. Hypothese:

„Die Cu- und Cpl- Konzentrationen im Serum des Menschen stehen in einem festen, positiven linearen Verhältnis zueinander“.

Der Kupfergehalt des Coeruloplasminmoleküls wird ebenfalls uneinheitlich angegeben. Die Angaben schwanken zwischen sechs bis neun Atomen Kupfer pro Molekül Coeruloplasmin. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch einheitliche Befunde, dass in jedes Coeruloplasminmolekül sechs Atome Kupfer strukturell fest integriert sind (Curzon G., Vallet L., 1959, Tutor et al., 1982). Daraus ergibt sich die dritte in dieser Arbeit zu prüfende Hypothese:

III. Hypothese:

„Das Coeruloplasminmolekül im Serum des Menschen enthält konstant sechs Atome Kupfer“.

Trifft diese dritte Hypothese zu, muss unter normalen Bedingungen die Kupfermenge im Coeruloplasmin-Kompartiment eines jeden Serums dem Produkt aus Coeruloplasmin (in mol/l) multipliziert mit der Zahl 6 entsprechen. Ein solches Ergebnis würde die zweite Hypothese (lineare Abhängigkeit zwischen den CplCu- und den Cpl-Konzentration im Serum der Menschen) nicht nur bestätigen, sondern auch spezifizieren: Regressionsanalysen müssten dann für die Steigung der Regressionsgeraden, den Kupfer-Coeruloplasmin-Koeffizienten

(Cu/Cpl-Koeffizient) einen Wert von 6 ($6 \mu\text{molCu/l} / 1 \mu\text{molCoer/l}$) ergeben: 6 Atome Kupfer entfallen auf ein Molekül Coeruloplasmin.

Wenn sich eine solche gesetzmäßige Verteilung und Zuordnung des Kupfers zum Coeruloplasmin nachweisen ließe, ergäbe sich die Möglichkeit, Seren auf einen Kupferüberschuss (Hypercuprämie), d.h. auf signifikante Konzentrationen des nichtCplCu hin zu untersuchen und dadurch Hinweise auf eine Kupfervergiftung zu erhalten.

Die drei Hypothesen werden in dieser Arbeit anhand von Kupfer- und Coeruloplasmin Messungen im Serum von kranken und gesunden Menschen überprüft. Mit Absicht wurden nicht nur Messungen in Seren von Gesunden, sondern auch in Seren kranker Menschen erfasst. Ein solches Vorgehen schien uns einerseits notwendig, andererseits aber auch mit Risiken verbunden. Notwendig ist ein solches Vorgehen deshalb, weil sich ohne breit gestreute Werte (hohe und niedrige Cu und Cpl- Konzentrationen) keine für Regressionsanalysen geeigneten Messwertepaare erhalten lassen. Mit Risiken verbunden ist ein solches Vorgehen deshalb, weil bei Anwesenheit von pathologischen Messwertepaaren, Messungen also mit einem stark abweichenden Einzelwert (Cu oder Cpl), die normalen oder physiologischen Verhältnisse in einem Datenkollektiv verdeckt, d.h. den statistischen Analysen verborgen bleiben können.

Deshalb werden in dieser Arbeit verschiedenste Methoden der Datenanpassung auf die Anwendbarkeit zur Detektion von Extremwerten in den verschiedenen Datensätzen untersucht. Durch statistische Verfahren wurde einerseits die normale Konstellation der Cu- und Cpl- Konzentrationen im Serum des Menschen annäherungsweise ermittelt zum anderen wurden Verfahren entwickelt, mit denen abweichende Cu- oder Cpl-Konzentrationen in Messwertepaaren sicher erkannt werden können.

3. Methoden

3.1 Zahl und Herkunft der für die Untersuchungen verwendeten Kupfer- und Coeruloplasmin-Messungen

In dieser Arbeit werden die Ergebnisse von Kupfer- und/oder Coeruloplasmin-Messungen im Serum von Kindern und Erwachsenen retrospektiv ausgewertet. Die Messwerte stammten aus fünf Laboratorien in fünf Städten in Deutschland, sie werden im Folgenden kurz beschrieben.

Untersuchungsserie München: Die meisten der dieser Arbeit zugrunde liegenden Messwerte stammen von Patienten aus dem Dr. von Haunerschen Kinderspital in München. Die Messwerte aus den Jahren 1978 bis 1999 wurden zum größten Teil den archivierten Laborbüchern oder Patientenakten entnommen. Für die Analysen in den Jahren 2000 und 2001 standen die Messwerte aus den Laboratorien im Intranet der Klinik zur Verfügung. Zur Auswertung kamen hier Messwerte von 354 Serumproben.

Untersuchungsserie Hannover: Messwerte aus dem Jahr 1988 wurden uns freundlicherweise von Prof. W.-R. Külpmann, dem Direktor des Biochemischen Institutes der Medizinischen Hochschule Hannover, zur Analyse überlassen. Es wurden insgesamt 254 Seren untersucht.

Untersuchungsserie Stuttgart: Messwerte aus den Jahren 1997, 1998 und 1999 wurden uns freundlicherweise von Dr. Rudolf Alkier, Institut für medizinische Virologie und Infektionsepidemiologie Stuttgart, zur Analyse überlassen. Es wurden insgesamt in 271 Seren Cu_{undCpl} -Messungen durchgeführt.

Untersuchungsserie Augsburg: Die Analysen der Untersuchungsserie A ($n = 400$) wurden im Zentrallaboratorium des Zentralkrankenhauses Augsburg in den Jahren 2000 und 2001 durchgeführt.

Untersuchungsserie Göttingen: In Göttingen wurden Blutseren von Kindern im ersten, zweiten und dritten Lebensjahr untersucht, die in Haushalten lebten, in denen das Trinkwasser (aus Kupferleitungen) mit 0,8 mg Cu/l und mehr (der höchste gemessene Wert lag bei 4,2 mg Cu/l) belastet war. Es wurden nur Kinder untersucht, die als Säuglinge pro Tag mindestens 200 ml des Trinkwassers getrunken hatten. Es handelt sich also in der Göttinger Studie nicht um Patienten wie in den vier anderen Studien. Insgesamt standen uns Messwerte aus 132 Seren zur Verfügung.

Insgesamt standen 1411 Messungen aus fünf Laboratorien für die Auswertungen zur Verfügung. Von diesen waren 1239 Simultan- oder Parallel-Messungen, Messungen also bei denen die Bestimmung von Cu und Cpl in ein und derselben Serumprobe vorgenommen worden war, so dass sich Messwertpaare ergaben. Nur diese Messungen, die hier als "Cu_{und}Cpl-Messungen" bezeichnet werden, wurden für die endgültigen Analysen dieser Arbeit verwendet.

Die in dieser Arbeit auf ihren Cu-und Cpl-Gehalt untersuchten Seren stammten von Patienten mit neurologischen, psychiatrischen, gastrointestinalen, hepatologischen, nephrologischen, hämatologischen, onkologischen und Infektions-Krankheiten, sowie von Patienten mit vermuteter bzw. nachgewiesener (exogener) Kupfervergiftung und mit endogenen Kupferstoffwechselstörungen (Morbus Wilson, Menkes Disease), und von gesunden Angehörigen der Patienten, die im Rahmen von Familienuntersuchungen mituntersucht worden waren, sowie in der Klinik beschäftigte Personen.

Die Messwerte der Seren aus den Laboratorien Stuttgart, Hannover und Augsburg wurden uns kodierte überlassen, so dass sie mit keinem Patienten und keiner Diagnose identifiziert werden konnten. Zwei Messwerte aus dem Laboratorium Hannover waren dem Dokumentations- und Informationszentrum für Kupfervergiftungen in Deutschland im Dr. von Haunerschen Kinderspital München allerdings aus den Akten der betroffenen (tödlich kupfervergifteten) Kinder bekannt, sie konnten deshalb identifiziert werden (siehe Kapitel 4.1 „Ergebnisse“).

Die Messwerte der Seren aus dem Laboratorium München stammten von Patienten, zu deren Krankenakten wir Zugang hatten. Da in dieser Arbeit jedoch nur die Gesamtheit aller und nicht die Ergebnisse einzelner Messungen ausgewertet werden (Ausnahmen sind im Kapitel 4 „Ergebnisse“ besonders vermerkt), bleiben Erkrankungen der einzelnen Patienten unberücksichtigt.

Von einigen Datensätzen war uns bekannt, dass sie Messwertpaare aus Mehrfachuntersuchungen bei ein und derselben Person zu verschiedenen Zeitpunkten enthielten. Von den uns codierte überlassenen Datensätzen war uns dies nicht bekannt. Um alle Datensätze gleich zu behandeln, haben wir deshalb die Messwertpaare der wiederholten Untersuchungen in den Datensätzen belassen, obwohl dies zu einer Übergewichtung der Daten einzelner Patienten hat führen können.

3.2. Methodik

3.2.1 Messanalytische Verfahren

Das vom Patienten abgenommene Blut wurde im Labor abgesert und das Coeruloplasmin innerhalb von 48 Stunden und Kupfer innerhalb von 7 Tagen bestimmt, die überwiegende Zahl der Proben wurden am Tag der Blutabnahme analysiert.

Messanalytische Verfahren der Untersuchungsserie München

Die quantitative Bestimmung von Kupfer:

Kupfer wurde bis zum 30.9.1999 photometrisch (nach Landers und Zak) mit dem Farbreagenz Bathocuproindisulfonsäure-Dinatriumsalz (Merckotest, Fa. Merck) und ab 1.10.1999 photometrisch (nach Landers und Zak) mit dem Farbreagenz 4-(3,5-Dibrom-2-pyridylazo)-N-sulfopropylanilin (PAESA) bestimmt.

Die quantitative Bestimmung von Coeruloplasmin:

Coeruloplasmin wurde bis zum 21.1.1999 mittels kinetischer Immun-Nephelometrie nach Beckman (Beckman Coulter, München) und ab 22.1.1999 mittels Immuno-Turbidimetrie nach Cobas Integra700 (Roche Diagnostik, Stuttgart) bestimmt.

Messanalytische Verfahren der Untersuchungsserien Hannover, Stuttgart, Augsburg und Göttingen

Kupfer wurde mittels Flammen-Atom-Absorptions-Spektroskopie (Flammen-AAS) und Coeruloplasmin immun-nephelometrisch gemessen (Behring- Nephelometer, Behring: BNA II).

3.2.2 Dokumentation der Daten

Für die Datensammlung und Bearbeitung verwendeten wir die Rechenprogramme Microsoft Excel und SPSS.

Für jede der oben beschriebenen Untersuchungsserie legten wir eine eigene EXCEL-Datei an, in der dann jede Serumprobe eine eigene Zeile erhielt. In diese wurde eingegeben: Name bzw. die verschlüsselte Kennzeichnung des Patienten und sein Geburtsdatum, das Datum der Blutabnahme, der Einsender der Probe bzw. die Fundstelle der Laborwerte (s.o.) und - soweit bekannt - die Diagnose; die Messwerte von Kupfer wurden in $\mu\text{g/l}$ und $\mu\text{mol/l}$ und die von Coeruloplasmin in mg/l und $\mu\text{mol/l}$ eingegeben. Die Umrechnungen der Messwerte von $\mu\text{g/l}$ bzw. mg/l in $\mu\text{mol/l}$ erfolgten nach den Formeln:

$\text{Cu in } \mu\text{g/dl} / 6,35 = \text{Cu in } \mu\text{mol/l}$ (Atomgewicht von Cu: 63,54 D) und

$\text{Cpl in mg/dl} / 13,2 = \text{Cpl in } \mu\text{mol/l}$ (Molekulargewicht von Cpl: 132 kD)

Die Eingaben in die Tabellen (Excel) erfolgten nach folgendem Schema:

Spalte 1: Name (bzw. Code) des Patienten (bei wiederholten Untersuchungen auch deren fortlaufende Nummer)

Spalte 2: Vorname

Spalte 3: Geburtsdatum

Spalte 4: Alter der Patienten am Untersuchungstag

Spalte 5: Einsender der Probe

Spalte 6: Datum der Untersuchung

Spalte 7: Cu-Messwert

Spalte 8: Cu-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$

Spalte 9: Cpl-Messwert

Spalte 10: Cpl-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$

3.2.3 Deskriptive Statistik

Durch statistische Analysen wurden mit Hilfe der „Deskriptiven Statistik“ des Statistikprogramms SPSS berechnet: Mittelwert (MW), Median, Standardabweichung (StAbw), Standardabweichung des Mittelwerts (StAbwMW), Minimum (Min) und Maximum (Max).

3.2.4 Regressionsanalyse

Um die mittlere Kupferkonzentration im nichtCplCu-Kompartiment (nichtCplCu) und den mittleren Cu/Cpl-Koeffizienten zu ermitteln, haben wir lineare Regressionsanalysen durchgeführt. In der Formel für die lineare Regression mit einer unabhängigen Variablen „Y = a + b * X“ steht die unabhängige Variable X für das Cpl und die abhängige Variable Y für das Cu; die Konstante „a“ entspricht dem nichtCplCu und die Konstante „b“ dem Cu/Cpl-Koeffizienten. Das gesCu im Serum entspricht dann der Summe des Cu in den beiden Cu-Kompartimenten: nichtCplCu (= a) plus Cpl-Cu (= b * X = Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl).

$$\begin{array}{rclclcl}
 \mathbf{Y} & = & \mathbf{a} & + & \mathbf{b} & * & \mathbf{X} \\
 \mathbf{gesCu} & = & \mathbf{a} & + & \mathbf{b} & * & \mathbf{Cpl} \\
 \mathbf{gesCu} & = & \mathbf{nichtCplCu} & + & \mathbf{Cu/Cpl-Koeffizient} & * & \mathbf{Cpl} \\
 & & \mathbf{nichtCplCu} & + & \mathbf{Cpl-Cu} & &
 \end{array}$$

Der Wert "a" (hier = nichtCplCu) steht für den y-Achsen-Schnittpunkt (intercept) und entspricht dem Anteil des Kupfers im Serum, der nicht Coeruloplasmin assoziiert ist (nichtCplCu), er gibt den Kupfergehalt der Seren bei Abwesenheit von Coeruloplasmin an.

Der Wert "b" (hier = Cu/Cpl-Koeffizient) steht für die Steigung (slope) der Regressionsgeraden und entspricht der Zahl der Kupferatome, die in das Coeruloplasmin-Molekül integriert sind.

Erwartete Werte:

In neueren Veröffentlichungen (Evans et al., 1989) werden für das nichtCplCu niedrige Absolutwerte (wenige $\mu\text{mol/l}$) oder niedrige Relativwerte (wenige Prozent) angegeben.

Aus diesen Gründen darf man erwarten, dass unter normalen klinischen Bedingungen das Serum eines Menschen (sei er gesund oder erkrankt) ein nichtCplCu aufweist, dessen Konzentration sehr niedrig ist.

Wenn dies tatsächlich der Fall wäre, würde die Formel annäherungsweise lauten:

$$\text{gesCu} \approx \mathbf{b * Cpl = Cu/Cpl -Koeffizient * Cpl}$$

In fast allen neueren Untersuchungen wird die Zahl der in das Cpl-Molekül inkorporierten Kupferatome mit sechs angegeben. Demnach wäre gültig die Formel:

$$\text{gesCu} \approx \mathbf{6 * Cpl}$$

3.3. Probleme bei der Auswertung der Messdaten

3.3.1 Messmethodische Probleme

Wie in Kapitel 3.2 beschrieben wurden im Laboratorium München im Verlauf der Arbeit die Messmethoden gewechselt, die Cpl-Messmethode am 22. Januar 1999 und die Cu-Messmethode am 1. Oktober 1999. Auf den Wechsel vom 22. Januar 1999 (Cpl) folgte ein genereller Anstieg der Cu/Cpl-Quotienten: deren Median erhöhte sich von 6,8 auf 10,0. Die Vermutung, der Anstieg könnte auf niedrigere Cpl-Messwerte zurückzuführen sein, ließ sich durch parallel mit der neuen und der alten Messmethode durchgeführte Analysen bestätigen: nach dem Wechsel der Methoden lagen die Mediane der Cpl-Messwerte um 40% niedriger.

In der folgenden Tabelle werden vergleichend die Messergebnisse von zwei Patienten wiedergegeben, deren Seren die Cpl-Messungen mit Methode I (alt) und Methode II (neu) parallel erfolgten.

Tabelle 3.3.1: Messergebnisse von vergleichenden Untersuchungen der Seren von zwei Patienten mit unterschiedlichen Cpl-Messmethoden.

Patient	Cpl $\mu\text{mol/l}$ Methode I	Cpl $\mu\text{mol/l}$ Methode II	Cu $\mu\text{mol/l}$	Cu/Cpl-Q für I	Cu/Cpl-Q für II
Oe.D.	4,89	3,67	25,5	5,22	6,95
Si.R.	3,56	2,95	21,5	6,01	7,25

Die Gegenüberstellung dieser mit zwei Methoden gemessenen Werte (für Cpl) zeigt, dass die mit Methode II gemessenen Cpl-Konzentrationen deutlich unter den mit Methode I gemessenen liegen. Die Cu/Cpl-Quotienten liegen bei Messmethode II entsprechend höher.

Diese Beobachtung lieferte die Erklärung dafür, dass wir – ohne zunächst vom Methodenwechsel im Labor zu wissen – für alle ab dem 22.1.1999 untersuchten Patienten erhöhte Cu/Cpl-Quotienten und – auf der Basis der bis zu dem Zeitpunkt gültigen Cu/Cpl-Koeffizient erhöhte ΔCu -Werte berechnet haben.

Diese im Zusammenhang mit dem Wechsel des Laboratoriums bzw. der Messmethoden gemachte Beobachtung über deutliche Abweichungen der Cpl-Messergebnisse (nicht aber denen von Cu) waren in sofern von großem Wert, als wir durch sie einen Hinweis darauf erhielten, dass Messwerte aus verschiedenen Laboratorien, aber auch solche aus ein und demselben Laboratorium aus verschiedenen Zeitperioden für statistische Analysen nicht beliebig zusammengeführt werden dürfen. Ohne vorangehende sorgfältige Prüfung der Messwerte auf Kompatibilität kann ihre gemeinsame Analyse zu falschen Ergebnissen führen. Eine ausführliche Beschreibung dieses messmethodischen Problems anhand von Beispielen erfolgt in Kapitel 4.6 „Ergebnisse“.

3.3.2 Proben-bedingte Probleme

Einzelne Serumproben fielen durch wider Erwarten ungewöhnlich hohe Kupferkonzentrationen auf. Als Ursache ließ sich bei einigen dieser Proben eine Hämolyse nachweisen. So waren die Messergebnisse einiger Proben von Seiten des Laboratoriums mit dem Vermerk „Serum hämolytisch“ versehen worden und bei anderen, vom Aspekt her offenbar unauffälligen Proben konnten wir bei der Überprüfung anderer Hämolyseparameter, z.B. des Kaliums, ebenfalls erhöhte Messwerte finden. In solchen Fällen liegt es nahe, die erhöhte Kupferkonzentration mit einer Hämolyse und die so bedingte Freisetzung der in Erythrozyten in hoher Konzentration vorhandenen Superoxiddismutase, einem der Cuproproteine, in das Serum zu erklären. Möglicherweise können noch auch noch andere

nicht so einfach kontrollierbare Prozesse – probenbedingt - zu falsch hohen Kupferwerten führen.

3.3.3 Krankheits- oder Patienten-bedingte Probleme

Im Münchener Datensatz hatten wir die Möglichkeit, die den einzelnen Serumproben jeweils zugehörigen Patienten und deren Diagnose zu ermitteln. So fanden wir stark abweichende Messwerte für Kupfer z.B. bei Patienten mit Morbus Wilson und Menkes Disease, aber auch bei Patienten mit hämolytischen Krisen (z.B. beim hämolytisch-urämischem Syndrom) oder auch bei solchen unter parenteraler Ernährung mit Substitution von Kupfer und mit Lebererkrankungen, die mit Cholestase einhergehen.

3.3.4 Stark abweichende Cu_{und}Cpl-Messungen

3.3.4.1 Definition und Erkennung stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messungen

Wegen der im Vorangehenden beschriebenen messmethodisch, Proben- und Patienten-bedingten Probleme mussten wir damit rechnen, dass die Untersuchungsserien abweichende, u.U. auch stark abweichende Messungen enthalten und dass diese die statistischen Analysen erheblich beeinflussen (verfälschen). Es sei hier betont, dass mit solchen Messungen nicht etwa solche gemeint sind, die durch besonders hohe oder niedrige Cu- oder Cpl-Konzentrationen auffallen, sondern nur solche mit einem von der Mehrzahl der Messungen abweichenden Verhältnis zwischen Cu und Cpl (Cu/Cpl-Quotient).

So muss man z.B. Messungen in den Seren von Neugeborenen mit ihren niedrigen Cu-Konzentrationen, die durch die in dem Lebensalter physiologisch niedrigen Cpl-Konzentrationen bedingt sind, für ebenso normal ansehen, wie die Messungen in den Seren von Schwangeren oder von Frauen unter hormoneller Antikonzepktion mit ihren hohen Cu-Konzentrationen, die auf hormonell bedingte und somit physiologisch stark erhöhte Cpl-Konzentrationen zurückzuführen sind. Obwohl die Messwerte von Cu und Cpl, hier einzeln betrachtet und im Vergleich mit den in der Literatur angegebenen jeweiligen „Normwerten“, deutlich abweichen können, liegen bei diesen Patienten bzw. Personengruppen im Sinne dieser Arbeit „normale“ Cu_{und}Cpl-Messungen vor. Dies gilt sogar für Seren von Patienten mit einem Morbus Wilson, wenn diese medikamentös behandelt werden und so gut eingestellt sind, dass – bei krankheitsbedingt niedrigen Cpl-Konzentrationen – kein Kupferüberschuss im Blut besteht.

Abweichende Cu_{und}Cpl-Messungen im Sinne dieser Arbeit zeichnen sich aus durch ein Missverhältnis zwischen dem Cu- und Cpl-Gehalt. Krankheitsbedingt abweichende Messungen können gefunden werden

- bei einer die normale Ausscheidungskapazität (der Leber) überschreitender Zufuhr an Kupfer (Kupfervergiftung),
- bei einer Verminderung der Ausscheidungskapazität (cholestatiche Lebererkrankungen) oder
- bei hämolytischen Prozessen, bei denen die in Erythrozyten enthaltenen Cuproproteine (z.B. die Superoxiddismutase) ins Serum gelangen.

Bei diesen Erkrankungen bzw. Störungen muss man – bei normalem Cpl-Spiegel im Serum - mit erhöhten Kupferkonzentrationen und folglich einem Missverhältnis zwischen Cu und Cpl, hier mit einem zu hohen Kupferanteil, rechnen. Der Cu/Cpl-Quotient ist dann groß.

Abweichende Cu_{und}Cpl-Messungen sind möglicherweise aber auch zu erwarten, wenn z.B. bei schweren Lebererkrankungen Apocoeruloplasmin, die kupferfreie Vorstufe des Cpl, bei einem Leberzellzerfall ins Blut gelangt und die Cpl-Messmethode neben dem Cpl auch das Apocoeruloplasmin miterfasst.

Bei einer solchen Störung muss man – bei normalem Cu-Spiegel im Serum - mit erhöhten Cpl-Messwerten und folglich ebenfalls einem Missverhältnis zwischen Cu und Cpl, hier mit einem zu hohen Cpl-Anteil, rechnen. Der Cu/Cpl-Quotient ist dann klein.

Vor statistischen Analysen, die Auskunft geben sollen über das „wahre“ Verhältnis zwischen Cu und Cpl im Serum des Menschen (Prüfung der o.g. Hypothese), müssten solche „pathologischen“ Messungen aus den Datensätzen entfernt werden. Das ist aber nur möglich, wenn man genau weiß, bei welchen Erkrankungen „pathologische“ Messungen zu erwarten sind. Doch selbst wenn es möglich wäre so zu verfahren, könnte man nicht sicher ausschließen, dass es nicht auch bei anderen als den genannten Erkrankungen noch abweichende Messungen geben könnte. Darüber hinaus bleiben die Messungen, die auf messmethodischen oder Proben-bedingten Fehlern beruhen unberücksichtigt.

Aus diesen Gründen erschien es uns weder möglich noch erlaubt, stark abweichende Messungen aus einem Datenkollektiv vor einer Analyse zu entfernen. Wir haben deshalb bei allen Untersuchungen zunächst alle Cu_{und}Cpl-Messungen einer Messreihe in die Analysen aufgenommen. An diesem Prinzip haben wir selbst dann festgehalten, wenn einzelne Messungen überhaupt nicht plausibel erschienen. So zum Beispiel auch dann, wenn eine

Messung für Cu und Cpl denselben Zahlenwert enthielt (ein nahezu sicherer Hinweis auf einen Schreib- oder Übertragungsfehler).

Die anschließend beschriebenen Verfahren zur Erkennung bzw. Definition fehlerhafter oder pathologischer $Cu_{und}Cpl$ -Messungen (im Folgenden neutral als „stark abweichende“ Messungen bezeichnet) sind während der Bearbeitung der in Kapitel 4 (Ergebnisse) vorgestellten Untersuchungsserien entwickelt worden. Die Verfahren werden hier im Kapitel Methodik bereits kurz beschrieben; ihre Stärken und Schwächen, sowie die Grenzen ihrer Anwendbarkeit werden dann ausführlich besprochen bei der Vorstellung der einzelnen Datensätze, anhand derer die Methoden entwickelt bzw. abgeleitet worden sind.

Die Anwesenheit einzelner stark abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messungen in den Datensätzen erwies sich bei den statistischen Analysen als sehr störend, weil sie die tatsächlichen Gesetzmäßigkeiten der Abhängigkeit von Cpl und Cu im Serum verschleiern. Deshalb wurden versuchsweise und kontrolliert die stark abweichenden $Cu_{und}Cpl$ -Messungen aus den betreffenden Versuchsserien entfernt und die Auswirkungen dieser Schritte durch weitere Datenanalysen überprüft. Die Entfernung stark abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messungen setzt voraus, dass diese zuvor definiert und im Datenkollektiv erkannt werden können. Die entsprechenden Methoden sollen im Folgenden kurz beschrieben werden; ihre ausführliche Besprechung mit kritischer Bewertung erfolgt dann ebenfalls in Kapitel 4, Ergebnisse.

Definition stark abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messungen durch Berechnung des ΔCu als Maß der Abweichung des Cu_{IST} vom Cu_{SOLL}

ΔCu , die Abweichung des Cu_{IST} vom Cu_{SOLL} , wird in dieser Arbeit mit Hilfe von zwei Verfahren ermittelt.

Die Berechnung des ΔCu_{REGR}

Dieses ΔCu wird als Residuum mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse berechnet, die (als a-Wert) die mittlere Konzentration des nichtCplCu und (als b-Wert) den Mittelwert des Cu/Cpl-Koeffizienten eines Datensatzes ermittelt. Mit Hilfe dieser beiden Größen kann dann das Residuum (ΔCu), die Abweichung jeder Probe berechnet werden:

$$\begin{aligned}\Delta Cu_{REGR} &= Cu_{IST} - Cu_{SOLL} \\ &= Cu_{IST} - (\text{nichtCplCu}^{(1)} + \text{Cu/Cpl-Koeffizient}^{(1)} * \text{Cpl}_{IST})\end{aligned}$$

⁽¹⁾ ermittelt durch die Regressionsanalyse

Dieses Verfahren erwies sich als stark beeinflussbar von nur wenigen stark abweichenden Messungen und ergab deshalb initial, d.h. mit dem Original-Datensatz oft nicht plausible Ergebnisse (z.B. nichtCplCu-Werte im negativen Bereich oder nichtCplCu-Werte, die mehr als 50% der Gesamt-Kupferkonzentrationen ausmachten). Trotz dieser Schwäche wurde dieses Verfahren in dieser Arbeit als das Standardverfahren angewandt, da es sich den Hypothesen gegenüber neutral verhält.

Für die Berechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ in einer bestimmten Serumprobe benötigt man

- a) die (gemessene) Cu-Konzentration (Cu_{IST}) der Probe
- b) die (gemessene) Cpl-Konzentration (Cpl_{IST}) der Probe
- c) den für die Messserie maßgeblichen Cu/Cpl-Koeffizienten und
- d) mittlere nichtCplCu-Konzentration.

Den Cu/Cpl-Koeffizienten (c) und die mittlere nichtCplCu-Konzentration (d) ermittelt man mit Hilfe der Regressionsanalyse. Das so errechnete Residuum (ΔCu) wird deshalb in dieser Arbeit als $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ genannt.

Die Berechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$

Aus den beiden Beobachtungen (siehe Kapitel 4 Ergebnisse), dass erstens die mittlere nichtCplCu-Konzentration in der überwiegenden Zahl der Serumproben sehr niedrig ist und dass zweitens der Median aller Cu/Cpl-Quotienten einer Probenserie mit dem Cu/Cpl-Koeffizient nahezu identisch ist, ergibt sich – wie später ausführlich beschrieben wird - die Möglichkeit, das Residuum (ΔCu) alternativ und annäherungsweise auch mit Hilfe des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten zu berechnen. Das so errechnete Residuum (ΔCu) wird in dieser Arbeit als $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ genannt.

Dieses Verfahren zur Berechnung des ΔCu verlangt die Ermittlung des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten eines Datensatzes. Dieser wird ermittelt, indem für jede einzelne Cu_{und}Cpl-Messung der Cu/Cpl-Quotient berechnet und dann der Median aller Quotienten bestimmt wird. Der Median_{Cu/Cpl-Q} stimmt – wie im Kapitel Ergebnisse gezeigt werden wird – in allen Untersuchungsserien nahezu völlig überein mit dem Cu/Cpl-Koeffizienten der Regressionsanalysen. Er darf nicht verwechselt werden mit dem Quotienten der Mediane der Cu- und Cpl-Messwerte einer Untersuchungsserie: dieser wird berechnet durch Division des Medians aller Cu-Messwerte mit dem Median aller Cpl-Messwerte (siehe die Gegenüberstellung in Kapitel 4.1, Ergebnisse).

Mit Hilfe des für jede Untersuchungsserie bestimmten $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ und den Messwerten von Cu (Cu_{IST}) und Cpl (Cpl_{IST}) einer Serums aus der Serie kann dann nach folgender Formel das Ausmaß der Abweichung, als Kupferüberschuss (ΔCu stark positiv) oder als Kupfermangel (ΔCu stark negativ) berechnet:

$$\begin{aligned}\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} &= \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Cu}_{\text{SOLL}} \\ &= \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}} * \text{Cpl}\end{aligned}$$

Dieses Verfahren wurde während der Bearbeitung der Untersuchungsserien im Rahmen dieser Arbeit empirisch gefunden. Es hat sich als verlässlich erwiesen, weil der Median wenig beeinflusst wird von Ausreißern und Extremwerten.

3.3.4.2 Entfernen stark abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messungen aus den Datensätzen

Mit der Möglichkeit, stark abweichende $Cu_{und}Cpl$ -Messungen in einem Datensatz anhand der Residuen (ΔCu) zu definieren, ergibt sich auch die Möglichkeit, die betreffenden Messungen anhand eines objektiven Kriteriums aus dem Datensatz zu entfernen und mit dem so „korrigierten“ Datensatz eine weitere Analyse durchzuführen. Zur Festlegung, welche Messung bzw. Messungen entfernt werden dürfen, wurden in dieser Arbeit verschiedene Methoden überprüft (siehe das Schema in Tab. 3.3.4.2 auf der folgenden Seite).

- Die selektive Entfernung der jeweils am stärksten abweichenden Messung (Entfernung jeweils der $Cu_{und}Cpl$ -Messung(en) mit dem (den) größten ΔCu).
- Die Entfernung von Messungen außerhalb objektiver Grenzen, wie
 - außerhalb der Perzentilen (z.B. Messungen mit ΔCu unterhalb der 0,5er und oberhalb der 99,5er-Perzentile), der 1er- und der 99er-Perzentile, der 5er- und der 95er-Perzentile u.s.w.)
 - außerhalb der Sigma-Grenzen (Messungen mit ΔCu außerhalb der 3-, 2 oder 1-Sigma-Grenzen).

Nach dem Entfernen von stark abweichenden $Cu_{und}Cpl$ -Messungen aus einem Datenkollektiv wird A) eine neue Regressionsanalyse (zur Ermittlung des nichtCplCu und des Cu/Cpl-Koeffizienten) durchgeführt und B) der Median $_{Cu/Cpl-Q}$ neu berechnet.

Weitere, dann eventuell noch im Datensatz vorhandene abweichende Messungen werden dann durch eine **Neuberechnung des ΔCu** definiert. Parallel zu diesem Vorgehen haben wir – versuchsweise – auch keine Neuberechnung des ΔCu durchgeführt und abweichende $Cu_{und}Cpl$ -Messungen entsprechend dem initial berechneten ΔCu definiert.

Auch diese beiden Verfahren werden zur Untersuchung aller Datensätze parallel angewendet und ihre Effizienz verglichen (siehe Kapitel 4 „Ergebnisse“).

Die folgende Tabelle **3.3.4.2** fasst die Analyse-Schritte der beiden hier angewandten Verfahren zusammen.

Tabelle: 3.3.4.2 Die in dieser Arbeit angewandten Verfahren zur Ermittlung der Gesetzmäßigkeiten im Verhältnis der Cu- und Cpl-Konzentrationen im Serum des Menschen

Verfahren A	Verfahren B
Schritt 1	Schritt 1
Regressionsanalyse zur Ermittlung der Mittelwerte von nichtCplCu und Cu/Cpl-Koeffizient am Original-Datensatz	Berechnung des Medians der Cu/Cpl-Quotienten (Median_{Cu/Cpl-Q}) am Original-Datensatz
weiter: fakultativ	weiter: fakultativ
Schritt 2	Schritt 2
Berechnung von $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ für jede Cu _{und} Cpl-Messung anschließend Entfernen der Cu _{und} Cpl-Messungen: A.1) schrittweise nach absoluter Größe A.2) entsprechend den Perzentilen A.3) entsprechend den Sigma-Grenzen des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ dann Neue Regressionsanalyse zur Ermittlung des Mittelwertes von nichtCplCu und Cu/Cpl-Koeffizient am „korrigierten“ Datensatz	Berechnung von $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ für jede Cu _{und} Cpl-Messung anschließend Entfernen der Cu _{und} Cpl-Messungen: B.1) schrittweise nach absoluter Größe B.2) entsprechend den Perzentilen B.3) entsprechend den Sigma-Grenzen des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ dann Neuberechnung des Medians der Cu/Cpl-Quotienten (Median _{Cu/Cpl-Q}) am „korrigierten“ Datensatz
weiter: fakultativ	weiter: fakultativ
Schritt 3	Schritt 3
Neuberechnung ^{X)} von $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ für jede (verbliebene) Cu _{und} Cpl-Messung anschließend Entfernen der Cu _{und} Cpl-Messungen: A.1) schrittweise nach absoluter Größe A.2) entsprechend den Perzentilen A.3) entsprechend den Sigma-Grenzen des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ dann Neue Regressionsanalyse zur Ermittlung des Mittelwertes von nichtCplCu und Cu/Cpl-Koeffizient am erneut „korrigierten“ Datensatz	Neuberechnung ^{X)} von $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ für jede (verbliebene) Cu _{und} Cpl-Messung anschließend Entfernen der Cu _{und} Cpl-Messungen: B.1) schrittweise nach absoluter Größe B.2) entsprechend den Perzentilen B.3) entsprechend den Sigma-Grenzen des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ dann Neuberechnung des Medians der Cu/Cpl-Quotienten ($\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$) am erneut „korrigierten“ Datensatz
weiter: wie Schritt 3	weiter: wie Schritt 3

Legende: ^{X)} versuchsweise wurde in einigen Versuchen die Neuberechnung des ΔCu nicht durchgeführt und das Entfernen der stark abweichenden Cu+Cpl-Messungen entsprechend der Größe ihres initial berechneten $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ bzw. $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ vorgenommen; die dann verwendeten (nicht „angepassten“ ΔCu -Werte) werden mit $\Delta\text{Cu}_{\text{fest}}$ bezeichnet.

Die in Tab. 3.3.4.2 gegenübergestellten Verfahren zur Ermittlung und anschließenden Entfernung von Messungen mit stark abweichenden ΔCu werden zusammen mit der graphischen Darstellung der Messdaten in dieser Arbeit benutzt, um vergleichend vor und nach Ausschluss von Ausreißern oder Extremwerten den Zusammenhang zwischen den Cu- und Cpl-Konzentrationen im Serum zu untersuchen.

4. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

Übersicht

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse von fünf Untersuchungsserien mit insgesamt 1239 Cu_{und}Cpl-Messungen dargestellt, anhand derer die drei in dieser Arbeit vertretenen Hypothesen überprüft werden. Diese Hypothesen (siehe auch deren ausführliche Begründung in Kapitel 2 Einleitung und in Kapitel 5 Diskussion lauten:

- I. Unter normalen Bedingungen lassen sich im Serum des Menschen keine signifikanten Konzentrationen von nichtCplCu nachweisen.
- II. Die Cu- und Cpl- Konzentrationen im Serum des Menschen stehen in einem festen, positiven linearen Verhältnis zueinander.
- III. Das Coeruloplasminmolekül im Serum des Menschen enthält konstant sechs Atome Kupfer.

Durch lineare Regressionsanalysen

$$Y = a + b * X$$

hier: Cu = nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl

werden für die Datensätze der jeweiligen Untersuchungsserien beiden nichtCplCu und Cu/Cpl-Koeffizient ermittelt und die oben genannten Hypothesen überprüft. Wie sich im Lauf der Untersuchungen herausstellte, enthielten alle Datensätze einige z.T. erheblich von der Mehrzahl der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare abweichende Messungen. Deshalb mussten in fast allen Datensätzen die abweichenden Messungen zunächst definiert und dann ihr Einfluss auf die Regressionsanalysen überprüft werden.

Die Untersuchungsserie **Hannover 1988 (Kapitel 4.1)** wird beschrieben als Beispiel für eine Studie, bei der die Regressionsanalyse des Original-Datensatzes zu Ergebnissen führt, welche die Hypothesen I und II stützen und die darüber hinaus, einen Hinweis geben darauf, dass ein Kupferüberschuss in einigen wenigen Serumproben die durch die Regressionsanalysen ermittelten mittleren Kupferkonzentrationen im nichtCplCu-Kompartiment sehr stark beeinflussen (stark erhöhen).

Die Analysen der Untersuchungsserie **Augsburg 2000/2001 (Kapitel 4.2)** bestätigen diese Beobachtungen, allerdings erst dann, wenn aus dem Original-Datensatz (n = 400) fünf Extremwerte entfernt werden. Anhand der Untersuchungsserie wird gezeigt, 1. wie extrem abweichende Messwertepaare erkannt werden können, und 2. welche Möglichkeiten es gibt, die Extremwerte zu entfernen, ohne die anschließenden (neuen) Analysen falsch zu beeinflussen.

Die Untersuchungsserie **München 1998 (Kapitel 4.3)** wird beschrieben als Beispiel für eine Studie, die nach Entfernen einiger weniger stark abweichender Messungen zu Ergebnissen führt, die alle drei Hypothesen stützen.

Nachdem anhand der drei Untersuchungsserien – bei zwei von ihnen erst nach geringen Korrekturen in den jeweiligen Datensatz durch Entfernen der am meisten abweichenden Messungen – einheitlich die Hypothese I und II bestätigt werden können, wird in **Kapitel 4.4** untersucht, weshalb es nicht gelingt, anhand von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen in klinisch-chemischen Laboratorien die Hypothese III zu beweisen. Zurückzuführen ist dies - wie hier gezeigt werden wird - allein darauf, dass in den verschiedenen Laboratorien unterschiedliche Messmethoden für Cpl verwendet werden.

Eine systematische Untersuchung über den Einfluss abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messungen auf die Analysen erfolgt in **Kapitel 4.5**. Bei den Versuchen wird einerseits der Einfluss von nur wenigen allerdings stark abweichenden Messungen und andererseits der Einfluss von vielen jedoch nur schwach abweichender Messungen untersucht.

Die praktische Anwendung der in dieser Arbeit ermittelten Methoden zur Erkennung einer echten Hypercuprämie erfolgt in **Kapitel 4.6**, in dem die $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaare von Seren einer Gruppe kupferexponierter Säuglinge und Kleinkinder untersucht werden.

Im letzten Ergebniskapitel (**Kapitel 4.7**) werden die hier erarbeiteten Methoden zur Analyse von veröffentlichten Untersuchungsergebnissen anderer Autoren zum Vergleich angewandt.

4.1 Untersuchungsserie Hannover 1988

Im Jahr 1988 wurden an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) in insgesamt 254 Seren Cu und/oder Cpl gemessen: in 246 Seren Cu, in 250 Cpl und in 242 parallel Cu und Cpl (Cu_{und}Cpl-Messungen). Die Messwerte für Cu wurden in $\mu\text{mol/l}$, die für Cpl in mg/l angegeben. Wir haben die Werte für Cpl umgerechnet in $\mu\text{mol/l}$ nach der Formel: $\text{Cpl (mg/dl)} / 13,2 = \text{Cpl } (\mu\text{mol/l})$.

Von den 242 Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren waren uns zwei bekannt, da sie von Säuglingen mit einer chronischen Kupfervergiftung stammen. Die Patienten und ihre Cu- und Cpl-Messwerte waren der Dokumentationsstelle für Kupfervergiftungen unabhängig von den Untersuchungen dieser Arbeit bereits 1989 von der Kinderklinik der MHH mitgeteilt worden waren. Da es sich bei den zwei Messungen in den Seren der Patienten möglicherweise um abweichende Messungen im Sinne der Analysen dieser Arbeit handeln konnte, wurden vor einigen der statistischen Analysen die beiden Messungen aus den Datensätzen entfernt (siehe Kapitel 4.2.2).

4.1.1 Untersuchungen am Original-Datensatz der Studie Hannover 1988

4.1.1.1 Statistische Analysen - Beschreibung der Messwerte

Für die Gesamtheit aller und der Cu_{und}Cpl-Messungen wurden Mittelwert (MW), Standardabweichung (StAbw), Standardabweichung des Mittelwerts (StAbwMW), Median, Minimum (Min) und Maximum (Max) berechnet.

In Tab. 4.1.1.1-1 sind die Auswertungen aller Messungen und in Tab. 4.1.1.1-2 nur die der Cu_{und}Cpl-Messungen (Messwertpaare) der Studie zum Vergleich wiedergegeben.

Tabelle 4.1.1.1-1 Statistische Auswertung aller Cu- und/oder Cpl-Messungen der Studie H 1988

		Cu	Cu	Cpl	Cpl
	Gesamt-n = 254	µg/dl	µmol/l	mg/dl	µmol/l
	n =	246	246	250	250
1	MW	129,39	20,40	34,87	2,64
2	StAbw	59,97	9,45	14,93	1,13
3	StAbwMW	3,82	0,60	0,94	0,07
4	Median	114,36	18,03	32,80	2,48
5	Min	10,80	1,70	6,3	0,48
6	Max	344,98	54,39	87,4	6,62

Tabelle 4.1.1.1-2 Statistische Auswertung der Cu_{und}Cpl-Messungen der Studie H 1988, einschließlich der Berechnung des Verhältnisses zwischen mittlerer und medianer Cu- und Cpl-Konzentrationen in den Seren

		Cu	Cu	Cpl	Cpl	Cu/Cpl	Cu/Cpl
	n = 242	µg/dl	µmol/l	mg/dl	µmol/l		
1	MW	128,84	20,28	34,85	2,64	7,68	0,00373
2	StAbw	58,77	9,25	14,92	1,13		
3	StAbwMW	3,75	0,59	0,92	0,07		
4	Median	114,36	18,00	33,00	2,50	7,20	0,00347
5	Min	12,07	1,90	6,60	0,50		
6	Max	344,98	54,30	87,12	6,60		

Bewertung

Die mittlere Cu-Konzentration aller Seren liegt bei **20,40 µmol/l**, die der Seren mit Cu_{und}Cpl-Messungen bei **20,28 µmol/l**.

Die mittlere Cpl-Konzentration liegt jeweils bei **2,64 µmol/l**. Die beiden Datenkollektive sind nicht signifikant unterschiedlich.

Da sich eine solche Übereinstimmung der Ergebnisse auch bei Analyse der anderen Untersuchungsserien (aus den anderen Laboratorien) ergab, werden in den weiteren Untersuchungen nur noch die Analysen der Cu_{und}Cpl-Messungen aufgeführt.

Vergleicht man MW und Median der Cu- und Cpl-Konzentrationen (siehe Tab. 4.1.1.1-2), so fällt auf, dass diese nicht identisch sind: für Cu liegt der MW (20,28 µmol/l) um 11% über dem Median (18,00 µmol/l) und für Cpl liegt der MW (2,64 µmol/l) um 9% über dem Median (2,50 µmol/l). Die Cu- und Cpl-Konzentrationen der Seren sind also nicht normal verteilt, es besteht vielmehr ein Übergewicht an Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren mit höheren Cu- und Cpl-Konzentrationen. Diese Beobachtung ist für die Untersuchungen dieser Arbeit ohne Belang, weil die Arbeit sich nicht mit Normwert-Untersuchungen von Cu und Cpl, sondern mit den Gesetzmäßigkeiten im Verhältnis zwischen Cu und Cpl in den Seren beschäftigt.

Das Verhältnis von Cu und Cpl in den Seren

Das Verhältnis von Cu und Cpl wird hier mit zwei Methoden ermittelt:

einmal (A) anhand des Quotienten $MWCu / MWCpl$ bzw. des Quotienten $MedianCu / MedianCpl$ und

zum anderen (B) – nach vorausgehender Berechnung des Cu/Cpl-Quotienten jeder einzelnen $Cu_{und}Cpl$ -Messung – anhand des Mittelwerts bzw. des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten.

(A) Das Verhältnis von Cu und Cpl ermittelt durch die Quotienten der Mittelwerte und Mediane von Cu und Cpl (Tab. 4.1.1.1-2, Zeile 1 und 4)

Untersuchen wir das Verhältnis von Cu und Cpl anhand der MW und Mediane beider Konzentrationen, so errechnen sich (in $\mu\text{mol/l}$) für den Quotienten der Mittelwerte ($20,28 \mu\text{mol/l Cu} / 2,64 \mu\text{mol/l Cpl} = 7,68$) und für den Quotienten der Mediane ($18,00 \mu\text{mol/l Cu} / 2,50 \mu\text{mol/l Cpl} = 7,20$). Es entfallen (unter Vernachlässigung des nichtCplCu in den Seren) also rechnerisch auf ein Cpl-Molekül 7,68 bzw. 7,20 Atome Cu (Tab. 4.1.1.1-2, Zeile 1 und 4, vorletzte Spalte rechts).

Bezogen auf das Gewicht (in μg) betragen die Quotienten der MW bzw. der Mediane 0,0037 bzw. 0,0035 $\mu\text{gCu}/\mu\text{gCpl}$ (ebenfalls (Tab. 4.1.1.1-2, Zeile 1 und 4, letzte Spalte rechts). Der Anteil des Cu am Gewicht des Cpl beträgt (ebenfalls unter Vernachlässigung des nichtCplCu) also 0,37 bzw. 0,35%.

(B) Das Verhältnis von Cu und Cpl ermittelt durch Mittelwert und Median der Cu/Cpl-Quotienten aller $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaare

Ermittelt man für jedes einzelne $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaar den Quotienten aus Cu und Cpl und berechnet dann deren MW bzw. Median, so ergeben sich die in Tabelle 4.1.1.1-3 wiedergegebenen Werte. In der Tabelle sind auch die statistischen Daten dieser Untersuchungsserie ohne die beiden Seren der kupfervergifteten Patienten angegeben (n = 240)

Tabelle 4.1.1.1-3

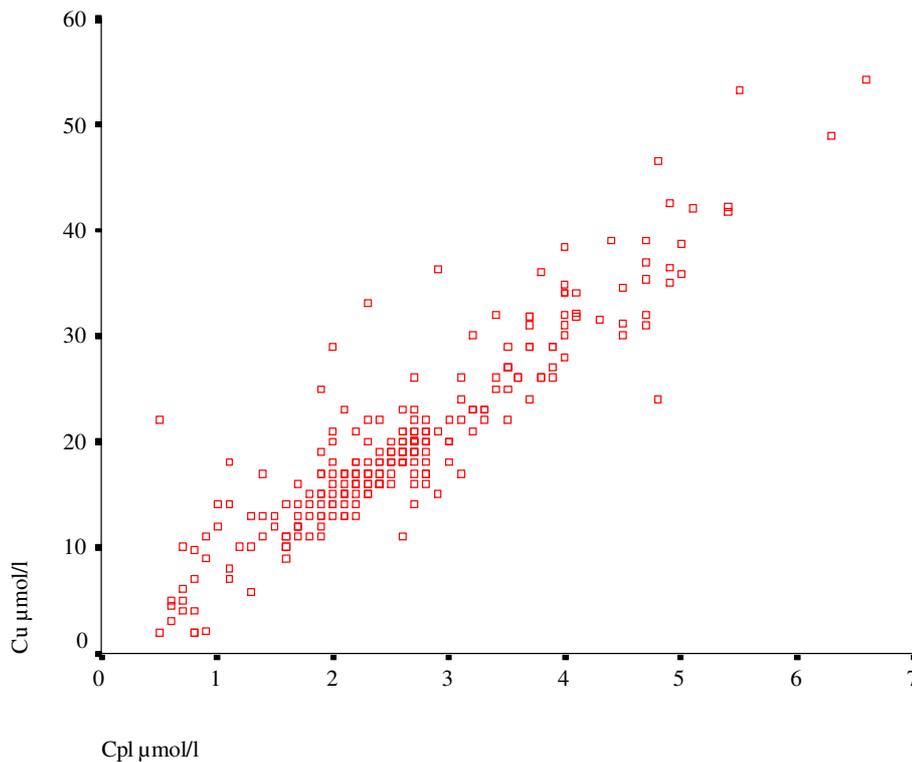
Cu/Cpl-Quotienten		
n =	242	240
Mittelwert	7,86	7,81
StAbw	3,16	3,12
StAbwMW	0,20	0,20
Median	7,41	7,39
Min	2,28	2,28
Max	48,40	48,40

Bewertung: In beiden Datenkollektiven liegen die Mittelwerte über den Medianen. Nach Entfernen der zwei $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaare der Patienten mit Kupferüberschuss sinkt der Mittelwert von 7,86 auf 7,81, also um 0,05, und der Median von 7,41 auf 7,39, also um 0,02.

4.1.1.2 Graphische Darstellung aller $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare

In Abbildung 4.1.1.2 sind alle $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen dieser Serie graphisch dargestellt. Jedes Quadrat in der Abbildung repräsentiert eine Messung mit der Cu-Konzentration auf der Ordinate und der Cpl-Konzentration auf der Abszisse.

Diagramm 4.1.1.2, $n = 242$



Legende: Y-Achse: Cu-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$; X-Achse: Cpl-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$.

Bewertung: Man erkennt eine von links unten, etwa vom Nullpunkt ausgehende nach rechts ansteigende Punktwolke, einige der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare liegen deutlich außerhalb (eine größere Anzahl ober- und eine kleinere Anzahl unterhalb). Für die übrigen scheint eine lineare Abhängigkeit zu bestehen.

4.1.1.3 Die Regressionsanalyse der Studie H 1988

Aus den 242 Cu_{und}Cpl-Messungen wurden mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse nichtCplCu und der Cu/Cpl-Koeffizient berechnet nach der Formel:

$$Y = a + b * X$$

$$\text{gesCu} = \text{nichtCplCu} + \text{Cpl-Cu}$$

$$\text{gesCu} = \text{nichtCplCu} + \text{Cu/Cpl-Koeffizient} * \text{Cpl}$$

Tabelle 4.1.1.3 Ergebnisse der Regressionsanalyse

gesCu	=	nichtCplCu	+	Cu/Cpl-Koeffizient	*	Cpl
gesCu	=	0,459 µmol/l	+	7,494	*	Cpl
StAbw		± 0,608 µmol/l		± 0,212		
p-Wert		0,451				
n	=	242				
R ²	=	0,839				

Bewertung: Bei dem hier errechneten mittleren nichtCplCu (0,459 µmol/l, StAbw ±0,608, p-Wert 0,451) der 242 Seren handelt es sich um eine statistisch nicht signifikante Konzentration, die in Bezug auf die mittlere Cu-Konzentration der Seren (20,28 µmol/l) klein ist (siehe auch unten).

Der Cu/Cpl-Koeffizient (hier 7,494) gibt an, dass in den 242 Seren auf jedes Molekül Cpl im Mittel 7,494 Atome Cu entfallen. Dieser Wert liegt über dem erwarteten Wert von 6:1 = 6,0, dem entsprechend der Hypothese III erwarteten Koeffizienten. Er unterscheidet sich aber nicht signifikant von den Werten 7,68 bzw. 7,20, die für die Quotienten der Mittelwerte bzw. dem Median von Cu und Cpl (Tab. 4.1.1.1) errechnet wurden. Daraus kann man schließen, dass die mittlere Konzentration des nichtCplCu in den Seren dieser Studie nicht groß sein kann. Diesen Schluss legt auch das Diagramm (Abb. 4.1.1.2) nahe, in dem die lineare Punktwolke in etwa vom Nullpunkt auszugehen scheint.

4.1.1.4 Berechnung des Anteils des nichtCplCu am gesCu in den Serumproben

Die mittlere **Konzentration des nichtCplCu** beträgt nach der Regressionsanalyse 0,459 $\mu\text{mol/l}$. Die mittlere **Konzentration des Cpl-Cu** lässt sich errechnen als Produkt von Cu/Cpl-Koeffizient (hier 7,494) und der mittleren Cpl-Konzentration (hier 2,64 $\mu\text{mol/l}$, siehe Tab. 4.1.1.2); sie beträgt demnach ($\text{Cu/Cpl-Koeffizient} * \text{Cpl} = 7,494 * 2,64 =$) 19,784 $\mu\text{mol/l}$.

Die mittlere **Konzentration des gesCu** in den Seren, die Summe von mittlerem Cpl-Cu (hier: 19,784 $\mu\text{mol/l}$) und mittlerem nichtCplCu (hier: 0,459 $\mu\text{mol/l}$), liegt somit bei ($19,784 + 0,459 =$) 20,243 $\mu\text{mol/l}$.

Der mittlere **prozentuale Anteil des nichtCplCu am mittleren gesCu** der 242 Seren beträgt also ($0,459 / 20,24 * 100 =$) 2,3%. Dieser Wert liegt weit unter den meisten in der Literatur angegebenen Werten für den prozentualen Anteil des nichtCplCu am gesCu im Serum des Menschen.

4.1.2 Untersuchungen am Datenkollektiv der Serie Hannover 1988 nach Ausschluss der zwei Seren von Patienten mit letal verlaufener chronischer Kupfervergiftung

Beschreibung der aus dem Datenkollektiv entfernten Messungen

Von zwei der 242 Patienten der Studie war uns die Diagnose bekannt. Bei den Patienten handelt es sich um Säuglinge, die an der chronischen Kupfervergiftung verstorben sind. Da die $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare der Seren dieser Patienten von denen anderer Patienten und Probanden abweichen können (durch den die Vergiftung bedingenden Kupferüberschuss), wurden die beiden $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare aus dem Datenkollektiv entfernt und die oben für das Original-Datenkollektiv durchgeführten Untersuchungen vergleichend wiederholt. Die Ergebnisse sind im Folgenden beschrieben.

4.1.2.1 Statistische Analysen

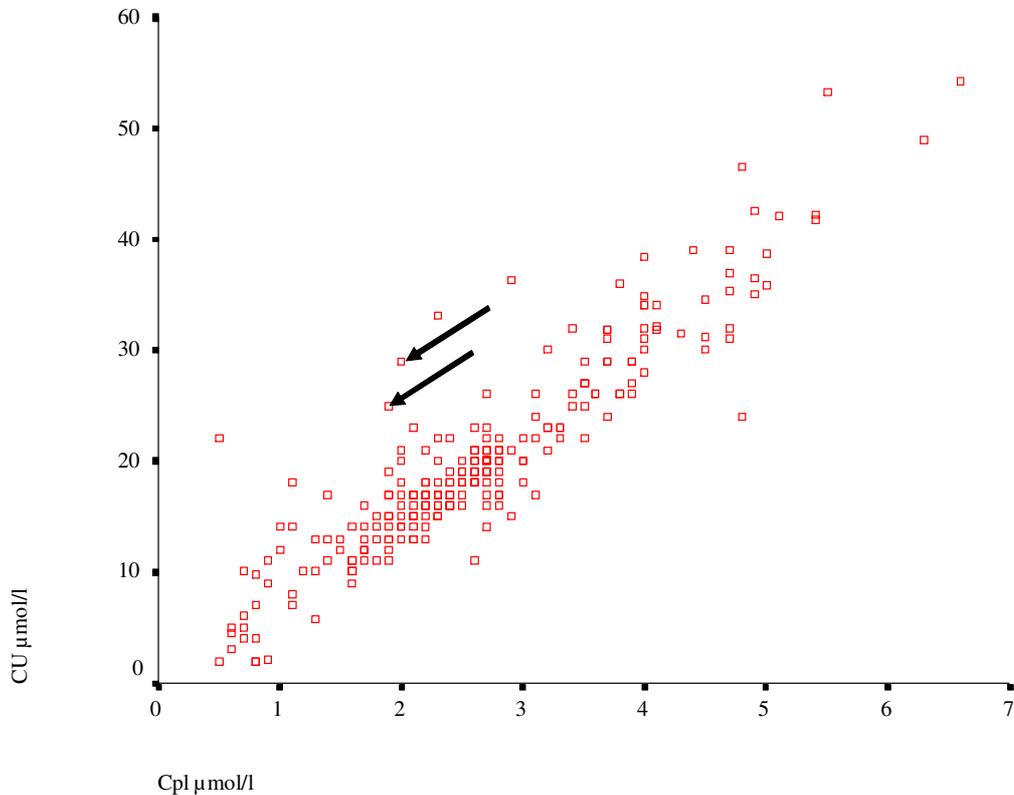
Tabelle 4.1.2.1 Vergleich der Cu_{und}Cpl-Messungen der Serie Hannover 1988 mit (n = 242) und ohne (n = 240) die Seren der beiden Patienten mit schwerer chronischer Kupfervergiftung

Cu+Cpl-Messungen	mit den Patienten	ohne die Patienten						
	Cu	Cu	Cu	Cu	Cpl	Cpl	Cpl	Cpl
	µg/dl	µg/dl	µmol/l	µmol/l	mg/dl	mg/dl	µmol/l	µmol/l
n	242	240	242	240	242	240	242	240
MW	128,84	128,47	20,28	20,22	34,85	34,97	2,64	2,65
StAbw	58,77	58,88	9,25	9,27	14,92	15,00	1,13	1,14
StFMW	3,75	3,80	0,59	0,60	0,92	0,92	0,07	0,07
Median	114,36	114,36	18,00	18,00	33,00	33,25	2,50	2,52
Min	12,07	12,07	1,90	1,90	6,60	6,60	0,50	0,50
Max	344,98	344,98	54,30	54,30	87,12	87,12	6,60	6,60

Bewertung: Das Entfernen der zwei Messungen hat keinen großen Einfluss auf die Gesamtheit dieser statistischen Daten (siehe jedoch die unten folgende Regressionsanalyse).

4.1.2.2 Graphische Darstellung der Cu_{und}Cpl-Messungen mit Kennzeichnung der Messwertpaare der Cu-vergifteten Patienten

Abbildung 4.1.2.2 (n = 242)



Legende: Y-Achse: Cu-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$, X-Achse: Cpl-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$. Die beiden Cu_{und}Cpl-Messungen in den Seren der Patienten mit chronischer Kupfervergiftung sind durch Pfeile gekennzeichnet.

Bewertung:

Die beiden Messungen bei den Patienten mit chronischer Kupfervergiftung liegen deutlich oberhalb der linear ansteigenden Punktwolke, d.h. die Cu-Konzentration in den Seren liegt in Bezug auf ihre Cpl-Konzentration von ca. 2 $\mu\text{mol/l}$ deutlich über der anderer Messwertpaare mit derselben Cpl-Konzentration.

4.1.2.3 Regressionsanalyse

Wenn wir die Messwertepaare der zwei Seren der kupfervergifteten Patienten vor der Regressionsanalyse aus dem Datensatz entfernen, ergibt sich folgendes Ergebnis (Tab. 4.1.2.3):

Tabelle 4.1.2.3 Ergebnisse der Regressionsanalyse der Cu_{und}Cpl-Messungen nach Entfernen der Messungen aus Seren von zwei Patienten mit chronischer Kupfervergiftung (n = 240)

gesCu	=	nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient	* Cpl
gesCu	=	0,217 µmol/l	+ 7,547 * Cpl
StAbw		± 0,586 µmol/l	± 0,201
p-Wert		0,711	
n = 240			
R ² = 0,853			

Zum Vergleich wird hier die Tab. 4.1.1.3 mit dem Ergebnis der Untersuchung des kompletten Datensatzes noch einmal wiedergegeben:

Tabelle 4.1.1.3 Ergebnisse der Regressionsanalyse am kompletten Datensatz (n = 242)

gesCu	=	nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient	* Cpl
gesCu	=	0,459 µmol/l	+ 7,494 * Cpl
StAbw		± 0,608 µmol/l	± 0,212
p-Wert		0,451	
n = 242			
R ² = 0,839			

Beurteilung: Vergleichen wir die Ergebnisse der beiden Regressionsanalysen, so fällt die Minderung des nichtCplCu von 0,459 auf 0,217 µmol/l, also auf etwa die Hälfte des ursprünglich berechneten Wertes auf. Man kann daraus schließen, dass die Anwesenheit von wenigen (hier nur zwei) Cu_{und}Cpl-Messungen mit Kupferüberschuss (hier bedingt durch eine chronische Kupfervergiftung) den Mittelwert des nichtCplCu erheblich beeinflussen

(erhöhen) kann. Der Cu/Cpl-Koeffizient dagegen wird von den beiden abweichenden Messungen nur wenig beeinflusst. Siehe hierzu auch die Untersuchungen in Kapitel 4.5.

Nach Entfernen der beiden Cu_{und}Cpl-Messwertepaare mit dem Kupferüberschuss beträgt der prozentuale Anteil des nichtCplCu am mittleren gesCu (entsprechend der oben beschriebenen Rechnung) nur noch $(0,217 / (0,217 + 7,547 * 2,65)) * 100 = 1,07\%$.

4.1.3 Zusammenfassende Bewertung der Studie H 1998

Die Ergebnisse der Untersuchungen dieses Datensatzes stützen die Hypothese I dieser Arbeit: in 242 Seren lassen sich im Mittel nur geringe Konzentrationen des nichtCplCu nachweisen. Seine mittlere Konzentration liegt bei 0,46 µmol Cu/l und macht nur ca. 2% der mittleren gesCu-Konzentration von 20,28 µmol aller Seren aus. Seine normale Konzentration ist sehr wahrscheinlich noch geringer. Denn die hier berechnete mittlere Konzentration des nichtCplCu sinkt von 0,46 auf 0,22 µmol/l, wenn aus dem Datensatz (n = 242) nur zwei Cu_{und}Cpl-Messwertepaare, nämlich die Seren von Patienten mit chronischer Kupfervergiftung, entfernt werden. Bezogen auf die mittlere gesCu-Konzentration von 20,22 µmol/l sind das nur noch 1,07%.

Die Anwesenheit einiger weniger hypercuprämischer Seren in einer Untersuchungsserie können also den errechneten Wert des nichtCplCu stark beeinflussen; in dieser Studie (n = 242) reichen zwei solcher Messungen aus, um das nichtCplCu zu verdoppeln.

Zwischen der Cu- und der Cpl-Konzentration in den Seren lässt sich mit einem $R^2 = 0,853$ eine enge, positive lineare Abhängigkeit nachweisen: dieses Ergebnis stützt die Hypothese II.

Der hier errechnete Cu/Cpl-Koeffizient beträgt 7,55. Er liegt deutlich über dem erwarteten Wert von 6,0. Dieses Ergebnis stützt nicht die Hypothese III.

Besonders hingewiesen sei hier auf die Übereinstimmung des durch die Regressionsanalyse errechneten **Cu/Cpl-Koeffizienten** mit dem **Median der Cu/Cpl-Quotienten (Median_{Cu/Cpl-Q}) aller Seren**. Die Übereinstimmung lässt sich zurückführen auf die niedrige Konzentration des nichtCplCu, denn je mehr sich dessen Wert Null nähert, desto mehr nähert sich der Median_{Cu/Cpl-Q} dem Cu/Cpl-Koeffizienten.

4.2 Die Untersuchungsserie A 2000/2001 (n = 400)

Die zweite Untersuchungsserie dieser Arbeit umfasst 400 $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen in Seren aus dem Zentralklinikum Augsburg der Jahre 2000 (n = 185) und 2001 (n = 215). Die Messdaten wurden uns kodiert überlassen, die Diagnosen der Patienten sind uns deshalb nicht bekannt. Anhand dieses Datensatzes werden alle in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungsmethoden (siehe deren ausführliche Beschreibung in Kapitel 3 Methoden) angewandt und ihre Effektivität und Verlässlichkeit geprüft.

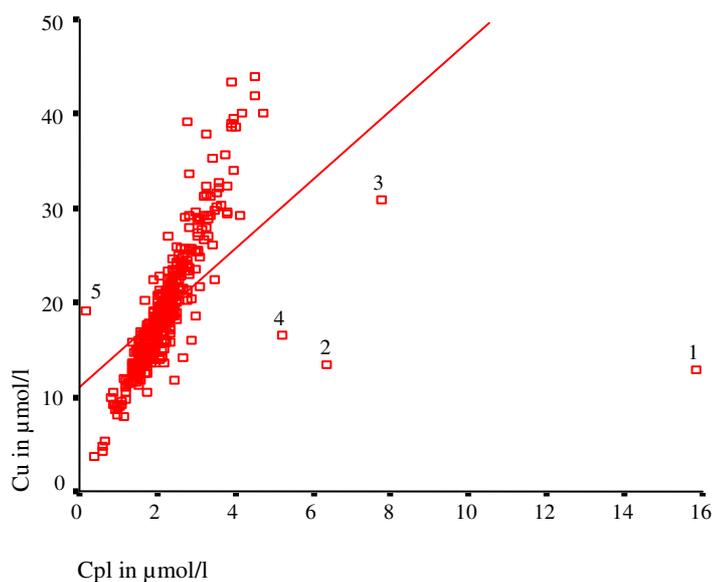
Die Untersuchungen decken auf, dass dieser Datensatz fünf extrem abweichende Messwertepaare enthält. Die Untersuchungen wurden deshalb jeweils mit und ohne dieser Extremwerte durchgeführt und die Ergebnisse vergleichend besprochen.

4.2.1 Die graphische Darstellung der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare der Serie A 2000/2001

In den beiden folgenden Abbildungen werden die Messwertepaare graphisch dargestellt: die unabhängige Variable Cpl auf der Abszisse, die abhängige Variable Cu auf der Ordinate.

Die Abb. 4.2.1-1 enthält alle (n = 400), die Abb. 4.2.1-2 die um die fünf Extremwert verminderten (n = 395) Messwertepaare. Für die Datensätze beider Diagramme wurden die Regressionsanalysen berechnet (siehe in der jeweiligen Legende) und als Ausgleichsgerade eingezeichnet.

Diagramm 4.2.1-1, n = 400



Legende: Y-Achse: Cu: Cu-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$, X-Achse: Cpl: Cpl-Konzentration im Serum in $\mu\text{mol/l}$, jedes Quadrat gibt eine Cu_{und}Cpl-Messungen wieder. Die fünf Extremwerte sind nummeriert.

Für die Ausgleichsgerade wurde errechnet: $\text{Cu} = 10,9 + 3,7 * \text{Cpl}$.

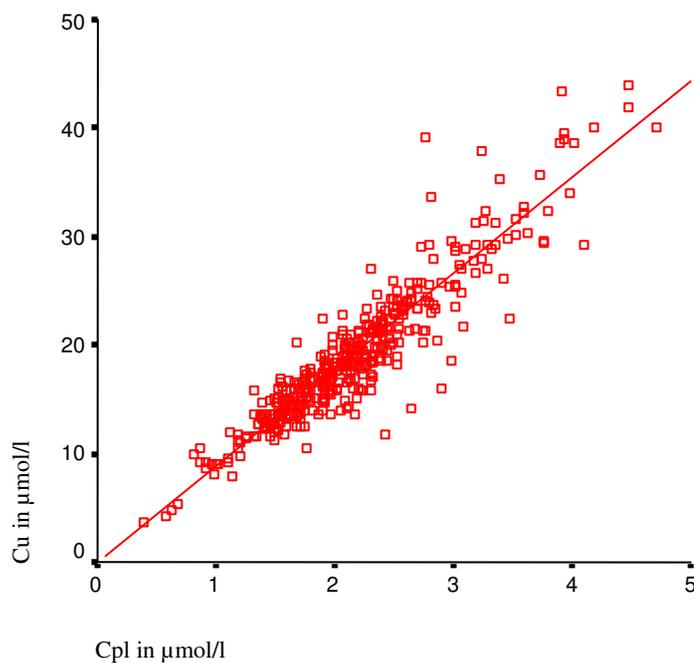
Bewertung:

Die graphische Darstellung lässt eine lineare von links nach rechts ansteigende Anordnung der Mehrzahl der Cu_{und}Cpl-Messungen erkennen; fünf Messwertepaare liegen außerhalb der Punktwolke: vier Messungen rechts unterhalb und eine Messung links neben der Punktwolke. Die Ausgleichsgerade, welche die Ordinate knapp über 10 $\mu\text{mol/l}$ Cu schneidet, scheint nicht zum Kern der Punktwolke zu gehören.

In den weiteren Untersuchungen an diesem Datenkollektiv haben wir versucht, die optische Bewertung (fünf stark abweichende Werte, die offensichtlich nicht in das Datenkollektiv gehören) zu objektivieren.

Zunächst wurde ein zweites Diagramm ohne die fünf Extremwerte erstellt (Diagramm 4.2.1-2)

Diagramm 4.2.1-2, n = 395



Legende: siehe Diagramm 4.2.1-1.

Für die Ausgleichsgerade wurde hier errechnet: $Cu = -0,023 + 8,849 * Cpl$

Bewertung: Die Punktwolke ist wiederum gekennzeichnet durch einen linearen Anstieg. Die Ausgleichsline, jetzt im Zentrum der Punktwolke liegend, verläuft in etwa durch den Nullpunkt. In diesem Diagramm (ohne die fünf Extremwerte) scheint die Lage der Ausgleichsline in der Punktwolke passend, so dass man annehmen muss, dass die fünf (entfernten) Extremwerte nicht eigentlich zur Grundgesamtheit der Messungen gehören.

Im Folgenden werden deshalb alle weiteren Untersuchungen dieser Serie am (kompletten) Original-Datensatz (n = 400) und zusätzlich an dem von den fünf Ausreißern befreiten Datensatz (n = 395) vergleichend wiedergegeben.

4.2.2 Die statistischen Analysen

4.2.2.1 Beschreibung der Cu_{und}Cpl-Messungen (Tabelle 4.2.2.1a und 4.2.2.1b)

Für das komplette (n = 400) und das um die Extremwerte verminderte Datenkollektiv (n = 395) ergeben sich für die **Cu-Konzentrationen** nahezu identische Werte; die MW liegen bei 19,13 bzw. 19,14 µmol/l, beide Mediane bei 18,10 µmol/l. Für die **Cpl-Konzentrationen** dagegen ergeben deutliche Unterschiede zwischen den Minima, den Maxima und den Standardabweichungen, nicht dagegen zwischen den Mittelwerten (2,23 bzw. 2,17 µmol/l) und den Medianen (beide 2,10 µmol/l).

Tabelle 4.2.2.1a: Konzentrationen von Cu und Cpl (in µmol/l)						
	Cu in µmol/l		Cpl in µmol/l		Cu/Cpl	
	1	2	3	4	5	6
n	400	395	400	395	400	395
Mittelwert	19,13	19,14	2,23	2,17	8,58*	8,82*
StAbw	6,55	6,55	1,04	0,69		
StfehlerMW	0,33	0,33	0,05	0,03		
Median	18,10	18,10	2,10	2,10	8,62**	8,62**
Min	3,62	3,62	0,14	0,39		
Max	43,91	43,91	15,83	4,71		

Tabelle 4.2.2.1b: Konzentrationen von Cu (µg/dl) und Cpl (mg/dl)						
	Cu in µg/dl		Cpl in mg/dl		Cu/Cpl	
	1	2	3	4	5	6
n	400	395	400	395	400	395
Mittelwert	121,57	121,61	29,39	28,59	0,004136	0,004254
StAbw	41,62	41,62	13,75	9,07		
StfehlerMW	2,08	2,09	0,69	0,46		
Median	114,99	114,99	27,72	27,72	0,004148	0,004148
Min	23,00	23,00	1,85	5,15		
Max	278,97	278,97	208,96	62,17		

Vergleicht man die mittleren und medianen Cu-Konzentrationen dieser Untersuchungsserie mit denen der anderen Serien dieser Arbeit (**Tabelle 4.4-1**), so ergibt sich kein wesentlicher Unterschied. Die Cpl-Konzentrationen dieser Serie dagegen weichen stark ab: sie sind die niedrigsten aller Untersuchungsserien (**Tabelle 4.4-1**). Als Erklärung könnte man nennen erstens ein jeweils bezüglich Probanden bzw. Patienten anders zusammengesetztes Kollektiv oder zweitens jeweils unterschiedliche Messmethoden für Cpl. Letztere Erklärung erscheint uns die wahrscheinlichere, weil die statistische Auswertung für die Cu-Konzentrationen der Messwertpaare nahezu völlig übereinstimmen und sich die Cu_{und}Cpl-Messwertpaare somit nur in Bezug auf einen Wert (nämlich den Cpl-Wert) unterscheiden.

4.2.2.2 Untersuchungen über das Verhältnis von Cu und Cpl in den Seren

a) Die Quotienten der Mittelwerte und Mediane von Cu und Cpl

Das Verhältnis von Cu und Cpl in der Gesamtheit aller Serumproben, errechnet als **Quotient der Mittelwerte von Cu und Cpl**, beträgt 8,58 für $n = 400$ bzw. 8,82 für $n = 395$ und errechnet als **Quotient der Mediane von Cu und Cpl** 8,62 für $n = 400$ und $n = 395$ (Tab. 4.2.2.1a, Spalten 5 und 6). Die Quotienten der Mittelwerte und der Mediane sind also nahezu identisch. Sie liegen aber weit über dem erwarteten Wert von 6,0. Es entfallen (unter Vernachlässigung des nichtCplCu) in diesem Datenkollektiv also auf ein Molekül Cpl zwischen (aufgerundet) 8,6 und 8,8 Atome Cu. Bezogen auf das Gewicht ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) beträgt der Quotient der MW von Cu und Cpl 0,004136 und der der Mediane 0,004254. Der Anteil des Cu am Gewicht des Cpl liegt hier also bei 0,41 bis 0,43% (Tab.4.2.2.1b, Spalten 5 und 6).

b) Die Mittelwerte und Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare

Ermittelt man für jedes einzelne Messwertepaar des Datenkollektivs den Quotienten aus Cu und Cpl, so ergeben sich für die 400 bzw. 395 Quotienten die in Tabelle 4.2.2.2 wiedergegebenen statistischen Werte.

Tabelle 4.2.2.2: Die Cu/Cpl-Quotienten der Studie Augsburg

Cu/Cpl-Quotienten		
n =	400	395
Mittelwert	9,11	8,86
StAbw	6,53	1,05
StFMW	0,33	0,05
Median	8,85	8,87
Min	0,82	4,86
Max	137,14	14,15

Bewertung: Die **Mittelwerte aller Cu/Cpl-Quotienten** liegen bei 9,11 (für $n = 400$) bzw. 8,86 (für $n = 395$) und die **Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten** bei 8,85 bzw. 8,87 $\mu\text{molCu}/\mu\text{molCpl}$. Man gewinnt hier den Eindruck, dass (siehe die linke Spalte der Tabelle) die stark abweichenden Cu_{und}Cpl-Messwertepaare zwar den Mittelwert aller Cu/Cpl-Quotienten deutlich, deren Median aber gar nicht beeinflussen. Denn nach deren Entfernung aus dem Datenkollektiv (siehe rechte Spalte) stimmen MW und Median überein und sind mit dem Median des kompletten Datenkollektivs identisch. Aus dieser Beobachtung kann man schließen, dass sich mit Berechnung des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten das Aufsuchen und Entfernen von Extremwerten im Datenkollektiv erübrigt. Diese Beobachtung kommt dadurch eine besondere Bedeutung zu, weil der Median aller Cu/Cpl-Quotienten sich im Laufe dieser

Arbeit als eine verlässliche Größe erwiesen hat, mit der auf einfache Weise der Cu/Cpl-Koeffizient angenähert ermittelt werden kann. Auch in dieser Untersuchungsserie stimmt der Median aller Cu/Cpl-Quotienten (8,85) überein mit dem Cu/Cpl-Koeffizienten (ebenfalls 8,85), der weiter unten durch die Regressionsanalyse am korrigierten Datensatz errechnet wird (siehe unten: 4.2.2.3).

4.2.2.3 Die Regressionsanalysen der Untersuchungsserie Augsburg

Die Regressionsanalyse ergibt für den kompletten Datensatz (n = 400):

$$\text{Cu} = 10,9 + 3,7 * \text{Cpl}, (R^2 = 0,342)$$

also ein mit 10,9 $\mu\text{mol/l}$ wider Erwarten hohes nichtCplCu

und einen mit 3,7 wider Erwarten niedrigen Cu/Cpl-Koeffizienten, der weit unter 6,0 liegt.

Dieses Ergebnis ist nicht plausibel, es bestätigt auch den Eindruck, den man anhand der graphischen Darstellung mit der Ausgleichsgeraden in Abb.4.2.1-1 gewinnt; offensichtlich wird es durch die (im Diagramm erkennbaren) Extremwerte stark beeinflusst. Wir haben deshalb versucht die stark abweichenden Messungen aus dem Datensatz zu entfernen, um dann durch erneute Analysen eine Annäherung an die normale Relation zwischen Cu und Cpl in den Seren zu erreichen.

4.2.2.4 Methoden zur Erkennung stark abweichender $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare im Datenkollektiv

Die verschiedenen Methoden zur Erkennung stark abweichender Messwertepaare werden hier vergleichend angewandt und anhand der Ergebnisse korrekte und fehlerhafte Methoden aufgedeckt. Abweichende Messungen werden hier durch Berechnung ihres Residuums ermittelt, das mit ΔCu bezeichnet wird.

Die Berechnung des ΔCu jeder $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen erfolgt mit Hilfe

1. der sich aus der Regressionsanalyse ergebenden Mittelwerten des nichtCplCu und des Cu/Cpl-Koeffizienten nach den Formeln:

$$\begin{aligned}\rightarrow \Delta\text{Cu}_{\text{REGR}} &= \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Cu}_{\text{SOLL}} \\ &= \text{Cu}_{\text{IST}} - (\text{nichtCplCu} + \text{Cu/Cpl-Koeffizient} * \text{Cpl}_{\text{IST}})\end{aligned}$$

und

2. des (hier zunächst versuchsweise verwendeten) Medians aller Cu/Cpl-Quotienten ($\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$) nach den Formeln

$$\begin{aligned}\rightarrow \Delta \text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} &= \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Cu}_{\text{SOLL}} \\ &= \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}} * \text{Cpl}_{\text{IST}}\end{aligned}$$

Die Klassifizierung abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen erfolgt dann entsprechend ihres ΔCu und zwar

- a.) nach dessen absoluter Größe,
- b.) nach dessen Lage außerhalb der Ein-, Zwei- oder Drei-Sigma-Grenzen und
- c.) nach dessen Lage außerhalb der Perzentilen

(siehe die ausführliche Beschreibung der Methoden in Kapitel 3.3.4).

4.2.2.4.1 Verfahren zur Erkennung stark abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen, definiert durch $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}}$ (Tab. 4.2.2.4)

Ausgehend von der Regressionsanalyse am Original-Datensatz wird für jede $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messung das Residuum $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}}$ errechnet, hier entsprechend der Formel

$$\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} = \text{Cu}_{\text{IST}} - (10,944 + 3,678 * \text{Cpl}).$$

Unter den 400 Messungen erkennt man (Tab. 4.2.2.4; Zeilen 03-10, Spalte 5 und 6)

eine Messung	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} < -50 \mu\text{mol/l}$,
zwei Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} < -30 \mu\text{mol/l}$,
vier Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} < -20 \mu\text{mol/l}$,
sechs Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} > 15 \mu\text{mol/l}$ (2); $< -15 \mu\text{mol/l}$ (4),
17 Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} > 10 \mu\text{mol/l}$ (14); $< -10 \mu\text{mol/l}$ (3),
37 Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} > 7,5 \mu\text{mol/l}$ (28); $< -7,5 \mu\text{mol/l}$ (9) und
69 Messungen	mit $\Delta \text{Cu}_{\text{REGR}} > 5,0 \mu\text{mol/l}$ (45); $< -5,0 \mu\text{mol/l}$ (24)

insgesamt 69 (von 400) erheblich abweichende Messungen.

4.2.2.4.1.1 Korrektur des Datensatzes durch Entfernen stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messungen entsprechend der absoluten Größe ihres ΔCu

Vorgehen ohne Neuberechnung des ΔCu (Variante ^x, Tabelle: 3.3.4.2)

Die Notwendigkeit der Neuberechnung des ΔCu aller Cu_{und}Cpl-Messungen nach der Entfernung der am stärksten abweichenden Messungen wird hier beispielhaft gezeigt.

Entfernt man die Cu_{und}Cpl-Messungen mit den jeweils am stärksten abweichenden Δ-Cu_{REGR} schrittweise, jedoch ohne Korrektur, d.h. ohne Neuberechnung ΔCu für alle verbliebenen Cu_{und}Cpl-Messungen, so ergibt die Regressionsanalyse Werte für das nichtCplCu zwischen 2,0 und 4,3 μmol/l und für den Cu/Cpl-Koeffizienten zwischen 6,8 und 7,7 (Tab 4.2.2.4.1; Zeilen 03 bis 10). Entsprechend der im Kapitel 3, Methodik eingeführten Nomenklatur nennen wir das verfolgte methodische Vorgehen: Entfernung der stark abweichende Cu_{und}Cpl-Messungen entsprechend **der absoluten Größe von ΔCu ohne** nachfolgende korrigierende ΔCu Berechnung.

4.2.2.4.1.2 Korrektur des Datensatzes durch Entfernung stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messungen entsprechend der Lage ihres ΔCu außerhalb der Sigma-Bereiche (Methode A.3, Tabelle 3.3.4.2)

Von den 400 Cu_{und}Cpl-Messungen liegen fünf außerhalb der 3-sigma-, 17 außerhalb 2-sigma- und 61 außerhalb 1-sigma-Grenzen (siehe Tab. 4.2.2.4, Zeilen 19 bis 22, Spalte 04). Bei diesen Messungen überwiegen immer die jeweils oberhalb liegenden Werte (siehe Spalte 04, links stehende Werte).

Entfernt man Cu_{und}Cpl-Messungen mit ΔCu außerhalb der Sigma-Bereiche, so decken die anschließend durchgeführten Regressionsanalysen eine Verminderung des **nichtCplCu** von

10,9 μmol/l (n = 400) auf

3,4 μmol/l (n = 395; Drei-Sigma-Bereich),

3,9 μmol/l (n = 383; Zwei-Sigma-Bereich) bzw.

2,7 μmol/l (n = 339; Ein-Sigma-Bereich);

gleichzeitig steigen die **Cu/Cpl-Koeffizienten** von

3,7 (n = 400) auf
7,2 (n = 395, Drei-Sigma-Bereich),
6,9 (n = 383, Zwei-Sigma-Bereich) bzw.
7,4 (n = 339, Ein-Sigma-Bereich) an (Tabelle 4.2.2.4, Zeilen 19 bis 22, Spalten 06 u. 09).

Obwohl bei dieser Verfahrensweise bis zu maximal 61 Messungen aus dem Original-Datensatz entfernt werden, ergibt sich kein Ergebnis, das dem des gezielten und korrigierenden Verfahrens (mit Entfernen von nur fünf Messwertepaaren) entspräche. Der Grund für das Versagen dieses Verfahrens wird erkennbar, wenn man das Verfahren ein zweites Mal anwendet. Es ergeben sich dann beim nicht korrigierenden Verfahren nicht Cpl-Cu-Werte von

0,481 $\mu\text{mol/l}$ (n = 390; Drei-Sigma-Bereich), Zeile

1,303 $\mu\text{mol/l}$ (n = 371; Zwei-Sigma-Bereich) bzw.

2,289 $\mu\text{mol/l}$ (n = 247; Ein-Sigma-Bereich) (Tab. 4.2.2.4, Zeilen 20, 25 und 33, Spalten 06).

Gleichzeitig ergeben sich **Cu/Cpl-Koeffizienten** von

8,560 (n = 390, Drei-Sigma-Bereich),

8,144 (n = 371, Zwei-Sigma-Bereich) bzw.

7,662 (n = 247, Ein-Sigma-Bereich) (Tabelle 4.2.2.4, Zeilen 20, 25 und 33, Spalten 09).

Aus diesen Versuchen mit der Sigma-Methode (A.3) wird erkennbar, dass das nicht-korrigierende Verfahren (Variante ^x) zu keinem die Hypothese I stützenden Ergebnis führt. Im Gegenteil, die Ergebnisse widersprechen zusätzlich auch denen der A.1 (basierend auf der absoluten Abweichung). Auch gewinnt man den Eindruck, dass die Ergebnisse des robusteren Verfahrens (Entfernung der relativ großen Zahl von Messungen außerhalb der Ein-Sigma-Grenzen) weit weniger mit den Hypothesen kompatibel sind als die Ergebnisse, die mit dem gemäßigeren Verfahren (Entfernung der relativ kleinen Zahl von Messungen außerhalb der Drei-Sigma-Grenzen) erreicht werden.

Tabelle 4.2.2.4: Die Ergebnisse der Regressionsanalysen am Original-Datensatz und an korrigierten Datensätzen der Studie A 2000/2001 im Vergleich

Kriterien für den Ausschluss von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen:

Spalte:	1	2	3	4		5	6			7	8	9		10		11
							Durch Regressionsanalyse berechnetes a = nCplCu					Durch Regressionsanalyse berechnetes b = Cu/Cpl-Koeffizient				
	n	Ausschluss-Kriterium		Anzahl ausgeschlossener Messwertepaare		Im Datensatz verbliebene Messungen (%)	Mittelwert	1StAbw	p	Mittelwert	1StAbw	R ²				
Zeile				unten+oben	insges											
Tabelle Teil O (optisches Verfahren, siehe Diagramm 4.2.1-1 und 4.2.1-2)																
01	400			0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342				
02	395	diagram	Optisch	5	5	98,75	-0,023	0,407	0,956	8,849	0,179	0,861				
Tabelle Teil1 Methode 1.a.alhax: Berechnung von ΔCu_{REGR}, Entfernung $Cu_{und}Cpl$-Messungen entsprechend der absoluten Größe von ΔCu, ohne Neuberechnung von ΔCu																
03	400			0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342				
04	399	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 50 \mu\text{mol/l}$	1+0	1	99,75	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666				
05	398	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 30 \mu\text{mol/l}$	2+0	2	99,50	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666				
06	396	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 20 \mu\text{mol/l}$	4+0	4	99,00	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666				
07	394	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 15 \mu\text{mol/l}$	2+4	6	98,50	3,486	0,486	0,000	7,130	0,212	0,743				
08	383	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 10 \mu\text{mol/l}$	3+14	17	95,75	3,874	0,451	0,000	6,891	0,203	0,751				
09	363	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 7,5 \mu\text{mol/l}$	9+28	37	90,75	2,042	0,395	0,000	7,735	0,184	0,831				
10	331	ΔCu_{REGR} fest	Abw $\leq 5,0 \mu\text{mol/l}$	24+45	69	82,75	2,942	0,414	0,000	7,300	0,196	0,809				
Tabelle Teil2 Methode 1.a.betax: Berechnung von ΔCu_{REGR}, Entfernung $Cu_{und}Cpl$-Messungen entsprechend der absoluten Größe von ΔCu, mit anschließender Neuberechnung von ΔCu																
11	400			0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342				
12	399	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 50 \mu\text{mol/l}$	1+0	1	99,75	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666				
13	399	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 30 \mu\text{mol/l}$	1+0	1	99,75	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666				
14	398	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 20 \mu\text{mol/l}$	2+0	2	99,50	3,021	0,511	0,000	7,398	0,221	0,738				
15	395	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 15 \mu\text{mol/l}$	3+2	5	98,75	-0,023	0,407	0,956	8,849	0,179	0,861				
16	394	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 10 \mu\text{mol/l}$	4+2	6	98,50	0,044	0,389	0,910	8,801	0,171	0,871				
17	386	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 7,5 \mu\text{mol/l}$	9+5	14	96,25	0,090	0,333	0,787	8,800	0,148	0,902				
18	378	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 5,0 \mu\text{mol/l}$	13+9	22	94,50	-0,072	0,309	0,816	8,876	0,138	0,917				
Tabelle Teil3 Methode 1B: Berechnung von ΔCu_{REGR}, Entfernung $Cu_{und}Cpl$-Messungen entsprechend der Lage außerhalb der Sigma-Grenzen, ohne Neuberechnung von ΔCu																
Entfernen von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen außerhalb des Drei-Sigma-Bereichs																
19	400			0		100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342				
20	395	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 3\text{-sigma}$	2+3	5	98,75	3,396	0,493	0,000	7,185	0,215	0,740				
21	390	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 3\text{-sigma}$	+2+3	10	97,50	0,481	0,371	0,196	8,560	0,165	0,874				
22	384	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 3\text{-sigma}$	+5+1	16	96,00	0,202	0,330	0,540	8,734	0,147	0,902				
23	383	ΔCu_{REGR} neu	Abw $<, > 3\text{-sigma}$	+1+0	17	95,75	0,052	0,328	0,874	8,813	0,147	0,903				

Tabelle Teil 3. Methode 1B: Berechnung von ΔCu_{REGR} , Entfernung $Cu_{und}Cpl$ -Messungen entsprechend der Lage außerhalb der Sigma-Grenzen, ohne Neuberechnung von ΔCu												
Entfernen von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen außerhalb des Zwei-Sigma-Bereichs												
24	400			0		100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342
25	383	ΔCu_{REGR} neu	Abw<,>2-sigma<	3+14	17	95,75	3,874	0,451	0,000	6,891	0,203	0,752
26	371	ΔCu_{REGR} neu	Abw<,>2-sigma<	+6+6	29	92,75	1,303	0,337	0,000	8,144	0,155	0,882
27	352	ΔCu_{REGR} neu	Abw<,>2-sigma<	+11+8	48	88,00	0,997	0,290	0,001	8,314	0,135	0,839
28	337	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>2-sigma<	+11+4	63	84,25	0,833	0,265	0,002	8,428	0,124	0,933
29	323	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>2-sigma<	+10+4	77	80,75	0,633	0,250	0,012	8,553	0,118	0,942
30	319	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>2-sigma<	+3+1	81	79,75	0,613	0,246	0,013	8,571	0,116	0,943
31	317	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>2-sigma<	+1+1	83	79,25	0,649	0,245	0,008	8,554	0,114	0,943
32	316	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>2-sigma<	+1+0	84	79,00	0,662	0,244	0,007	8,551	0,115	0,944
Tabelle Teil 4 Methode 1B: Berechnung von ΔCu_{REGR} , Entfernung $Cu_{und}Cpl$ -Messungen entsprechend der Lage außerhalb der Sigma-Grenzen, ohne Neuberechnung von ΔCu												
Entfernen von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen außerhalb des Ein-Sigma-Bereichs												
33	400			0		100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342
34	339	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>1-sigma<	21+39	61	85,00	2,701	0,412	0,000	7,424	0,194	0,902
35	247	ΔCu_{REGR} neu	Abw <,>1-sigma<	+42+26	153	61,75	2,289	0,268	0,000	7,662	0,129	0,967
Tabelle Teil 5 Die "en bloc" Entfernung von $Cu+Cpl$ -Messungen mit abweichenden $\Delta-Cu$												
36	400		"en bloc"	0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342
37	383	$\Delta-Cureg$	> 10 $\mu mol/l$	3+14	17	95,75	3,874	0,451	0,000	6,891	0,203	0,751
38	396	$\Delta-CuMdCCQ$	> 10 $\mu mol/l$	4+0	4	99,00	0,044	0,381	0,910	8,801	0,171	0,871

Legende: Für jede Regressionsanalyse der Untersuchungsserie Augsburg sind angegeben die Anzahl n der $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaare (Spalte 1), die Mittelwerte für nichtCplCu (Spalte 6) und für den Cu/Cpl-Koeffizient (Spalte 9), jeweils mit Standardabweichung und p-Wert, bzw. R^2 (Spalten 7, 8 bzw. 10 und 11). In den Spalten 2 und 3 sind die jeweiligen Ausschlusskriterien vermerkt, in der Spalte 4 die Anzahl der ausgeschlossenen Messungen.

4.2.2.4.1.3 Entfernen von Cu+Cpl-Messungen mit $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ außerhalb der Perzentilen

Hier werden abweichende Messungen entsprechend dem $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ und dessen Lage innerhalb bzw. außerhalb der Perzentilen definiert und aus dem Datenkollektiv entfernt.

Anschließend wird eine Neuberechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ durchgeführt (siehe Tab. 4.2.2.4.1.3, Zeile 01 -08), bzw. nicht durchgeführt (siehe Tab. 4.2.2.4.1.3, Zeile 09 -16).

Erfolgt lediglich ein Entfernen der *Cu* und *Cpl*-Messungen mit den jeweils niedrigsten und höchsten $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$, aber anschließend keine Neuberechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ und somit keine Neuordnung des Datensatzes entsprechend den dann gültigen Perzentilen (Tab 4.2.2.4.1.3; Zeilen 09 -16) errechnen die Analysen nichtCplCu-Werte zwischen 1,7 und 4,6 $\mu\text{mol/l}$. Der höchste so errechnete Cu/Cpl-Koeffizient ist 8,0.

Bei Anwendung des korrigierenden Verfahrens reicht dagegen das Entfernen nur der außerhalb der 1er bzw. 99er Perzentile liegenden Messungen ($n = 8$ von 400 oder 2% der Messungen) aus, um zu kleinen, nicht über 1,0 $\mu\text{mol/l}$ liegenden nichtCplCu-Werte und zu konstanten Cu/Cpl-Koeffizienten (hier zwischen 8,6 und 8,8 liegend) zu kommen (Tab. siehe Tab. 4.2.2.4.1.3, Zeile 01 -08).

Tabelle 4.2.2.4.1.3: Entfernen von Cu+Cpl-Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ außerhalb der Perzentilen

Spalte:	1	2	3	4		5	6	7	8	9	10	11
							a = nichtCplCu			b = Cu/Cpl-Koeffizienten		
	n	Ausschluss-Kriterium		Entfernt #		verblieben %	Mittelw	1StAbw	p	Mittelw	1StAbw	R ²
Zeile												
01	400	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	Perzent. ang	0		100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342
02	396	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	0,5-99,5	2+2	4	99	3,233	0,492	0,000	7,569	0,214	0,746
03	392	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	1-99	4+4	8	98	0,305	0,376	0,418	8,659	0,166	0,874
04	390	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	1,25-98,75	5+5	10	97,5	0,346	0,361	0,337	8,640	0,160	0,883
05	380	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	2,5-97,5	10+10	20	95	0,025	0,318	0,938	8,805	0,142	0,910
06	360	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	5-95	20+20	40	90	0,336	0,282	0,235	8,663	0,128	0,927
07	320	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	10-90	40+40	80	80	0,412	0,244	0,092	8,637	0,114	0,948
08	272	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	16-84	64+64	128	68	0,516	0,204	0,012	8,589	0,095	0,968
09	400	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	Perzent fest	0		100 orig	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342
10	396	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	0,5-99,5	2+2	4	99	3,233	0,492	0,000	7,269	0,214	0,746
11	392	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	1,0-99,0	4+4	8	98	2,854	0,458	0,000	7,454	0,200	0,780
12	390	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	1,25-98,75	5+5	10	97,5	3,027	0,465	0,000	7,370	0,204	0,771
13	380	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	2,5-97,5	10+10	20	95	1,718	0,421	0,000	8,001	0,189	0,825
14	360	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	5,0-95,0	20+20	40	90	2,477	0,427	0,000	7,630	0,195	0,810
25	320	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	10-90	40+40	80	80	3,211	0,415	0,000	7,249	0,193	0,816
16	272	$\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$	16-84	64+64	128	68	4,551	0,454	0,000	6,573	0,213	0,779

Legende siehe Tabelle 4.2.2.4

4.2.2.4.2 Der Einfluss abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare, definiert durch $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ (Tab. 4.2.2.4.2)

Berechnet man nach der Formel $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{MedianCu/Cpl-Q} * \text{Cpl}$ (in dieser Serie $8,8493 * \text{Cpl}$) für jedes $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaar, so findet man unter den 400 $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen folgende Verteilung abweichender Messungen.

Verteilung abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare definiert durch $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ und deren Einfluss auf die Regressionsanalyse (siehe Tabelle 4.2.2.4.2)

Mit Entfernen der am stärksten abweichenden $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare nimmt die mittlere nichtCplCu-Konzentration deutlich ab: nach Entfernen der vier am stärksten abweichenden Messungen fällt sie (von ursprünglich $10,94 \mu\text{mol/l}$) auf einen niedrigen, statistisch nicht signifikanten Wert von $0,44 \mu\text{mol/l}$. Das Entfernen weiterer Messungen senkt das nichtCplCu auf Werte, die kaum noch von $0,0 \mu\text{mol/l}$ abweichen (siehe Tabelle 4.2.2.4.2, Zeile 09 -18).

Das heißt, dass die mittlere Konzentration des nichtCplCu in 396 der 400 Seren dieser Studie statistisch nicht von Null unterschieden ist.

Definiert man die abweichenden $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare nicht nach der absoluten Größe, sondern nach der Lage ihrer ΔCu außerhalb der Perzentilen ergibt sich nach ihrem Entfernen aus dem Datensatz ein nahezu identisches Ergebnis:

Nach Entfernen nur der $\text{Cu}+\text{Cpl}$ -Messungen mit $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ unter der Einer- und über der 99er Perzentile ($n = 8$) ergibt die Regressionsanalyse für das nichtCplCu einen Wert von $0,305$, das Entfernen weiterer Messungen führt zu nichtCplCu zwischen $-0,047$ und $0,305$ ($p > 0,005$). Für die Cu/Cpl -Koeffizienten errechnen sich Werte zwischen $8,64$ und $8,84$. (Tabelle 4.2.2.4.2, Zeile 01 -08).

4.2.2.4.2.1 Selektives Entfernen von $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen mit den jeweils am stärksten abweichenden $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ (Tabelle 4.2.2.4.2)

Entfernt man mindestens fünf $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen mit den jeweils am stärksten abweichenden $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ schrittweise und ohne Korrektur des $\Delta\text{-Cu}$ (Methode B.1, siehe Tabelle: 3.3.4.2), so errechnet die Regressionsanalyse Werte für nichtCplCu zwischen –

0,023 und 0,44 $\mu\text{mol/l}$. Ohne Korrektur des $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ ergeben sich bei dieser Methode ($\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ fest) identische Ergebnisse (siehe Tabelle 4.2.2.4.2, Zeilen 09 -31)

4.2.2.4.2.2 Die "en bloc" Entfernen von Cu+Cpl-Messungen mit abweichenden $\Delta\text{-Cu}$ (Tabelle 4.2.2.4, Zeilen 36-38)

Mit der Berechnung von $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ und $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ wird eine initial unterschiedliche Zahl von Cu+Cpl-Messungen erfasst: für 17 Messungen des Datenkollektivs wird ein $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} >10 \mu\text{mol/l}$ und für nur 4 Messungen wird ein $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} >10 \mu\text{mol/l}$ errechnet.

Entfernt man diese 17 bzw. 4 abweichenden Cu+Cpl-Messungen „en bloc“ aus dem Datenkollektiv, so ergeben die Regressionsanalysen

$$\text{für } \Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}: \quad \text{Cu} = 3,874 + 6,891 * \text{Cpl}$$

$$\text{für } \Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}: \quad \text{Cu} = 0,044 + 8,801 * \text{Cpl}.$$

Bei Anwendung des $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ für die Definition stark abweichende Cu+Cpl-Messungen kann also eine "en bloc" Entfernung abweichender Messungen zu irreführenden Ergebnissen führen.

Tabelle 4.2.2.4.2: Regressionsanalysen, $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$

Spalte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
						a = nCplCu			b = Cu/Cpl-Koeffizient			CuCplQ	
Zeile	n	Ausschluß-Kriterium		ausgeschl. #		Verblieben%	MW	1StAbw	p	MW	1StAbw	R ²	MW
01	400	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	Perzent fest	0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342	9,1145
02	396	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	0,5-99,5	2+2	4	99	2,732	0,489	0,000	7,495	0,212	0,761	
03	392	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	1,0-99,0	4+4	8	98	0,305	0,378	0,418	8,659	0,166	0,874	
04	390	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	1,25-98,75	5+5	10	97,5	0,346	0,361	0,337	8,640	0,160	0,883	
05	380	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	2,5-97,5	10+10	20	95	-0,047	0,315	0,882	8,839	0,141	0,912	
06	360	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	5,0-95,0	20+20	40	90	0,336	0,282	0,235	8,663	0,128	0,927	
07	320	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	10-90	40+40	80	80	0,282	0,240	0,241	8,700	0,112	0,950	
08	272	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	16-84	64+64	128	68	0,267	0,206	0,195	8,710	0,096	0,968	8,8491
09	400	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	fest	0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342	
10	399	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 50	1+0	1	99,75	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666	
11	397	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>30	3+0	3	99,25	1,318	0,478	0,006	8,218	0,210	0,795	9,17
12	396	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 20	4+0	4	99,00	0,436	0,428	0,309	8,658	0,189	0,842	
13	395	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 15	4+1	5	98,75	-0,023	0,407	0,956	8,849	0,179	0,861	
14	394	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 10	4+2	6	98,50	0,044	0,389	0,910	8,801	0,171	0,871	
15	386	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 7,5	9+5	14	96,50	0,090	0,333	0,787	8,800	0,148	0,902	
16	378	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 5,0	13+9	22	94,50	-0,072	0,309	0,816	8,876	0,138	0,917	
17	362	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 4,0	22+16	38	90,50	0,291	0,284	0,307	8,715	0,129	0,927	
18	335	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	> 3,0	38+27	65	83,75	0,294	0,251	0,243	8,737	0,116	0,944	
19	400	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	angepasst	0	0	100	10,944	0,628	0,000	3,678	0,256	0,342	9,11
20	399	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>50	1+0	1	99,75	4,289	0,562	0,000	6,778	0,241	0,666	9,14
21	398	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>40	2+0	2	99,50	3,021	0,511	0,000	7,398	0,221	0,738	9,15
22	397	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>30	3+0	3	99,25	1,318	0,478	0,006	8,218	0,210	0,795	9,17
23	396	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>20	4+0	4	99,00	0,436	0,428	0,309	8,658	0,189	0,842	9,18
24	395	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>15	4+1	5	98,75	-0,023	0,407	0,956	8,849	0,179	0,861	8,86
25	394	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>10	4+2	6	98,50	0,044	0,389	0,910	8,801	0,171	0,871	8,84
26	390	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>9	7+3	10	97,50	0,045	0,357	0,901	8,824	0,158	0,890	8,86
27	387	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>8	8+5	13	96,75	0,148	0,338	0,663	8,764	0,150	0,898	8,86
28	386	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>7,5	9+5	14	96,50	0,090	0,333	0,787	8,800	0,148	0,902	8,86
29	385	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>7,0	10+5	15	96,25	-0,059	0,330	0,860	8,878	0,147	0,905	8,87
30	384	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>6,0	10+6	16	96,00	-0,063	0,325	0,847	8,872	0,145	0,907	8,86
31	378	$\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	>5,0	13+9	22	94,50	-0,072	0,309	0,816	8,876	0,138	0,917	8,86

Legende siehe Tabelle 4.2.2.4

4.2.3 Bewertung der Ergebnisse der Untersuchungsserie Augsburg

Die Untersuchungen dieser Serie ergeben zwei nicht kompatible Gruppen von Ergebnissen: Die Regressionsanalyse am kompletten Datensatz führt zu einem nicht plausiblen Ergebnis ($\text{Cu} = 10,9 \mu\text{mol/l} + 3,7 * \text{Cpl}$), also zu einem mittleren nichtCplCu von $10,9 \mu\text{mol/l}$, d.h. einer Cu-Konzentration in den Seren, die im Mittel etwa 50% von deren gesCu-Konzentration entspricht, und zu einem Cu/Cpl-Koeffizient von 3,7. Ein solcher Wert ist nicht plausibel, weil die sechs Bindungsstellen für Cu im Cpl-Molekül immer besetzt sein sollen und deshalb der niedrigste Cu/Cpl-Koeffizient, der gefunden werden kann, 6 beträgt. Die Richtigkeit dieses Ergebnisses darf deshalb angezweifelt werden.

Möglich wäre jedoch anzunehmen, dass – wie das Diagramm 4.2.1-1 anzeigt – einige wenige Messwertepaare stark abweichen vom Gros Messungen und – wie das Diagramm ebenfalls zeigt – zur Fehllage der Regressionsgerade führen. Tatsächlich ergibt sich, wenn man die Regressionsanalyse nach Entfernen der fünf am stärksten abweichenden $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen wiederholt, ein völlig anderes Ergebnis, nämlich: $\text{Cu} = -0,02 \mu\text{mol/l} + 8,8 * \text{Cpl}$.

Nahezu gleiche Ergebnissen werden in Versuchen erreicht, in denen andere (als optische) Methoden zur Erkennung abweichender $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen angewendet werden. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass die abweichenden Messungen schrittweise und unter korrigierender Anpassung des $\Delta\text{-Cu}$ entfernt werden.

Am anschaulichsten ist dies zu erkennen an der vergleichenden "en-bloc-Entfernung" der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen mit $\Delta\text{-Cu} > 10 \mu\text{mol/l}$ (Tabelle 4.2.2.4, Zeilen 36-38). Hier zeigt sich die Überlegenheit der Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ als $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ über die fehlerhafte Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ als $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$.

Sämtliche Berechnungen **ohne korrigierende Anpassung** (Ausnahme die $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ - Methode) führen zu nicht plausiblen Ergebnissen (Sigma-Methode; Perzentilen-Methode; Methode mit selektiver Entfernung).

Die Berechnungen **mit korrigierender Anpassung** führen dagegen zu plausiblen Ergebnissen.

Der Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse liegt in der Sicherheit mit welcher der $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ (hier 8,85 bereits mit dem Original-Datensatz) den mit den anderen Methoden erst nach Korrekturen erreichbaren Cu/Cpl-Koeffizienten von 8,80 entspricht. Die Differenz

zwischen $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ und dem Cu/Cpl-Koeffizienten (errechnet nach Entfernen der Ausreißer unter den $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen) beträgt 1%.

Entsprechend niedrig ist in dieser Untersuchungsserie **das nichtCplCu**: Mit Werten zwischen 0,0 und maximal 0,3 $\mu\text{mol/l}$ beträgt sein prozentualer Anteil an der mittleren Cu-Konzentration von 19,13 $\mu\text{mol/l}$ hier maximal **1,6%** (siehe hierzu aber auch Diskussion).

Diese Beobachtung wird dadurch erklärt, dass einige wenige $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen (siehe **Tabelle 4.2.2.4**) die Regressionsanalyse erheblich stören.

Diese Annahme wird dadurch bestätigt, dass die Entfernung von Cu+Cpl-Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$, die nach der initialen Regressionsanalyse berechnet wurden und außerhalb der 3-, 2- und 1s Grenzen liegen, zwar zu einer Verminderung des errechneten nichtCplCu und zu einer Erhöhung des Cpl-Cu führen, jedoch nicht bis zu den erwarteten und mit der "optischen" Methode tatsächlich gefundenen Werten.

Völlig anders sind die Ergebnisse der Perzentilen-Studie, bei der – ausgehend von der initialen Regressionsanalyse – $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ außerhalb der Perzentilen schrittweise (beginnend bei <0,5-99,5<) aus dem Kollektiv entfernt werden. Bereits die Entfernung von nur 8 (2%) der Messungen führt zu einer Regressionsanalyse mit nichtCplCu <0,5 $\mu\text{mol/l}$ und Cpl-Cu von 8,7. Die Entfernung weiterer Cu+Cpl-Messungen beeinflusst das Ergebnis nicht weiter.

Beachtet werden muss, dass nach der Entfernung von abweichenden Messungen vor der neuen Regressionsanalyse $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ jeweils neu berechnet und die Daten entsprechend neu geordnet werden müssen. Unterbleibt dieser Schritt, so wird ein zu hohes nichtCplCu und ein zu niedriger Cu/Cpl-Koeffizient berechnet [vergleiche die Perzentilen-Studie mit angepasstem $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ (Tabelle 4.2.2.4.1.3. Zeile 01 – 08) mit der Perzentilen-Studie mit fixiertem $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ (Tabelle 4.2.2.4.1.3. Zeile 09 – 16)]. Bei fixiertem $\Delta\text{-Cu}$ fällt das extrem hohe nichtCplCu zwar von 10,9 ab auf Werte zwischen 1,7 und 4,6 $\mu\text{mol/l}$, es erreicht aber nie Werte <1,7 $\mu\text{mol/l}$.

Wichtig ist auch eine zweite Beobachtung in dieser Studie (sie hängt mit der ersten eng zusammen): Wenn man erheblich abweichende $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen nicht schrittweise, sondern als "en bloc" (hier alle Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} >10 \mu\text{mol/l}$) entfernt, kann die

gewünschte Korrektur nur sehr langsam erfolgen. Bei diesem Ansatz ergibt sich durch die Entfernung der mit der initialen Regressionsanalyse festgelegten 17 Messungen mit einem $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} > 10 \mu\text{mol/l}$ bei der nachfolgenden Regressionsanalyse ein nichtCplCu von $3,87 \mu\text{mol/l}$ (Tabelle 4.2.2.4, Zeilen 36-38). Die vorangehenden Untersuchungen hatten jedoch ergeben, dass die Entfernung von nur 4 oder 5 Messungen zu einer Verminderung des nichtCplCu auf $< 0,5 \mu\text{mol/l}$ führt.

Im zweiten Ansatz wird nach der anfänglichen Regressionsanalyse schrittweise die Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} > 50 \mu\text{mol/l}$, dann die mit $> 30 \mu\text{mol/l}$, mit $> 20 \mu\text{mol/l}$ usw. entfernt und jedes Mal erneut eine Regressionsanalyse mit Berechnung der korrigierten Werte für $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ durchgeführt. Nach diesem schrittweisen und selektiven Vorgehen genügt die Entfernung von nur 4 Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} > 20 \mu\text{mol/l}$ um nichtCplCu $< 0,5 \mu\text{mol/l}$ zu erreichen. Bei Vergleich beider Methoden zeigt sich auch, dass mit Verfahren 2 nur noch 6 und nicht mehr 17 Messungen als abweichend mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}} > 10 \mu\text{mol/l}$ charakterisiert sind (Tabelle 4.2.2.4, Zeile 08 + 16).

Die Neuberechnung des $\Delta\text{-Cu}$ nach jeder Regressionsanalyse ist nicht notwendig, wenn von vorn herein $\Delta\text{-Cu}$ als $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ berechnet wird (vergleiche Studie $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ "angepaßt" mit der Studie $\Delta\text{-Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ "fest" (Tabelle 4.2.2.4.2, Zeile 09 -31).

4.2.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen aus der Untersuchungsserie „Augsburg“

Im diesem Datensatz ($n = 400$) lassen sich fünf $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare optisch (durch Darstellung im Diagramm) und durch die Berechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ als Extremwerte definieren. Werden diese aus dem Datenkollektiv entfernt, errechnen sich mit der Regressionsanalysen für das nichtCplCu mittlere Konzentrationen zwischen $< 0,05$ bis $< 0,5 \mu\text{mol/l}$. Für den mittleren Cu/Cpl-Koeffizienten errechnet sich ein Wert von $8,8$ ($R^2: 0,86$). Diese Ergebnisse stützen die Hypothese I und II. Allerdings weicht auch in dieser Studie der Cu/Cpl-Koeffizient ($8,8$) erheblich ab vom erwarteten Wert $6,0$.

Das Aufsuchen von abweichenden $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen im Datenkollektiv geschieht am einfachsten mit der Berechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$. Dass diese Methode überhaupt anwendbar ist, beruht darauf, dass die überwiegende Mehrheit der Seren im Datensatz frei ist von nichtCplCu und dass somit $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ und Cu/Cpl-Koeffizient nahezu identisch sind.

Das Aufsuchen von abweichenden $Cu_{und}Cpl$ -Messungen im Datenkollektiv ist auch möglich mit der Berechnung des ΔCu_{REGR} . Da die Regressionsanalyse jedoch sehr stark von Extremwerten beeinflusst wird, müssen diese aus dem Datenkollektiv entfernt werden. Dies darf nur schrittweise geschehen, d.h. es dürfen nur die jeweils am stärksten abweichenden Messungen selektiv entfernt werden. Unabdingbar ist dann aber auch jeweils eine erneute Berechnung der ΔCu_{REGR} aller Messwertepaare. Geschieht dies nicht, werden falsche Ergebnisse errechnet.

In den weiteren Untersuchungen dieser Arbeit werden deshalb nur noch Untersuchungsergebnisse besprochen, die auf der Berechnung des $\Delta Cu_{MedianCu/Cpl-Q}$ beruhen oder denen die Berechnung des ΔCu_{REGR} und dessen Anpassung zugrunde liegt.

Die mit den anderen Methoden errechneten Ergebnisse werden jedoch –zum Vergleich und der Vollständigkeit halber – in den Tabellen mit aufgeführt.

4.3 Die Untersuchungsserie “M 1998 01-06“ (n = 230)

Diese dritte Untersuchungsserie wird hier beschrieben als Beispiel für eine Studie, bei der mit dem kompletten Datensatz (230 Cu_{und}Cpl-Messungen) initial eine relativ hohe, statistisch sogar signifikante mittlere Konzentration des nichtCplCu von 1,819 µmol/l und ein Cu/Cpl-Koeffizient <6,0 gefunden wird (Zeile 01 in Tab. 4.3.3.1.1), und bei der sich nach der Entfernen einiger weniger stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare niedrige, statistisch nicht signifikante nichtCplCu-Werte zwischen 0,02 und 0,4 µmol/l und ein Cu/Cpl-Koeffizient von nahezu exakt 6,0 ergeben.

Diese Studie stützt also alle drei Hypothesen dieser Arbeit.

4.3.1 Statistische Analysen des kompletten Datensatzes

Beschreibung der Messwerte

Vom 01.01.1998 bis zum 30.06.1998 wurden im Labor der Univ.-Kinderklinik in München Kupfer und/oder Coeruloplasmin in insgesamt 354 Serumproben gemessen, unter diesen Messungen waren 230 Cu_{und}Cpl-Messungen. Cu wurde gemessen in µg/dl und Cpl in mg/dl. Wir haben die Messergebnisse umgerechnet in µmol/l und für die Cu und Cpl aus den 230 Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren Mittelwert, StAbw, StAbwMW, Median, Min und Max, sowie die Summe berechnet (siehe Tabelle 4.3.1-1).

Die Konzentrationen von Cu und Cpl (Tabelle 4.3.1-1)

Mittelwert und Median von Cu-Konzentrationen (19,86 und 18,50 µmol/l) entsprechen denen der übrigen in dieser Arbeit beschriebenen Studien. Die Cpl-Konzentrationen liegen dagegen erheblich über denen der anderen Studien: der MW beträgt hier 3,19µmol/l und der Median 3,0 µmol/l.

Das Verhältnis zwischen MW und Medianen von Cu und Cpl

Bezogen auf die Konzentrationen (µmol/l) beträgt der Quotient aus MW Cu und MW Cpl 6,23 und der Quotient aus Median Cu und Median Cpl 6,17(Tab. 4.3.1-1, Spalte 6). Es entfallen (unter Vernachlässigung des nichtCplCu im Serum) also auf ein Molekül Cpl rechnerisch ca. sechs Atome Cu.

Der Anteil des Cu am Gewicht des Cpl beträgt (ebenfalls unter Vernachlässigung des nichtCplCu) 0,29964% (MW) bzw. 0,29679% (Median) (Tab. 4.3.1-1, Spalte 7).

Tab. 4.3.1-1: Statistische Auswertung der Studie München 1998: Konzentrationen von Cu und Cpl in den 230 Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren

1	2	3	4	5	6	7
Studie M 1998	Cu	Cu	Cpl	Cpl	Cu/Cpl	Cu/Cpl
n = 230	µmol/l	µg/dl	µmol/l	mg/dl		
Mw	19,86	126,18	3,19	42,11	6,23	0,0029964
StAbw	7,82	49,68	1,17	15,44		
StAbwMW	0,52	3,31	0,08	0,10		
Median	18,50	117,53	3,00	39,60	6,17	0,0029679
Min	5,00	31,77	0,20	2,64		
Max	43,80	278,27	6,50	84,80		

MW und Median der Cu/Cpl-Quotienten (Tabelle 4.3.1-2)

Berechnet man für jede Cu_{und}Cpl-Messung im Datensatz den Cu/Cpl-Quotienten, so ergeben sich für deren Mittelwert 6,567 und Median 6,0737. Diese Werte unterscheiden sich von den Quotienten der mittleren Cu- und der mittleren Cpl-Konzentration. Deren Mittelwert liegt etwas niedriger (6,23 im Vergleich zu hier: 6,567) und deren Median liegt etwas höher (6,17 im Vergleich zu hier: 6,0737). Auch hier sei auf die Übereinstimmung zwischen dem MedianCu/Cpl-Q und dem (in Kapitel 4.3.3) berechneten Cu/Cpl-Koeffizienten hingewiesen.

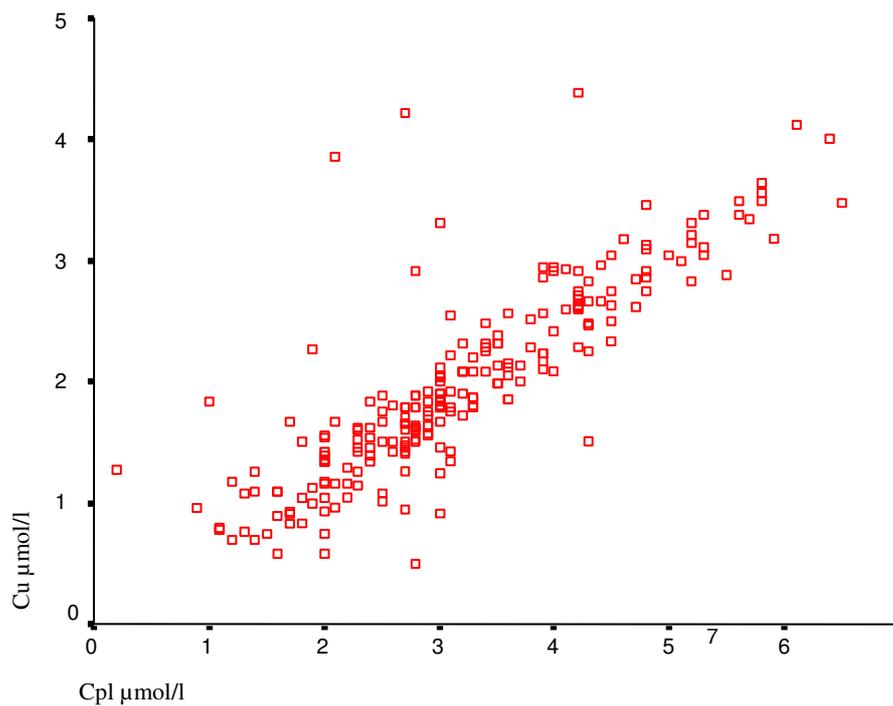
Tab 4.3.1-2 Statistik der 230 Cu/Cpl-Quotienten der Studie M 1998

Serie M 1998	
n = 230	Cu/Cpl-Quotient
MW	6,5670
StAbw	5,4835
StAbwMW	0,3616
Median	6,0737
Min	1,8000
Max	85,00

4.3.2 Graphische Darstellung

Im Diagramm 4.3.2 sind die 230 Cu_{und}Cpl-Messungen dieser Serie wiedergegeben. Es zeigt sich eine lineare, nach rechts oben ansteigende Punktwolke und einige nach oben und unten abweichende Cu_{und}Cpl-Messwertepaare.

Abb. 4.3.2 Die 230 Cu_{und}Cpl-Messwertepaare der Studie M 1998



Legende: Jeder Punkt gibt eine Cu_{und}Cpl-Messungen wieder; Y-Achse: Cu-Konzentration im Serum in µmol/l, X-Achse: Cpl-Konzentration im Serum in µmol/l

4.3.3 Regressionsanalysen an den 230 Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren der Studie M 1998

Die Regressionsanalyse mit dem kompletten Datensatz ergibt (bei $R^2 = 0,716$) ein statistisch signifikantes ($p = 0,024$) nichtCplCu von 1,8 µmol/l und einen Cu/Cpl-Koeffizienten von 5,7 (Tab. 4.3.3.1.1, Zeile 01).

Im Folgenden wird nun zunächst untersucht, ob diese Ergebnisse die Verhältnisse in der Gesamtpopulation widerspiegeln oder ob wiederum nur einige wenige stark abweichende Messungen das Ergebnis beeinflussen.

4.3.3.1 Regressionsanalysen nach Entfernen von stark abweichenden $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen

Stark abweichende $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen werden hier wieder nach den oben (siehe Methodik, siehe auch Ergebnisse, Kapitel 4.2.2) beschriebenen Verfahren ermittelt, und zwar der Methode I (Berechnung von $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ durch die Regressionsanalyse) und Methode II (Berechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ mit Hilfe des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten). Stark abweichende $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ - Messwertpaare werden dann versuchsweise aus dem Datensatz entfernt, anschließend erneut eine Regressionsanalyse durchgeführt, deren Ergebnisse (mittleres nichtCplCu und mittlerer Cu/Cpl-Quotient) dann zur Neuberechnung des ΔCu dienen. Parallel dazu wird $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ berechnet. So lassen sich abweichende $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertpaare charakterisieren

1. durch individuelle Bestimmung der am stärksten abweichenden $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$,
2. durch gruppenweise Zuordnung der $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$, die außerhalb der Sigma-Bereiche liegen
3. durch gruppenweise Zuordnung der $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$, die außerhalb der Perzentilen liegen, und zusätzlich
4. durch individuelle Bestimmung der am stärksten abweichenden $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ -Werte.

Die so ermittelten stark abweichenden Messwertpaare können dann aus dem Datensatz entfernt und jeweils neue Regressionsanalysen durchgeführt werden

4.3.3.1.1 $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen mit stark abweichendem $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$

(Tabelle 4.3.3.1.1, Spalten 2 und 3; Zeilen 01-07)

Auf der Basis des anhand der Regressionsanalyse errechneten mittleren nichtCplCu (1,819 $\mu\text{mol/l}$) und Cu/Cpl-Koeffizienten (5,658) wird für jede $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen das Residuum (hier $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$) nach der Formel $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}} = \text{Cu}_{\text{IST}} - (1,819 + 5,658 * \text{Cpl}_{\text{IST}})$ berechnet. Unter den 230 Messungen der Serie findet man dann die in der folgenden Tabelle 4.3.3.1.1 (Zeile 01-07, Spalte 3) angegebene Zahl abweichender Messungen.

Definieren wir Messungen mit einem $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}} > 5 \mu\text{mol/l}$ als stark abweichend, so enthält dieser Datensatz ($n = 230$) 24, also etwas 10% solcher erheblich abweichender Messungen.

Selektives Entfernen von Cu_{und}Cpl-Messung mit stark abweichenden Δ -Cu_{REGR}

Entfernt man aus dem Datenkollektiv die abweichenden Messungen schrittweise und korrigierend (Tab 4.3.3.1.1, Zeilen 08-14), so entdeckt man im Datensatz zehn Messungen mit einem Δ Cu_{REGR} >10 μ mol/l. Sind diese entfernt, ergibt die Regressionsanalyse ein nichtCplCu von 0,214 μ mol/l und einen Cu/Cpl-Koeffizienten von 6,014 ($R^2 = 0,885$). Die Entfernung weiterer der initial erheblich abweichenden Messungen ändert dieses Ergebnis nicht mehr (vergleiche die Zeilen 12, 13 und 14 in Tab. 4.3.3.1.1).

Entfernt man dagegen aus dem Datenkollektiv die abweichenden Messungen schrittweise, aber nicht korrigierend, so errechnen sich nichtCplCu-Konzentrationen um 0,5 μ mol/l und Cu/Cpl-Koeffizienten um 6 (siehe Zeilen 01 bis 06 in Tab. 4.3.3.1.1).

Tabelle 4.3.3.1.1 Ermittlung von $Cu_{und}Cpl$ -Messungen mit den höchsten $\Delta-Cu_{REGR}$

Spalte	1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11
	N	Ausschluss-Kriterium	Messungen Entfernt		Messungen bewertet	Bezug	nichtCplCu = a			Cu/Cpl-Koeff. = b	Cu/Cpl-Koeff. = b	R ² der RGA
			n =		%		MW	StAbw	p	MW	StAbw	
Zeile:												
01	230	$\Delta-Cu_{REGR}$ fest	0		100		1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
02	229	>25	0+1	1	99,57	1,819+5,658*Cpl	1,584	0,738	0,033	5,698	0,217	0,752
03	228	>20	0+2	2	99,13	1,819+5,658*Cpl	1,193	0,668	0,076	5,782	0,196	0,793
04	227	>15	0+3	3	98,70	1,819+5,658*Cpl	1,302	0,627	0,039	5,726	0,185	0,811
05	221	>10	2+7	9	96,09	1,819+5,658*Cpl	0,624	0,514	0,226	5,902	0,151	0,875
06	218	>7,5	4+8	12	94,78	1,819+5,658*Cpl	0,351	0,278	0,466	5,995	0,143	0,894
07	206	>5,0	12+12	24	89,57	1,819+5,658*Cpl	0,822	0,427	0,056	5,877	0,124	0,917
08	230	$\Delta-Cu_{REGR}$ korrigiert	0		100		1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
09a	229	>25	0+1	1		1,819+5,658*Cpl	1,584	0,738	0,033	5,698	0,217	0,752
09b	228	>25(2)	0+2	2	99,13	1,584+5,698*Cpl	1,193	0,668	0,076	5,782	0,196	0,793
10	228	>20	0+2	2	99,13	1,584+5,698*Cpl	1,193	0,668	0,076	5,782	0,196	0,793
11	227	>15	0+3	3	98,70	1,193+5,782*Cpl	1,302	0,627	0,039	5,726	0,185	0,811
12	220	>10	2+8	10	95,65	1,302+5,726*Cpl	0,214	0,503	0,671	6,014	0,147	0,885
13	219	>7,5	3+8	11	95,22	0,214+6,014*Cpl	0,278	0,489	0,570	6,008	0,143	0,891
14	209	>5,0	8+13	21	90,87	0,278+6,008*Cpl	0,550	0,433	0,205	5,925	0,126	0,914

4.3.3.1.2 Entfernen von $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ außerhalb der Sigma-Bereiche

$\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen mit $\Delta\text{-Cu}_{\text{REGR}}$ außerhalb der Drei-, Zwei- oder Ein-Sigma-Grenzen ($n = 5, 11$ bzw. 31) werden aus dem Datenkollektiv entfernt und eine zweite Regressionsanalyse durchgeführt. (Tab 4.3.3.1.2)

Wenn 11 $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare entfernt werden (2-Sigma-Methode), fällt das nichtCplCu von $1,82$ auf $0,28 \mu\text{mol/l}$, wenn weniger (mit der 3-Sigma-Methode $n = 5$) oder mehr (mit der 1-Sigma-Methode $n = 31$) $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare entfernt, errechnen sich Werte für nichtCplCu $>1,0$ ($1,31 \mu\text{mol/l}$ mit der 3-Sigma-Methode und $1,11 \mu\text{mol/l}$ mit der 1-Sigma-Methode). (Zeilen 03, 06 und 09 der Tabelle 4.3.3.1.2)

Man gewinnt hier den Eindruck, dass das Entfernen von fünf $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen (entsprechend den 3-Sigma-Grenzen, siehe Zeile 03) nicht, die Entfernung von 11 Messungen (entsprechend den 2-Sigma-Grenzen, siehe Zeile 05 -07) dagegen sehr wohl ausreicht, die am meisten abweichenden $\text{Cu}+\text{Cpl}$ -Messungen zu entfernen. Die Methode 3-Sigma definiert mit $n = 31$ möglicherweise nicht nur Extremwerte als stark abweichende Messungen. (Tabelle 4.3.3.1.2, Zeilen 08 -10)

Wiederholt man das Verfahren, nachdem zu vor die $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ neu berechnet wurden, so findet die Methode 3-Sigma weitere 6, die Methode 2-Sigma weitere 12 und die Methode 3-Sigma weitere 70 außerhalb der Grenzen liegende Messungen. Der niedrigste Wert für nichtCplCu wird jetzt mit Methode 2-Sigma erreicht, durch die (jetzt in 2 Schritten) 11 Messungen als stark abweichend definiert werden konnten (Zeilen 04, 07 und 10 der Tabelle 4.3.3.1.2).

Mit verschiedenen Methoden lässt sich für diesen Datensatz also nachweisen, dass er etwa 11 stark abweichende Messwertepaare enthält. Werden diese aus dem Datensatz entfernt, ergibt die Regressionsanalyse (am korrigierten Datensatz der Studie M 1998) $\text{Cu} = 0,278 \mu\text{mol/l}$ ($p = 0,570$) + $6,008 * \text{Cpl}$ ($R^2 = 0,891$). Das nichtCplCu von hier $0,278 \mu\text{mol/l}$ liegt dem in der Studie Hannover gefundenen ($0,215 \mu\text{mol/l}$) sehr nahe.

Tabelle 4.3.3.1.2 Ermittlung der Cu_{und}Cpl-Messungen außerhalb der Sigma-Grenzen

Spalte	1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11
	n	Ausschluss-Kriterium	Messungen Entfernt		Messungen Bewertet	Bezug	nichtCplCu = a			Cu/Cpl-Koeff. = b	Cu/Cpl-Koeff. = b	R ² der RGA
Zeile:			N =		%		MW	StAbw	p	MW	StAbw	
01	230		0		100		1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
02	230	3 sigma	0		100		1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
03	225	<3StAbw<	1+4	5	97,83	1,819+5,658Cpl	1,313	0,580	0,025	5,719	0,177	0,835
04	219	2. <3StAbw<	+(2+4)	11	95,22	1,313+5,719Cpl	0,278	0,489	0,570	6,008	0,143	0,891
05	230	2 sigma	0				1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
06	219	<2StAbw<	3+8	11	95,22	1,819+5,658Cpl	0,278	0,489	0,570	6,008	0,143	0,891
07	207	2. <2StAbw<	+(6+6)	23	90,00	0,278+6,008Cpl	0,659	0,426	0,123	5,891	0,124	0,917
08	230	1 sigma	0				1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
09	199	<1StAbw<	14+17	31	86,52	1,819+5,658Cpl	1,112	0,401	0,006	5,762	0,117	0,925
10	129	2. <1StAbw<	+(35+35)	101	56,09	1,112+5,762Cpl	0,869	0,305	0,005	5,827	0,091	0,970

4.3.3.1.3 Entfernen von Cu_{und}Cpl-Messungen mit Δ -Cu_{REGR} außerhalb der Perzentilen

In diesen Versuchen wird im Datensatz der Studie M 1998 die Stärke der Abweichungen der Cu_{und}Cpl-Messungen definiert nach deren Lage innerhalb oder außerhalb der Perzentilen.

Bei schrittweiser Entfernung der abweichenden Cu+Cpl-Messungen außerhalb der Perzentilen ergeben die Regressionsanalysen (Tab 4.3.3.1.3, Zeilen 06-10) Mittelwerte für das nichtCplCu unter 0,5 µmol/l und für die Cu/Cpl-Koeffizienten von 6,0 erreicht. Bei Korrektur der Δ -Cu-Werte

nach Entfernen der Cu+Cpl-Messungen mit Δ -Cu außerhalb der Perzentilen ergibt eine kontinuierliche Abnahme des nichtCplCu von 1,819 über 1,115, 0,822 und 0,594 auf 0,091 $\mu\text{mol/l}$. Um diese Werte zu erreichen, muss allerdings eine relativ große Zahl von Cu_{und}Cpl-Messungen entfernt werden.

Ihr Entfernen ohne anschließende Korrektur (Tabelle 4.3.3.1.3; Zeilen 01 bis 05) hat zwar zur Folge, dass sich die Mittelwerte des nichtCplCu vermindern, die Werte bleiben jedoch relativ hoch (0,5 bis 1,1 $\mu\text{mol/l}$); gleichzeitig steigt der Cu/Cpl-Koeffizient an auf Werte zwischen 5,81 und 5,93.

Tabelle 4.3.3.1.3 Ermittlung der Cu_{und}Cpl-Messung mit Δ -Cu_{REGR} außerhalb der Perzentilen

Spalte	1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11
	n	Ausschluss-Kriterium	Messungen Entfernt		Messung n bewertet	Bezug	nichtCplCu = a			Cu/Cpl-Koeff. = b	Cu/Cpl-Koeff. = b	R ² der RGA
Zeile			n =		%		MW	StAbw	P	MW	StAbw	
01	230	Δ -Cu _{REGR} Perzentile	fixiert		100	RGA orig	1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
02	218	<2,5-97,5>	2*6	12	94,78	1,819+5,658*Cpl	1,115	0,500	0,027	5,806	0,146	0,879
03	206	<5-95<	2*12	24	89,57	1,819+5,658*Cpl	0,822	0,427	0,056	5,877	0,124	0,917
04	184	<10-90<	2*23	46	80,00	1,819+5,658*Cpl	1,064	0,374	0,005	5,792	0,111	0,938
05	156	<16-84<	2*37	74	67,83	1,819+5,658*Cpl	0,505	0,331	0,629	5,953	0,097	0,961
06	230	Δ -Cu _{REGR} Perzentile	korrigiert		100	RGA orig	1,819	0,802	0,024	5,658	0,236	0,716
07	218	<2,5-97,5>	2*6	12	94,78	1,819+5,658*Cpl	1,115	0,500	0,027	5,806	0,146	0,879
08	206	<5-95<	2*12	24	89,57	1,115+5,806*Cpl	0,822	0,427	0,056	5,877	0,124	0,917
09	184	<10-90<	2*23	46	80,00	0,822+5,877*Cpl	0,594	0,372	0,112	5,940	0,111	0,941
10	156	<16-84<	2*37	74	67,83	0,594*5,940*Cpl	0,091	0,321	0,778	6,0883	0,094	0,964

4.3.3.1.4 Bestimmen und Entfernen von $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen mit stark abweichendem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$

In diesen Untersuchungen werden die Residuen mit Hilfe des Medians aller Cu/Cpl-Quotienten als $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ berechnet. Er beträgt hier $6,0632 \mu\text{molCu}/\mu\text{molCpl}$, so dass sich mit Hilfe der Formel $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} = \text{Cu}_{\text{IST}} - 6,0632 * \text{Cpl}$ berechnen lassen und folgende Verteilung der stark abweichende Messungen gefunden wird. Es finden sich in diesem Datensatz mit $n = 230$ (Tab. 4.3.3.1.4 Zeilen 06 bis 11, Spalte 2)

zwei Messungen	mit $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 20 \mu\text{mol/l}$
vier Messungen	mit $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 15 \mu\text{mol/l}$,
10 Messungen	mit $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10 \mu\text{mol/l}$ und
23 Messungen	mit $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 5 \mu\text{mol/l}$.

Auch mit dieser Methode werden im Datensatz also 10% erheblich abweichende Messungen ($\Delta\text{Cu} > 5 \mu\text{mol/l}$) entdeckt.

Entfernt man die bezüglich ihres $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ am stärksten abweichenden Messungen schrittweise aus dem Datenkollektiv und definiert nach jedem Schritt für alle Messungen $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ neu, so zeigen die jeweiligen Regressionsanalysen ein Kleinerwerden des nichtCplCu von 1,78 über 1,12 (minus $n = 2$) und 1,18 (minus $n = 4$) auf 0,15 (minus $n = 10$) und 0,22 (minus $n = 11$). Die Cu/Cpl-Koeffizienten steigen dagegen von 5,68 auf 6,03 und nähern sich dem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$, der initial bei 6,07 und (bei minus $n = 11$) bei 6,06 liegt. R^2 steigt von 0,85 auf 0,94. Das Entfernen weiterer Messungen nach demselben Schema ergibt keine wesentliche Änderung der Untersuchungsergebnisse (Tab 4.3.3.1.4, Zeilen 12 bis 19).

Lässt man den Korrekturschritt (Neuberechnung des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$) aus, ergeben sich bei dieser Methode nahezu identische Ergebnisse (Tab 4.3.3.1.4, Zeilen 06 bis 11). Sowohl bei Berücksichtigung des "Δ-Cu fest" (Zeile 06-11) als auch des "Δ-Cu angepasst" (Zeile 12-19) zur Definition stark abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen führt die Entfernung von bis zu 3 solcher Messungen zu einer deutlichen Verminderung des nichtCplCu (Spalte 6) und einem leichten Anstieg des Cu/Cpl-Koeffizienten (Spalte 9).

Mit der Entfernung von 10 Cu+Cpl-Messungen wird ein nichtCplCu von $0,15 \mu\text{mol/l}$ ($p = 0,767$) und ein Cu/Cpl-Koeffizient von 6,039 errechnet (Zeile 09).

Wichtig erscheint uns hier anzumerken, dass bei Berechnung des Δ -Cu mit Hilfe des MedianCu/Cpl-Q durch beide Methoden (" Δ -Cu fest" und " Δ -Cu angepasst") bis zum Entfernen von Cu_{und}Cpl-Messungen mit Δ -Cu >7,5 μ mol/l dieselben Messungen erkannt werden.

Tabelle 4.3.3.1.4 Ermittlung der Cu_{und}Cpl-Messungen mit den höchsten $\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$

Spalte	1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11
	n	Ausschluss-Kriterium	Messungen Entfernt		Messungen bewertet	Bezug	nichtCplCu = a			Cu/Cpl-Koeff. = b	Cu/Cpl-Koeff. = b	R ² der RGA
Zeile			n =		%		MW	StAbw	p	MW	StAbw	
:												
01	230	$\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ Perzentile	fest	0	100	RGA orig	1,777	0,803	0,028	5,676	0,237	0,716
02	218	<2,5-97,5>	2*6	12	94,78	6,0737*Cpl	1,068	0,505	0,036	5,825	0,148	0,878
03	206	<5-95<	2*12	24	89,57	6,0737*Cpl	0,323	0,432	0,456	6,035	0,127	0,917
04	184	<10-90<	2*23	46	80,00	6,0737*Cpl	0,246	0,380	0,518	6,054	0,112	0,941
05	156	<16-84<	2*37	74	67,83	6,0737*Cpl	-0,0114	0,319	0,997	6,120	0,094	0,965
06	230	$\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ fest			100		1,777	0,803	0,028	5,676	0,237	0,716
07	228	>20	0+2	2	99,13	6,0737*Cpl	1,167	0,671	0,083	5,799	0,197	0,792
08	226	>15	0+4	4	98,70	6,0737*Cpl	1,181	0,603	0,052	5,749	0,178	0,824
09	220	>10	2+8	10	95,65	6,0737*Cpl	0,150	0,505	0,767	6,039	0,148	0,885
10	219	>7,5	3+8	11	95,22	6,0737*Cpl	0,216	0,492	0,660	6,031	0,144	0,890
11	207	>5,0	9+14	23	90,00	6,0737*Cpl	0,592	0,427	0,167	5,915	0,124	0,917
12	230	$\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ angepasst	0		100	RGA orig	1,777	0,803	0,028	5,676	0,237	0,716
13	228	>20	0+2	2	99,13	6,0737*Cpl	1,167	0,671	0,083	5,799	0,197	0,792
14	226	>15	0+4	4	98,70	6,0638*Cpl	1,181	0,603	0,052	5,749	0,178	0,824
15	220	>10	2+8	10	95,65	6,0605*Cpl	0,150	0,505	0,767	6,039	0,148	0,885
16	219	>7,5	3+8	11	95,22	6,0579*Cpl	0,216	0,492	0,660	6,031	0,144	0,890
17	207	>5,0	9+14	23	90,00	6,0592*Cpl	0,592	0,427	0,167	5,591	0,124	0,917
18	194	>4,0	14+22	36	84,35	6,0592*Cpl	0,140	0,404	0,729	6,038	0,119	0,930
19	174	>3,0	23+33	56	75,65	6,0564*Cpl	-0,019	0,351	0,973	6,075	0,103	0,953

4.3.4 Bewertung der Untersuchungsserie M 1998

Die Regressionsanalyse des Original-Datensatzes dieser Studie stützt zwei der drei hier zu überprüfenden Hypothesen: es besteht eine lineare Abhängigkeit der Cu-Konzentrationen von den Cpl-Konzentrationen (Hypothese II) und auf jedes Cpl-Molekül in den Seren entfallen annähernd 6 Atome Kupfer (Hypothese III). Nicht gestützt wird hier zunächst die Hypothese I, denn es errechnet sich ein statistisch signifikanter ($p = 0,028$) nichtCplCu-Wert von $1,8 \mu\text{mol/l}$.

Die weiteren Untersuchungen einschließlich der graphischen Darstellung der Messwerte lassen jedoch erkennen, dass der Datensatz einige ($n = 10$) stark abweichende Messungen (ΔCu -Werte $>10 \mu\text{mol/l}$) enthält. Entfernt man diese Messungen aus dem Datenkollektiv, errechnen sich mittlere nichtCplCu-Werte, die unter $0,5 \mu\text{mol/l}$ liegen und statistisch nicht mehr signifikant sind ($p < 0,5$); bei der Entfernung der Extremwerte bleibt der Cu/Cpl-Koeffizient unverändert (aufgerundet: 6,1).

Die Mehrzahl der Messungen (220 von 230 oder 96%) dieser Serie stützen also die drei Hypothesen dieser Arbeit. Allerdings ist diese Serie die einzige, durch welche die Hypothese III (Cu/Cpl-Koeffizient = annähernd 6) gestützt wird; in alle anderen Untersuchungsserien werden höhere Koeffizienten gefunden.

4.4 Untersuchungen über die Ursachen der Nicht-Kompatibilität verschiedener Cu und Cpl-Messwerte-Serien (n, insgesamt = 872)

Die in dieser Arbeit bisher untersuchten Serien von Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren aus den drei Laboratorien haben sich in sofern als nicht kompatibel erwiesen, als ihre Mittelwerte und Mediane der Cpl-Konzentrationen erheblich voneinander abweichen, obwohl die entsprechenden Werte der Cu-Konzentrationen nahezu identisch sind. Dies hat zur Folge, dass sich auch die Cu/Cpl-Koeffizienten und die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten (Median_{Cu/Cpl-Q}) der Serien erheblich von einander unterscheiden (siehe unten Tab. 4.4-1, in der die Werte der drei Untersuchungsserien Hannover 1988, Augsburg 2000/2001 und München 1998 wiedergegeben sind).

Tabelle 4.4-1 Mittelwerte und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen der drei Untersuchungsserien (H, M und A), sowie der zusammengeführten Serien

Serie	n	MW Cu-Konz.	Median Cu-Konz.	MW Cpl-Konz.	Median Cpl-Konz.	Median aller CuCpl-Q	Messungen mit $\Delta\text{-Cu} > 10$
1	2	3	4	5	6	7	8
Serie H	242	20,28	18,00	2,64	2,50	7,41	1+7=8
Serie M	230	19,85	18,50	3,19	3,00	6,07	2+8=10
Serie A	400	19,13	18,10	2,23	2,10	8,84	4+2=6
Serie H+M+A	872	19,64	18,10	2,60	2,39	7,85	29+16=45

Legende:

Für jede (Einzel-)Serie (H, M, A) und für die zusammengeführte Serie (H+M+A) sind angegeben die Zahl (n) der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare, die Mittelwerte (MW) und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen, der Median_{Cu/Cpl-Q} und die Anzahl der Messungen mit stark abweichendem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ (hier als den Wert 10 μmol übersteigend definiert)

Die Mittelwerte der Cu-Konzentrationen der drei (Einzel-)Serien liegen zwischen 19,13 (Serie A) und 20,28 $\mu\text{mol/l}$ (Serie H) und weichen untereinander und vom Mittelwert der zusammengeführten Serie (19,64 $\mu\text{mol/l}$) um maximal 1,15 $\mu\text{mol/l}$ oder 5,7% ab. **Die Mediane** liegen mit Werten zwischen 18,0 (Serie H) und 18,5 $\mu\text{mol/l}$ (Serie M) etwas niedriger, ihre Abweichung von einander entspricht in etwa der der Mittelwerte, ist insgesamt also ebenfalls nur gering.

Die Mittelwerte der Cpl-Konzentrationen liegen zwischen 2,23 und 3,19 $\mu\text{mol/l}$ und weichen somit untereinander und vom Mittelwert der zusammengeführten Serie (2,60 $\mu\text{mol/l}$) um maximal 0,59 $\mu\text{mol/l}$ oder 23% ab. Drei der vier Mediane liegen niedriger als die Mittelwerte; ihre Abweichung von einander entspricht der der Mittelwerte.

Solche Abweichungen der Cpl-Messwerte in verschiedenen Untersuchungsreihen können - bei nahezu identischen Cu-Messwerten - nur bedingt sein durch systematische Abweichungen der Messungen, die sich mit großer Wahrscheinlichkeit auf unterschiedliche Messmethoden zurückführen lassen. Diese Vermutung wird in den folgenden Untersuchungen dadurch überprüft, dass nach einer Angleichung (s.u.) der Cpl-Messwerte alle Cu_{und}Cpl-Messwertepaare der drei Reihen gemeinsam analysiert werden und auf Kompatibilität geprüft werden.

Die Angleichung der Datensätze

Diesem Versuch liegt die Vermutung zugrunde, dass alle Cpl-Messwerte einer Reihe sich von denen einer anderen um einen bestimmten Faktor unterscheiden. Es wird hier deshalb die Reihe mit den niedrigsten Cpl-Konz. (Reihe Augsburg) zur Referenz-Reihe gewählt und die Cpl-Messwerte der anderen Reihen entsprechend dem Verhältnis des Medians ihrer Cpl-Konzentration zum Median der Referenz-Reihe vergrößert oder verkleinert. Alle Cu_{und}Cpl-Messwertepaare der anderen Reihen enthalten dann anstelle des ursprünglich gemessenen Cpl ein angepasstes Cpl_a. Dieses wird dann in allen weiteren Rechnungen verwendet.

Zur Kontrolle wird in einem zweiten Versuchsansatz die Reihe mit der höchsten Cpl-Konzentration (Reihe München) zur Referenz Methode gewählt und mit den Cpl-Konzentrationen der anderen Reihen wie oben beschrieben verfahren.

Erster Versuchsansatz mit Reihe München als Referenz

Nimmt man die Reihe München als Referenz (Median-Cpl 3,00 μmol , der höchste Wert der drei Reihen; Tab. 4.4-1), werden alle Cpl-Messwerte der Reihe A mit $3,00/2,10 = 1,4$ und der Reihe H mit $3,00/2,50 = 1,2$ multipliziert. Eine neue Analyse der Reihen ergibt dann die in Tabelle 4.4-2 wiedergegebenen Werte.

Tabelle 4.4-2 Mittelwerte und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen der drei Studien (H, M und A) nach Anpassung der Cpl-Messwerte an die Studie M als Referenz-Serie, sowie in der zusammengeführten Serie

Serie	n	MW Cu-Konz.	Median Cu-Konz.	MW Cpl-Konz.	Median Cpl-Konz.	Median aller CuCpl-Q	Messunge n mit $\Delta\text{-Cu} > 10$
1	2	3	4	5	6	7	8
Serie H	242	20,28	18,00	3,12	3,00	6,28	1+7=8
Serie M	230	19,85	18,50	3,19	3,00	6,07	2+8=10
Serie A	400	19,13	18,10	3,13	3,00	6,30	4+2=6
Serie H+M+A	872	19,64	18,10	3,14	3,00	6,26	7+17=24

Legende: Für jede (Einzel-)Serie und für die zusammengeführte Serie (H+M+A) sind angegeben die Zahl (n) der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare, die Mittelwerte (MW) und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen, der Median_{Cu/Cpl-Q} und die Anzahl der Messungen mit stark abweichendem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10 \mu\text{mol}$.

Zweiter Versuchsansatz mit Serie Augsburg als Referenz

Nimmt man die Serie Augsburg als Referenz (Median-Cpl 2,1 $\mu\text{mol/l}$, der niedrigste Wert der drei Serien; Tab. 4.4-1), werden alle Cpl-Messwerte der Serie M mit $2,1/3,0 = 0,7$ und der Serie H mit $2,1/2,5 = 0,8$ multipliziert. Die neue Analyse der Serien ergibt dann die in Tabelle 4.4-3 wiedergegebenen Werte.

Tabelle 4.4-3

Serie	n	MW Cu-Konz.	Median Cu-Konz.	MW Cpl-Konz.	Median Cpl-Konz.	Median aller CuCpl-Q	Messunge n mit $\Delta\text{-Cu} > 10$
1	2	3	4	5	6	7	8
Serie H	242	20,28	18,00	2,22	2,10	8,82	1+7=8
Serie M	230	19,85	18,50	2,27	2,10	8,53	2+8=10
Serie A	400	19,13	18,10	2,23	2,10	8,85	4+2=6
Serie H+M+A	872	19,64	18,10	2,24	2,10	8,79	7+17=24

Legende: Mittelwerte und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen in den Seren der drei Studien (H, M und A) nach Anpassung der Cpl-Messwerte an die Studie A als Referenz-Serie, sowie in der zusammengeführten Serie. Für jede (Einzel-)Serie und für die zusammengeführte Serie (H+M+A) sind angegeben die Zahl (n) der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare, die Mittelwerte (MW) und Mediane der Cu- und Cpl-Konzentrationen, der

$\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ und die Anzahl der Messungen mit stark abweichendem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10$ μmol .

Stark abweichende Messungen

In den obigen drei Tabellen sind jeweils in den in Spalten 7 der jeweilige $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ und in den Spalten 8 die Anzahl der jeweils am stärksten abweichenden $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare jeder Serie (hier definiert als $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10$) angegeben. Deren Anzahl liegt, wenn man 10 $\mu\text{mol/l}$ als Grenzwert einsetzt, in den Einzelserien bei acht, zehn und sechs, insgesamt also bei 24 Messungen. Nach der Zusammenführung der drei Serien ohne Anpassung der Cpl-Werte erhöht sich deren Anzahl auf 45 (Tab. 4.4-1). Bei Zusammenführung der drei Serien nach vorausgegangener Anpassung fällt die Zahl wieder auf 24.

Diese Wiederfindung der stark abweichenden Messungen kann als erster Hinweis darauf angesehen werden, dass die Angleichung der Cpl-Messwerte möglicherweise zu einer (der erwarteten) Kompatibilität der Messserien führt. Entsprechende Untersuchungen folgen in Kapitel 4.4.2. Zunächst wird jedoch eine Zusammenführung der drei Serien ohne vorausgehende Anpassung vorgenommen, um anhand statistischer Analysen und der graphischen Darstellung nachzuweisen, dass die Serien ohne Anpassung tatsächlich nicht kompatibel sind (siehe folgendes Kapitel 4.4.1).

4.4.1 Untersuchungen an zusammengeführten Serien von Messungen ohne Angleichung der Cpl-Messwerte

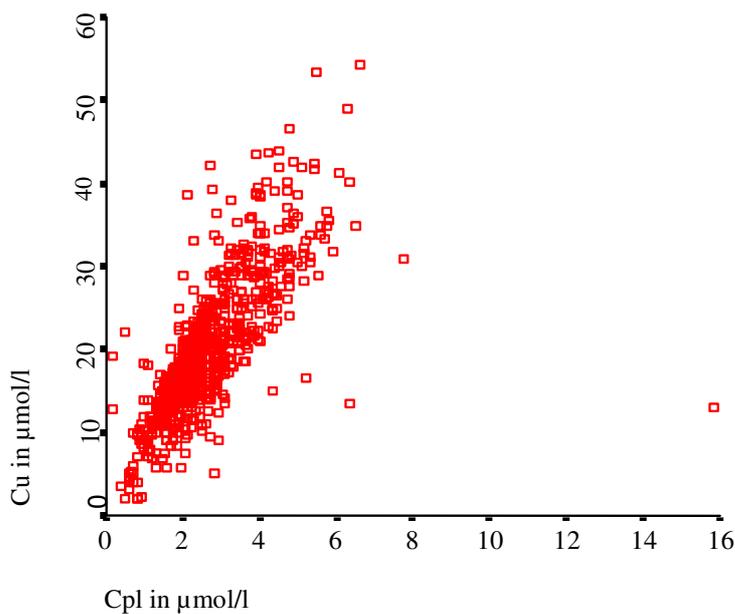
4.4.1.1 Die graphische Darstellung der vereinigten $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare aus den Serien H, M und A

In Abb. 4.4.1.1 sind sämtliche ($n= 872$) Messwertepaare der drei Studien zusammengeführt wiedergegeben.

Das Diagramm lässt eine nach oben breiter werdende Punktwolke erkennen, die Zweifel an einer streng linearen Abhängigkeit von Cu und Cpl in den Seren aufkommen lassen könnte.

Diagramm "H 1988, A 2000/2001, M 98", $n = 872$

Verteilung der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare der drei Studien ohne Angleichung der Cpl-Messwerte



Legende: Jedes Quadrat entspricht einer $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messung ($n = 872$) aus den drei Untersuchungsserien. Cu = Kupferkonzentration (Ordinate); Cpl = Coeruloplasminkonzentration (Abszisse).

Bewertung: Die Abbildung lässt eine nach oben breiter werdende Punktwolke erkennen, die auf eine größere Ungenauigkeit der Messungen im oberen Bereich hindeuten könnte.

4.4.1.2 Statistische Analysen

Führt man alle $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen der drei Untersuchungsserien zusammen, ergeben sich für den Median der Cu-Konzentrationen 18,10 $\mu\text{mol/l}$, für den Median der Cpl-Konzentrationen 2,39 $\mu\text{mol/l}$ und für den $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ 7,85 (siehe Tab. 4.4.-1).

4.4.1.3 Regressionsanalyse

Die Regressionsanalyse ergibt für die drei zusammengeführten Datensätze:

$$\text{Cu} = 6,838 \mu\text{mol/l} + 4,702 * \text{Cpl}$$

und nach Entfernen von (48+117=) 165 (oder 18,9%) Messungen der am stärksten abweichenden Messungen (mit $\Delta\text{-Cu} > 7,5 \mu\text{mol/l}$):

$$\text{Cu} = 2,545 \mu\text{mol/l} + 6,464 * \text{Cpl},$$

also Ergebnisse, die denen der Einzelanalysen der drei Serien widersprechen (vergl. Kapitel 4.1.2, 4.2.2, 4.3.3).

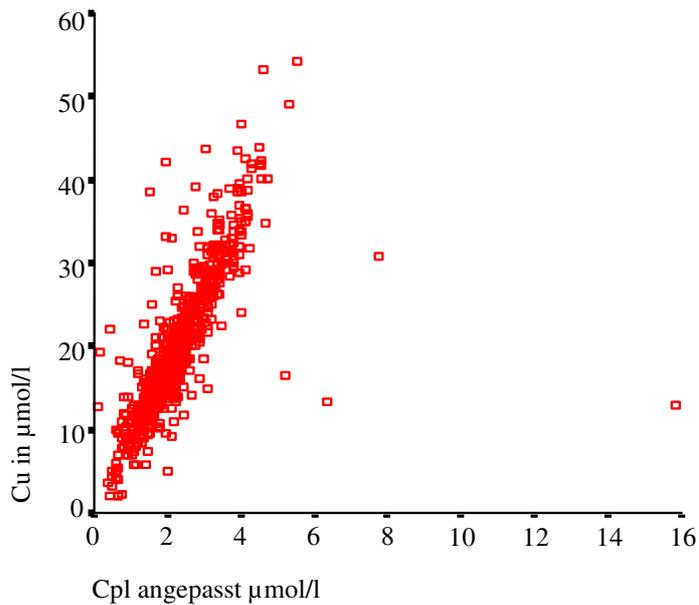
4.4.2 Zusammenführen der Messdaten der drei Studien A, M, H nach Anpassen der Cpl-Messwerte

Hier werden vor der Zusammenführung der drei Datensätze ihre Cpl-Messwerte (entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren) angeglichen.

4.4.2.1 Graphische Darstellung der vereinigten $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare

In Abb. 4.4.2.1 sind alle (n= 872) Messwertepaare der drei Studien nach der Angleichung wiedergegeben.

Diagramm 4.4.2.1 Graphische Darstellung der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen aus drei Untersuchungsserien nach Anpassung der Cpl-Messwerte



Legende: siehe Abb. 4.4.1.1

Hier ist – im Gegensatz zur Abb. 4.4.1.1 – die Mehrzahl der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare in einem relativ schmalen, linear ansteigenden Bereich konzentriert, ein Auseinanderweichen der Messungen im oberen Bereich ist nicht mehr erkennbar.

4.4.2.2 Statistische Analysen

Führt man alle $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen der drei Untersuchungsserien nach Anpassen der Cpl-Messwerte zusammen, ergibt sich für den Median der Cu-Konzentrationen unverändert der Wert $18,10 \mu\text{mol/l}$, für den Median der Cpl-Konzentrationen $3,00 \mu\text{mol/l}$ und für den Median aller $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare ($\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$) ein Wert von $6,15$.

Berechnet man mit Hilfe dieses $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ für alle Messungen das $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ und sucht nach stark abweichenden Messungen (hier definiert als solche mit einem $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10 \mu\text{mol/l}$) so findet man 7 nach unten und 17 nach oben, insgesamt also 24 abweichende Messungen. Diese Zahl entspricht nun genau der Summe der in den 3 Serien abweichenden Messungen (vergleiche damit die weit größere Zahl (45) gleich stark abweichender Messungen der vor der Analyse nicht angepassten Serien).

4.4.2.3 Regressionsanalyse

Die Regressionsanalyse ergibt für die drei vereinigten (vollständigen) Datensätze:

$$\mathbf{Cu = 6,390 \mu mol/l + 4,219 * Cpl}$$

und nach Entfernen der Messungen mit $\Delta Cu > 10 \mu mol/l$ ergeben sich

$$\mathbf{Cu = -0,013 \mu mol/l + 6,254 * Cpl \quad (nach \Delta Cu_{REGR} \text{ berechnet})}$$

$$\mathbf{Cu = -0,054 \mu mol/l + 6,191 * Cpl \quad (nach \Delta Cu_{MedianCu/Cpl-Q} \text{ berechnet}),}$$

Ergebnisse also, die denen der Einzelanalysen der drei Serien entsprechen (vergleiche Kapitel 4.1.2, 4.2.2, 4.3.3).

Die Ergebnisse der Regressionsanalyse nach Anpassung der Cpl-Werte

Gleicht man die Cpl-Messwerte einander an (hier die der Serien H 88 und A denen der Serie M98), und führt dann alle Cu_{und}Cpl-Messungen der drei Untersuchungsserien zusammen, ergibt die Regressionsanalyse die in der Tabelle 4.4.2.3 dargestellten Ergebnisse.

Tabelle 4.4.2.3: Regressionsanalysen

Spalte:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
						a = nichtCplCu			b = Cu/Cpl-Koeff.			
	n	Ausschluss-Kriterium		n entfernt		n verblieben (%)	Mittelw	1StAbw	p	Mittelw	1StAbw	R ²
		Δ Cu	Größe	min; max	total							
Datensätze vereinigt nach vorausgehender Angleichung von Cpl												
01	872	-	-	0; 0	0	100	7,024	0,432	0,000	4,861	0,152	0,542
02	871	Δ -Cu _{REGR}	>50	1; 0	1	99,89	4,713	0,398	0,000	5,788	0,142	0,655
03	870	Δ -Cu _{REGR}	>25	2; 0	2	99,77	4,471	0,391	0,000	5,895	0,140	0,671
04	868	Δ -Cu _{REGR}	>20	2;2	4	99,54	4,401	0,381	0,000	5,902	0,136	0,684
05	861	Δ -Cu _{REGR}	>15	5;6	11	98,74	4,165	0,362	0,000	5,989	0,131	0,710
06	838	Δ -Cu _{REGR}	>10	9;25	34	96,10	4,428	0,323	0,000	5,798	0,118	0,743
Datensätze vereinigt nach vorausgehender Angleichung von Cpl (Referenz-Serie M: Referenz-Median: 3,00 μmol/l)												
07	872					100	6,390	0,446	0,000	4,219	0,130	0,546
08	871	Δ -Cu _{REGR}	>50	1+0	1	99,89	2,260	0,377	0,000	5,575	0,113	0,737
09	870	Δ -Cu _{REGR}	>30	2+0	2	99,77	1,717	0,359	0,000	5,764	0,108	0,766
10	866	Δ -Cu _{REGR}	>20	4+2	6	99,31	0,599	0,317	0,059	6,129	0,096	0,825
11	846	Δ -Cu _{REGR}	>10	7+19	26	97,02	-0,013	0,255	0,960	6,254	0,077	0,886
Datensätze vereinigt nach vorausgehender Angleichung von Cpl (Referenz-Serie A: Referenz-Median: 2,10 μmol/l)												
12	872					100	6,390	0,446	0,000	5,926	0,183	0,547
13	871	Δ -Cu _{REGR}	>50	1+0	1	99,89	2,260	0,377	0,000	7,831	0,159	0,737
14	870	Δ -Cu _{REGR}	>30	2+0	2	99,77	1,716	0,359	0,000	8,097	0,152	0,766
15	866	Δ -Cu _{REGR}	>20	4+2	6	99,31	0,599	0,317	0,059	8,609	0,135	0,825
16	846	Δ -Cu _{REGR}	>10	7+19	26	97,02	0,012	0,255	0,962	8,785	0,109	0,886
Datensätze vereinigt nach vorausgehender Angleichung von Cpl (Referenz-Serie M: Referenz-Median: 3,00 μmol/l)												
17	872	Δ Cu _{MedianCu/Cpl-Q}				100	6,390	0,446	0,000	4,219	0,130	0,546
18	871	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>100	1+0	1	99,89	2,260	0,377	0,000	5,575	0,113	0,737
19	870	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>30	3+0	3	99,77	1,057	0,348	0,002	5,914	0,104	0,789
20	866	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>25	4+2	6	99,31	0,595	0,315	0,060	6,053	0,094	0,827
21	862	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>15	4+6	10	98,85	0,275	0,296	0,354	6,129	0,088	0,848
22	847	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>10	7+18	25	97,13	-0,054	0,254	0,832	6,191	0,076	0,887
Datensätze vereinigt nach vorausgehender Angleichung von Cpl (Referenz-Serie A: Referenz-Median: 2,10 μmol/l)												
23	872					100	6,390	0,446	0,000	5,926	0,183	0,547
24	871	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>100	1+0	1	99,89	2,260	0,377	0,000	7,831	0,159	0,737
25	870	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>40	2+0	2	99,77	1,716	0,359	0,000	8,097	0,152	0,766
26	868	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>30	4+0	4	99,54	0,750	0,337	0,027	8,567	0,144	0,804
27	866	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>20	4+2	6	99,31	0,599	0,317	0,059	8,609	0,135	0,825
28	848	Δ Cu _{MedianCu/Cpl}	>10	7+17	24	97,25	0,023	0,258	0,930	8,779	0,110	0,883

4.4.3 Bewertung

Dieser Untersuchungsansatz lässt erkennen, dass in der Tat nicht-kompatible Serien von Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren aus verschiedenen Laboratorien, die sich nur durch die Cpl-Werte, nicht aber durch die Cu-Werte unterscheiden, kompatibel werden und als zusammengeführter Datensatz analysiert werden dürfen unter der Bedingung, dass zuvor alle Cpl-Messwerte der (Einzel-)Serien angeglichen werden. Die Analysen bestätigen dann die für die Einzelserien gefundenen Gesetzmäßigkeiten: nämlich eine im Mittel nur geringe, statistisch nicht signifikante Konzentration des nichtCplCu in den Seren und eine lineare Abhängigkeit der Cu- von den Cpl-Konzentrationen.

Besonders hingewiesen werden soll hier noch einmal darauf, dass bei der gemeinsamen Regressionsanalyse der drei nicht-kompatiblen Serien hohe nichtCplCu-Werte (über 4 µmol/l) errechnet werden, und dass das Entfernen der am stärksten abweichenden Messwertepaare hier nicht zum sonst beobachteten Absinken der nichtCplCu-Werte führt.

Auch in diesen Untersuchungen zeigt sich wiederum die Gleichwertigkeit der beiden Verfahren zur Erkennung stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messungen: mit Hilfe des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ und des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ werden dieselben am stärksten abweichenden Messungen erkannt. Obwohl deren Zahl klein ist (im hier vereinigten Datensatz 25 bzw. 26 von 872, das sind weniger als 3%), beeinflussen sie die Regressionsanalyse des Originaldatensatzes erheblich und erst nachdem sie aus dem Datensatz entfernt sind, lassen sich mittels der Konstanten der linearen Regressionsanalyse (nichtCplCu und der Cu/Cpl-Koeffizient) reproduzierbar bestimmen.

Es sei hier ausdrücklich erwähnt, dass die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die nach Anpassung der Cpl-Messwerte an jeweils eine Referenz-Serie durchgeführt worden sind, sehr wohl die Hypothese Nr. II stützen, dass sie jedoch keine Aussage erlauben über die tatsächliche Größe des Cu/Cpl-Koeffizienten. So berechnet die Regressionsanalyse im Versuchsansatz mit der Referenzserie München als Koeffizienten 6,1 und in dem mit der Referenzserie Augsburg dagegen 8,6.

Die Ergebnisse weisen andererseits daraufhin, dass die (zu verschiedenen Zeiten in drei verschiedenen Städten in Deutschland untersuchten) Proben der drei Serien einer identischen Grundgesamtheit entstammen, deren Identität durch die Anwendung unterschiedlicher Messmethoden jedoch maskiert ist und erst durch die Anpassung demaskiert werden kann.

4.5 Untersuchungen über den Einfluss abweichender Cu_{und}Cpl- Messwertepaare auf die Analysen

Im Folgenden wird untersucht, wie viele stark abweichende Cu_{und}Cpl-Messwertepaare ausreichen, um die Analyse eines harmonischen Datensatzes zu stören, bzw. zu falschen Ergebnissen zu führen (Kapitel 4.5.1), und wie sich die Anwesenheit einer größeren Zahl nur leicht abweichender Messwertepaare auf die Ergebnisse auswirkt (Kapitel 4.5.2).

4.5.1 Der Einfluss einiger weniger stark abweichender Cu_{und}Cpl-Messwertepaare auf die Analysen

Eines der Hauptprobleme der Untersuchungen dieser Arbeit war die zunächst vermutete, dann in den einzelnen Studien tatsächlich auch nachgewiesene Anwesenheit von stark abweichenden Messungen in den Datenkollektiven. Als stark abweichend haben sich in den einzelnen Datensätzen bis etwa 10% der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare erwiesen.

Zu diesen gehören alle Messungen in Seren von Patienten mit einer – bezogen auf die Cpl-Konzentration - überhöhten Kupferkonzentration, also Patienten mit chronischer Kupfervergiftung oder Morbus Wilson, Patienten mit Cholestase und damit verbunden einer gestörten Kupferausscheidung, aber auch Patienten mit intravasaler Hämolyse und dem damit verbundenen Freiwerden der (kupferhaltigen) Superoxiddismutase aus den zerstörten Erythrozyten. Bei diesen Störungen kommt es – bezogen auf die Cpl-Konzentration - zu einem Überschuss an Kupfer im Serum. Man muss also in jedem Datensatz aus einer klinischen Institution mit - bezogen auf das Kupfer - nach oben abweichenden Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren rechnen.

In diesem Kapitel wird nun untersucht, wie sich die Anwesenheit einer bestimmten Zahl abweichender Messungen auf die Analysen eines Datenkollektivs auswirken kann. Um dies zu prüfen, wurden einem ausgeglichenen Datenkollektiv schrittweise stark abweichende Cu_{und}Cpl-Messwertepaare zugefügt und anschließend jeweils das nichtCplCu und der Cu/Cpl-Quotient mittels Regressionsanalyse berechnet und verglichen.

Methodisches Vorgehen

Aus dem Datenkollektiv der Studie „Hannover 1988“ wurden alle Cu_{und}Cpl-Messwertepaare mit einem $\Delta\text{Cu} > 10 \mu\text{mol/l}$ (Versuchsreihe A) und einem $\Delta\text{Cu} > 5 \mu\text{mol/l}$ (Versuchsreihe B) entfernt. Die Messergebnisse nach dieser Bereinigung des Datensatzes sind ausführlich oben in Kapitel 4.1 beschrieben. Sie dienen in diesen Versuchsreihen als Basis. Dem bereinigten

Datensatz wurden dann in mehreren Schritten jeweils zwei stark abweichende Messwertepaare wieder zugegeben. Bei den Messwertepaaren handelt es sich um die Messwerte der beiden kupfervergifteten Kinder. Nach jeder Zuführung der beiden Messwertepaare wurde eine neue Regressionsanalyse durchgeführt und das nichtCplCu (mit p-Wert), der Cu/Cpl-Koeffizient und R berechnet. Auf diese Weise ließ sich der Einfluss von wenigen (hier 2 bis 14) stark abweichenden Messungen auf das mittlere nichtCplCu und den Cu/Cpl-Koeffizienten auf die Regressionsanalyse ausgehend von 214 Messungen der Datenserie verfolgen (Tab. 4.5.1.2).

4.5.1.1 Ergebnisse

Die Ergebnisse dieses Versuchs, in dem schrittweise jeweils zwei pathologische Messwertepaare dem korrigierten Datensatz zugefügt werden, sind in Tabelle 4.5.1.2 wiedergegeben. Die Messwertepaare werden hier als pathologisch bezeichnet, weil sie von zwei kupfervergifteten Patienten stammen.

Tabelle 4.5.1.2 Der Einfluss einiger weniger pathologischer Messwertepaare auf die berechneten Größen nichtCplCu und Cu/Cpl-Koeffizient Teil A

	1	2	3	4	5	6	7
Teil 1 Bereinigung des Originaldatensatzes							
	n =	Kriterium für Entfernen	entfernte Cu+Cpl-Messungen	nichtCplCu	p	Cu/Cpl-Koeffizient	R ²
1	242			0,459	0,451	7,494	0,839
2	234	$\Delta \text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10$	1+7=8	-0,132	0,783	7,587	0,899
Teil 2 Zufügen stark abweichender Messwertpaare							
		Kriterium für Wiedereingabe	wiedereingegebene Messungen				
3	236	chronische Vergiftung	2	0,124	0,808	7,530	0,883
4	238	chronische Vergiftung	4	0,374	0,490	7,474	0,867
5	240	chronische Vergiftung	6	0,618	0,277	7,119	0,852
6	242	chronische Vergiftung	8	0,856	0,149	7,365	0,838
7	244	chronische Vergiftung	10	1,089	0,077	7,312	0,821
8	246	chronische Vergiftung	12	1,317	0,039	7,261	0,810
9	248	chronische Vergiftung	14	1,540	0,019	7,211	0,797

Legende: Aus dem Original-Datensatz der Untersuchungsserie Hannover 1988 (n = 242) wurden 8 Messwertepaare mit einem $\Delta \text{Cu} > 10 \mu\text{mol/l}$ entfernt (Zeile 1 und 2 der Tabelle). Anschließend wurden die beiden Messwertepaare der Patienten mit letal verlaufener chronischer Kupfervergiftung dem korrigierten Datensatz (Zeile 3) zugegeben und zwar mehrmals. Nach jeder Änderung im Datensatz (Zeilen 3 bis 9) wurden berechnet nichtCplCu (Spalte 4) und der Cu/Cpl-Koeffizient (6) mit Hilfe von Regressionsanalysen.

Teil B

	1	2	3	4	5	6	7
Teil 1 Bereinigung des Originaldatensatzes							
	n =	Kriterium für Entfernen	entfernte Cu+Cpl-Messungen	nichtCplCu	p =	Cu/Cpl-Koeffizient	R² =
1	242			0,459	0,451	7,494	0,839
2	214	$\Delta \text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 5$	5+23=28	-0,270	0,482	7,511	0,935
Teil 2 Zufügen stark abweichender Messwertpaare							
		Kriterium für Wiedereingabe	wiedereingegebene Messungen				
3	216	chronische Vergiftung	2	0,017	0,969	7,445	0,914
4	218	chronische Vergiftung	4	0,297	0,541	7,382	0,894
5	220	chronische Vergiftung	6	0,570	0,278	7,319	0,874
6	222	chronische Vergiftung	8	0,836	0,136	7,258	0,856
7	224	chronische Vergiftung	10	1,095	0,065	7,199	0,838
8	226	chronische Vergiftung	12	1,349	0,030	7,141	0,821
9	228	chronische Vergiftung	14	1,596	0,014	7,085	0,805

Legende: Aus dem Original-Datensatz der Untersuchungsserie Hannover 1988 (n = 242) wurden 28 Messwertepaare mit einem $\Delta\text{Cu} > 5 \mu\text{mol/l}$ entfernt (Zeile 1 und 2 der Tabelle). Anschließend wurden die beiden Messwertepaare der Patienten mit letal verlaufener chronischer Kupfervergiftung dem korrigierten Datensatz (Zeile 4) zugegeben und zwar mehrmals. Nach jeder Änderung im Datensatz (Zeilen 4 bis 10) wurden berechnet nichtCplCu (Spalte 4) und der Cu/Cpl-Koeffizient (6) mit Hilfe von Regressionsanalysen.

4.5.1.2 Bewertung

Diese Untersuchungen zeigen, dass die Anwesenheit von nur 2, 4 bzw. 6 stark abweichenden $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaaren ausreicht, um die mittlere nichtCplCu-Konzentration jeweils zu verdoppeln (von <0 auf 0,124, 0,374 auf 0,618 $\mu\text{mol/l}$, bzw. von <0 auf 0,017, 0,297 auf 0,570 $\mu\text{mol/l}$). Die Anwesenheit von 12 pathologischen Werten führt schließlich zu statistisch signifikanten ($p < 0,05$) nichtCplCu-Konzentrationen. Mit ihrem Ansteigen sinken die mittleren Cu/Cpl-Koeffizienten zwar leicht ab, die Änderungen sind jedoch nur relativ gering im Vergleich zu denen der nichtCplCu-Konzentrationen. Prinzipiell ergeben sich dieselben Ergebnisse unabhängig davon, ob man aus dem Datenkollektiv alle stark abweichenden Messungen mit $\Delta Cu > 5$ oder $> 10 \mu\text{mol/l}$ entfernt.

Nicht aufgeführt in den Tabellen sind die jeweils neu berechneten Mediane $_{Cu/Cpl-Q}$, diese ändern sich auch mit zunehmender Zahl pathologischer Messwertepaare im Datenkollektiv praktisch nicht.

Aus den bisher beschriebenen Untersuchungen lässt sich ableiten, dass Messwertepaare mit stark abweichendem ΔCu die Ergebnisse der Regressionsanalysen, insbesondere die so berechneten nichtCplCu-Werte erheblich beeinflussen. Sie lassen sich aber – wie die verschiedenen oben besprochenen Versuchsansätze zeigen – leicht entdecken, so dass ihr Einfluss durch ihr Entfernen aus dem Datensatz annulliert werden kann. Anders verhält es sich mit nur leicht abweichenden Messwertepaaren (siehe folgendes Kapitel 4.7.2).

4.5.2 Der Einfluss schwach abweichender $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaare auf die Analysen

In diesem Kapitel soll nun untersucht werden, ob und welchen Einfluss nur schwach abweichende Messwertpaare auf die Ergebnisse der Analysen haben.

Zu diesem Zweck wurde eine Serie von $Cu_{und}Cpl$ -Messwertepaaren genauer analysiert, die aus dem Laboratorium Stuttgart stammen und die der laborinternen Kontrolle der Messungen im September 1997 bis Juli 1998 dienten. Zur Cpl-Messung wurde ein neuer Standard verwendet und um den Einfluss der neu verwendeten Cpl-Standardlösungen auf die Ergebnisse zu prüfen, wurden in einer Übergangsphase der zuvor verwendete „alte“ und der „neue“ Standard parallel im Test eingesetzt.

4.5.2.1 Methodisches Vorgehen

Vor dem endgültigen Wechsel des Standards wurden im Stuttgarter Laboratorium Seren parallel mit dem alten und dem neuen Standard analysiert und zwar bei insgesamt 67 Cpl-Messungen. So liegen von den Analysen der 67 Seren insgesamt 134 Messwertepaare vor, von denen sich jeweils die eine Hälfte auf den alten und die andere Hälfte auf den neuen Standard beziehen. Jeweils ein Messwertepaar aus jeder Gruppe gehört zu dem Serum ein und desselben Patienten und unterscheidet sich durch die Cpl-Messwerte (zwei Messungen mit den beiden Methoden), nicht aber durch den Cu-Messwert (nur eine Messung).

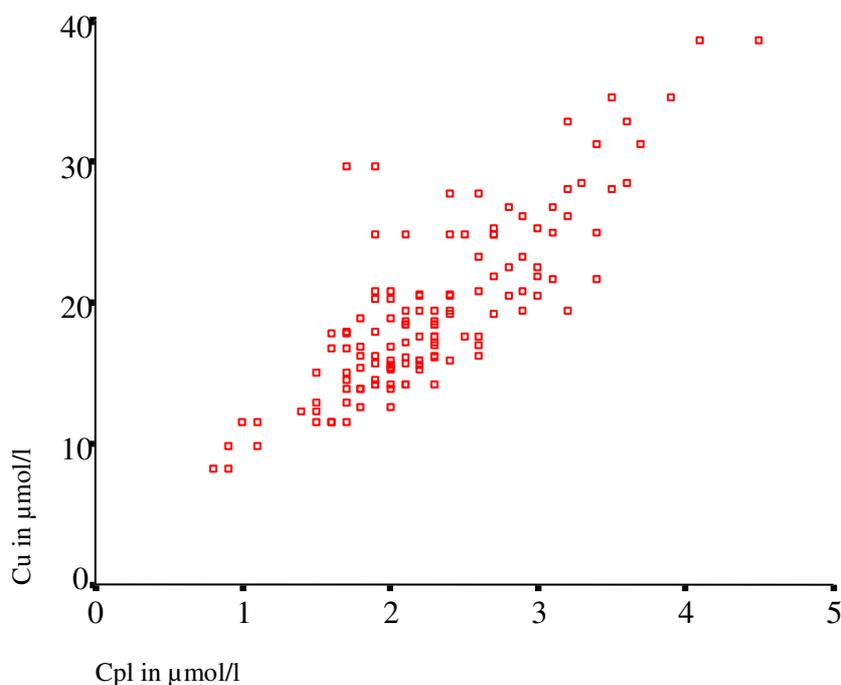
4.5.2.2 Ergebnisse

Statistische Berechnungen

Die statistischen Daten der Doppelstudie sind in Tab. 4.5.2.2 wiedergegeben. Die Doppelbestimmung des Coeruloplasmins in den 67 Seren zeigt abweichende Werte. Der Mittelwert der Messungen mit „Methode alt“ liegt bei 2,1663 $\mu\text{mol/l}$, der Mittelwerte der Messungen mit „Methode neu“ liegt bei 2,3835 $\mu\text{mol/l}$. „Methode neu“ misst demnach um einen Faktor 1,1 höhere Cpl- Konzentration.

Graphische Darstellung

In Abb. 4.5.2.2 sind die zweimal 67 Messungen wiedergegeben.



Regressionsanalysen

Die Regressionsanalyse der $n = 134$ Messwertepaare (im doppelten Datensatz) ermittelt ein nichtCplCu von $1,776 \mu\text{mol/l}$ und einen Cu/Cpl-Koeffizient von $7,667$. Die Analysen mit den jeweils $n = 67$ Messwertepaaren aus den Messungen mit „Standard alt“ und denen mit „Standard neu“ ermitteln für das nichtCplCu $1,260$ bzw. $1,368 \mu\text{mol/l}$ und für den Cu/Cpl-Koeffizient $8,280$ bzw. $7,497$.

Da auch in diesen Datensätzen stark abweichende Messungen vorkommen (siehe Abb. 4.5.2.2), wurden diese mit Hilfe des $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ und des $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ ermittelt. Da mit beiden Methoden dieselben $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messwertepaare als stark abweichend ermittelt wurden, werden hier nicht die Ergebnisse aller, sondern nur die als $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ errechneten Werte wiedergegeben.

Tabelle 4.5.2.2 Doppelstudie Stuttgart (n = 134 bzw. 2 * 67)

1	2	3	4	5	6	7	8
Datensatz n =	Abw. Messwerte definiert nach Kriterium $\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$	n aus Datensatz entfernt	% n im Datensatz verbleiben	nichtCplCu		Cu/Cpl- Koeffizient	R ²
			%	MW	p	MW	
A + B							
134				1,776	0,081	7,667	0,712
132	$\Delta > 10$	0 + 2 = 2	99%	1,075	0,223	7,881	0,777
120	$\Delta > 5,0$	3+11=14	90%	1,021	0,158	7,759	0,843
A							
67				1,260	0,376	8,280	0,730
66	$\Delta > 10$	0 + 1 = 1	99%	0,518	0,669	8,521	0,801
61	$\Delta > 5,0$	2 + 4 = 6	91%	0,234	0,982	8,684	0,862
B							
67				1,368	0,333	7,497	0,731
66	$\Delta > 10$	0 + 1 = 1	99%	0,682	0,573	7,695	0,799
62	$\Delta > 5,0$	2 + 3 = 5	93%	-0,155	0,880	8,023	0,862

Legende: Oberes Drittel der Tabelle: Analyse der zusammengeführten Cu_{und}Cpl-Messwertepaare mit Cpl-Doppelmessung nach Methode A und B.

Mittleres und unteres Drittel der Tabelle: Analyse der Cu_{und}Cpl-Messwertepaare mit Cpl-Messung nach Methode A (Mitte) und nach Methode B (Unten).

Aus den kompletten Datensätzen (n= 134 bzw. jeweils 67) wurden die Cu_{und}Cpl-Messwertepaare mit $\Delta Cu_{\text{MedianCu/Cpl-Q}} > 10$ bzw. $> 5 \mu\text{mol/l}$ (siehe die Spalten 2, 3 und 4) entfernt und die Regressionsanalysen wiederholt.

4.5.2.3 Bewertung

Das wohl wichtigste Ergebnis dieser Studie ist die Beobachtung, dass die Analyse von nicht kompatiblen, d.h. hier aus einer identischen Grundgesamtheit stammenden, jedoch mit zwei unterschiedlichen Methoden gewonnenen Messwerten, zu nicht plausiblen Ergebnissen führt. Die Analyse von $n = 134$ Messungen in 67 Seren mit Doppelmessung des Cpl mit zwei verschiedenen Standards ergibt (zunächst) Ergebnisse, die sich nicht von den übrigen dieser Arbeit unterscheiden. Im Gegensatz zu den anderen Datensätzen dieser Arbeit findet man hier jedoch nach Entfernen der am stärksten abweichenden $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare (hier solche mit $\Delta\text{Cu} > 10$ und > 5) nicht die erwarteten niedrigen nichtCplCu-Werte. Das Entfernen der abweichenden Messungen führt lediglich zu einem Rückgang des nichtCplCu von 1,78 auf 1,26 bzw. 1,37. Analysiert man jedoch die beiden Datensätze getrennt, ergeben sich nichtCplCu-Werte, die mit denen der anderen Studien dieser Arbeit übereinstimmen: ein relativ hohes nichtCplCu (hier 1,02) im kompletten Datensatz und niedrige nichtCplCu-Werte in den bereinigten Datensätzen (hier in Studie A: 0,518, bzw. 0,234 und in Studie B: 0,682, bzw. -0,155 $\mu\text{mol/l}$). Bei Anwesenheit von nicht kompatiblen Messwerten (hier von solchen deren Cpl-Wert im Mittel nur um 11% abweicht) wird also offensichtlich ein zu hohes nichtCplCu errechnet.

4.5.3 Schlussfolgerungen aus den Studien 4.5

Sowohl die Anwesenheit einiger weniger stark abweichender als auch die einer Vielzahl nur gering abweichender $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen in einem Datenkollektiv führt dazu, dass durch die Regressionsanalyse das nichtCplCu zu hoch errechnet wird. Vor einer Bewertung der Analyse-Werte ist deshalb in jedem Datenkollektiv sorgfältig nach abweichenden Messungen zu suchen. Zum Auffinden stark abweichender Messungen eignen sich beide in dieser Arbeit vergleichend untersuchten Bestimmungsmethoden für das ΔCu ($\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ und $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$). Das Auffinden schwach abweichender Messungen ist mit diesen beiden Methoden nicht möglich. Die Anwesenheit systematisch schwach abweichende Messungen sollten immer dann vermutet werden, wenn die Regressionsanalyse für ein Datenkollektiv auch nach Entfernen stark abweichender Messungen signifikante nichtCplCu errechnet.

4.6 Studie Göttingen

Die Studie war zwischen 1998 und 2000 im Hygieneinstitut der Universität Göttingen durchgeführt worden und sollte die Gefährdung von Säuglingen durch Kupfer im Trinkwasser untersuchen.

In der Studie wurden Blutseren von Kindern im ersten, zweiten und dritten Lebensjahr untersucht, die in Haushalten lebten, in denen das Trinkwasser (aus Kupferleitungen) mit 0,8 mg Cu/l und mehr (der höchste gemessene Wert lag bei 4,2 mg Cu/l) belastet war. Es wurden nur Kinder untersucht, die als Säuglinge pro Tag mindestens 200 ml des Trinkwassers getrunken hatten. In jedem dieser Haushalte wurde die Kupferkonzentration des Trinkwassers bestimmt, und danach das "Tagesprofil" gemessen.

Die Kinder wurden klinisch untersucht: Lebergröße (Palpationsbefund, sonographische Untersuchung) und im Serum der Kinder wurden gemessen: Cu, Cpl, GOT, GPT, gammaGT, Bilirubin, CK, CRP und die Immunglobuline IgG, IgA und IgM.

Die Messung der Kupferkonzentration im Trinkwasser erfolgte im 1. Lebensjahr der Kinder. Um Abweichungen des nichtCplCu vom Normalen, die durch Messungen in verschiedenen Laboratorien bedingt sind, auszuschließen, haben wir bewusst bei unseren Auswertungen der Göttinger Studien nur die Untersuchungen berücksichtigt, die in ein und demselben Laboratorium ermittelt worden sind. Es ergibt sich dann ein Kollektiv von insgesamt 96 Cu_{und}Cpl- Messungen.

Die Regressionsanalyse mit diesen 96 Wertepaaren ergibt: **gesCu = 4,507 + 7,705 * Cpl.**

Sieht man Δ-Cu-Konzentrationen von >4,0 μmol/l als pathologisch an, so liegen bei 18 der 96 Probanden erhöhte Cu-Konzentrationen vor. Es liegt bei 19% der Probanden eine echte Hypercuprämie vor, die nicht mit einer Infektion erklärt werden kann.

Bei einer Infektion kann die Konzentration des Coeruloplasmin ansteigen, folglich steigt auch die Konzentration des Serum-Kupfers (Sobol und Pyda, 1995; Thomas, 1984) an. Cpl und Cu verändern sich aber streng proportional, das nichtCplCu bleibt unverändert. Erhöhte Cu-Konzentrationen bei Infektionen sind also Cpl bedingt.

Bei einer Kupferbelastung kann die Cu-Konzentration im Serum ansteigen; dieser Anstieg betrifft aber ausschließlich das Kompartiment des nichtCplCu.

4.7 Die „Australische Studie“

Walker-Smith et al. (1973) haben als Erste die chronische Vergiftung durch Kupfer im Leitungswasser als Ursache für eine tödlich verlaufenen Hepatopathie bei einem Kind in Erwägung gezogen. Der Veröffentlichung kann man folgende Messwerte entnehmen (Tabelle 4.7-1):

für den Patienten:

„Plasma total copper“ (ptCu), „plasma free copper“ (pfCu) und einen nicht gemessenen, sondern aus der Differenz beider Cu-Konz berechneten Cpl-Wert.

für die Angehörigen des Patienten (dessen Eltern und einem Geschwister):

ptCu, pfCu und Messwerte von Cpl.

Außerdem geben die Autoren Normbereiche für Cu (75-165 µg/dl) und Cpl (20-52 mg/dl) an.

Als Normwerte für pfCu geben sie den Bereich von 5-15 µg/dl (0,79-2,36 µmol/l) an.

Tabelle 4.7-1 Cu- und Cpl-Messwerte und die errechneten Quotienten der „Australischen Studie“

		Cu µg/dl	Cu µmol/l	Cpl mg/dl	Cpl µmol/l	Cu/Cpl-Quotient	Median der Cu/Cpl-Quotienten
1	2	3	4	5	6	7	8
Patient	ptCu	117	18,42	15	1,14	16,21	mit Patient
Vater	ptCu	114	17,94	32	2,42	7,40	7,29
Mutter	ptCu	152	23,92	44	3,33	7,18	ohne Patient
Geschw.	ptCu	152	23,92	45	3,41	7,02	7,18
Patient	pfCu	70	11,02				
Vater	pfCu	13	2,05				
Mutter	pfCu	11	1,73				
Geschw.	pfCu	7	1,10				
Patient	pbCu ber.	47	7,40	15	1,14	6,51	mit Patient
Vater	pbCu ber.	101	15,90	32	2,42	6,56	6,61
Mutter	pbCu ber.	141	22,19	44	3,33	6,66	ohne Patient
Geschw.	pbCu ber.	145	22,82	45	3,41	6,69	6,66
Normal Bereiche	min	75	11,81	20	1,52	7,79	
	max	165	25,97	52	3,94	6,59	
	Mitte	120	18,89	36	2,73	6,93	

Legende: Die Werte der Spalten 4, 6 und 7 wurden aus den von den Autoren gemessenen bzw. berechneten Werten (Spalten 3 und 5, fettgedruckt) errechnet.

Für die Bezeichnungen „Plasma total copper“ (ptCu) und „Plasma free copper“ (pfCu) wurde die Nomenklatur der Autoren übernommen. Die Werte für das plasmagebundene Cu (pbCu) wurden berechnet aus der Differenz von ptCu und pfCu.

Bei dem Cpl-Wert des Patienten handelt es sich um einen von den Autoren berechneten Wert, den sie aus den Messwerten des ptCu und pfCu des Patienten ermittelt haben, der Berechnungsmodus wird in der Publikation nicht mitgeteilt.

Die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten sind in Spalte 8 wiedergegeben.

Um anhand der Messwerte einen Kupferüberschuss (pos. ΔCu) im Serum des Patienten mit den Methoden dieser Arbeit errechnen zu können, benötigt man – wie sich gezeigt hat - den für das Laboratorium in Australien zur damaligen Zeit gültigen Cu/Cpl-Koeffizienten. Dieser ist aber nicht bekannt. Man muss deshalb versuchen, aus den Messwerten die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten als Äquivalente des Cu/Cpl-Koeffizienten zu berechnen.

Zur Verfügung stehen die Messwertepaare der vier Familienmitglieder (Tabelle 4.7-1). Aus diesen errechnen sich ptCu/Cpl-Quotienten zwischen 7,02 und 16,21 mit einem Median von 7,29. Lässt man den Quotienten des Patienten, der ja erheblich kupferexponiert war, außeracht, errechnet sich ein Median von 7,18. Auch hier erweist sich – wie oben ausführlich diskutiert – der Median gegenüber dem deutlich erhöhten Quotienten (des Patienten) als „resistent“. Bei der Verwendung des Medians von 7,18 ist hier jedoch Vorsicht geboten. Denn dieser ist möglicherweise zu hoch: es ist nämlich durchaus möglich, dass neben dem Patienten weitere oder sogar alle Familienmitglieder kupferbelastet gewesen sind. Für diese Annahme spricht die Mitteilung der Autoren, dass sie in den Seren aller Familienmitglieder pfCu messen konnten (siehe die pfCu-Konzentrationen in Block 2 der Tabelle 4.7-1).

Aus der Differenz zwischen den ptCu- und den pfCu-Konzentrationen lassen sich nun die pbCu-Konzentrationen und die pbCu/Cpl-Quotienten berechnen. Diese liegen sämtlich, insbesondere der des Patienten, deutlich niedriger als die ptCu/Cpl-Quotienten. Jetzt liegt der Median (errechnet mit Einschluss des Quotienten des Patienten) bei 6,61 bzw. (nach dessen Ausschluss) bei 6,66.

Schließlich gibt es noch die Möglichkeit die Quotienten der Cu- und Cpl-Normbereiche zu verwenden. Dies setzt jedoch voraus, dass (1.) die zu ihrer Ermittlung verwendeten Messungen zeitgleich im selben Laboratorium erfolgten wie die Untersuchung der Seren der Patientenfamilie und dass es sich (2.) ausschließlich um Cu_{und}Cpl-Messwertepaare gehandelt hat. Dies scheint aber hier nicht der Fall gewesen zu sein. Denn die erhebliche Abweichung der Quotienten (7,79 für die Minima und 6,59 für die Maxima), lässt erkennen, dass diese Voraussetzungen nicht erfüllt waren. Trotzdem werden auch diese beiden Quotienten für die Berechnung des ΔCu verwendet. Es wird aber auch geprüft, wie sich die Verwendung des

Quotienten der „Mitten“ der beiden Normbereiche von Cu und Cpl (Quotient: 6,93) auf die Berechnung der Δ Cu-Werte auswirkt.

Tabelle 5.2.2-2 Die aus den Daten der „Australischen Studie“ berechneten Cu/Cpl-Quotienten und Δ Cu-Konzentrationen

1	2	3	4	5	6	7	8
		Cu/Cpl-Quotient	Cu/Cpl-Quotient	Cu/Cpl Quotient	Δ Cu μ mol/l	Δ Cu μ g/dl	pfCu der Autoren
			Median	verwendet			
Teil 1							
Normbereich	min	7,79					
	max	6,59					
	Die Mitte	6,93	7,10				
Patient	ptCu			6,93	10,54	66,97	70
Vater	ptCu			6,93	1,14	7,27	13
Mutter	ptCu			6,93	0,82	5,24	11
Geschw.	ptCu			6,93	0,30	1,90	7
Patient	pbCu			6,93	-0,48	-3,03	
Vater	pbCu			6,93	-0,90	-5,73	
Mutter	pbCu			6,93	-0,91	-5,76	
Geschw.	pbCu			6,93	-0,80	-5,10	
Patient	pbCu			7,79	-1,45	-9,24	
Vater	pbCu			7,79	-2,99	-18,98	
Mutter	pbCu			7,79	-3,77	-23,97	
Geschw.	pbCu			7,79	-3,73	-23,72	
Patient	pbCu			6,59	-0,09	-0,58	
Vater	pbCu			6,59	-0,08	-0,50	
Mutter	pbCu			6,59	0,23	1,44	
Geschw.	pbCu			6,59	0,36	2,27	
Teil 2							
Patient	ptCu	16,21	m. Pat	7,29	10,13	64,37	70
Vater	ptCu	7,40	7,29	7,29	0,27	1,72	13
Mutter	ptCu	7,18		7,29	-0,38	-2,38	11
Geschw.	ptCu	7,02		7,29	-0,93	-5,89	7
Patient	ptCu	16,21	o. Pat	7,18	10,26	65,16	70
Vater	ptCu	7,40	7,18	7,18	0,54	3,42	13
Mutter	ptCu	7,18		7,18	-0,01	-0,05	11
Geschw.	ptCu	7,02		7,18	-0,55	-3,51	7
Teil 3							
Patient	pbCu	6,51		6,61	-0,11	-0,72	
Vater	pbCu	6,56		6,61	-0,13	-0,81	
Mutter	pbCu	6,66		6,61	0,16	1,02	
Geschw.	pbCu	6,69		6,61	0,29	1,84	
Patient	ptCu	16,21	mit Patient	6,61	10,90	69,28	70
Vater	ptCu	7,40	6,61	6,61	1,92	12,19	13
Mutter	ptCu	7,18		6,61	1,89	12,02	11
Geschw.	ptCu	7,02		6,61	1,39	8,84	7

Legende: Die in dieser Tabelle angegebenen Cu/Cpl-Quotienten (Spalte 3) wurden aus den Cu- und Cpl-Konz (Spalten 4 und 6) der Tabelle 5.2.2-1 errechnet. Die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten (MedianCu/Cpl-Quotienten) sind in Spalte 4 wiedergegeben. Für die Berechnung des ΔCu (in $\mu\text{mol/l}$, Spalte 6) wurde der jeweils in Spalte 5 eingetragene MedianCu/Cpl-Q verwendet.

Die direkten Messungen (durch die Autoren) und die Berechnung (mit unseren Verfahren) ergeben nahezu identische Ergebnisse (hier einen erheblichen Kupferüberschuss im Serum des tödlich vergifteten Säuglings). Es besteht jedoch (scheinbar) ein Widerspruch der Aussage der Ergebnisse dieser Arbeit (Hypothese I) und den Ergebnissen der Messung des „plasma free copper“ durch die Autoren. Hatten unsere Analysen doch bei der überwiegenden Mehrzahl aller Untersuchten keine signifikanten Konzentrationen nachweisen können, so finden die Autoren 13, 11 und 7 $\mu\text{gCu/dl}$ (Spalte 8 der Tabelle 5.2.2-2) bzw. 2,1, 1,7 und 1,1 $\mu\text{molCu/l}$.

Wenn man jedoch berücksichtigt, dass in dieser Familie nicht nur der Patient sondern auch die übrigen Familienmitglieder (wenn auch wahrscheinlich erheblich schwächer) kupferexponiert waren, so könnte bei allen eine Hypercuprämie vorgelegen haben. Diese wird auch durch unsere Untersuchungsmethode aufgedeckt. Die mit unseren Methoden errechneten ΔCu -Werte (12,2; 12,0 und 8,8 $\mu\text{gCu/dl}$; Spalte 7 der Tabelle 5.2.2-2) sind mit denen von den Autoren gemessenen Werte nahezu identisch.

5. Diskussion

5.1. Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, anhand einer großen Zahl von Parallelmessungen von Cu und Cpl (Cu_{und}Cpl-Messungen) im Serum von Gesunden und von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen, Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung von Cu und Cpl im Serum des Menschen zu finden und Richtgrößen für die Bewertung der Messwerte bei verschiedenen Krankheitszuständen zu ermitteln. Ziel war es nicht, Normwerte für die Kupfer- bzw. Coeruloplasmin-Konzentrationen im Serum gesunder Menschen (neu) zu definieren. Im Gegenteil, es wurden in die Untersuchungsserien bewusst auch Seren von Personen und Patienten aufgenommen, bei denen erhebliche Abweichungen der Cu und/oder Cpl-Konzentrationen vom Normalen zu erwarten waren. Gerade bei Einschluss auch sehr hoher und sehr niedriger Messwerte in die Datenkollektive sollten sich – so unsere Vermutung – die Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung von Cu und Cpl besonders deutlich zu erkennen geben.

Um die Gesetzmäßigkeiten zu erfassen, wurden die folgenden drei Hypothesen überprüft:

1. Hypothese: Unter normalen Bedingungen lassen sich im Serum des Menschen keine signifikanten Konzentrationen von nichtCplCu nachweisen.
2. Hypothese: Die Cu- und Cpl- Konzentrationen im Serum des Menschen stehen in einem festen, positiven linearen Verhältnis zueinander.
3. Hypothese: Das Coeruloplasminmolekül im Serum des Menschen enthält konstant sechs Atome Kupfer.

Treffen alle Hypothesen zu, muss die Konzentration des Kupfers im Serum jedes Menschen (in $\mu\text{mol/l}$) dem Produkt entsprechen, das sich bei der Multiplikation des Messwertes des Cpl (in $\mu\text{mol/l}$) mit der Zahl 6 ergibt.

5.2 Die eigenen Untersuchungsergebnisse - Prüfung der Hypothesen

5.2.1 Prüfung der Hypothese I

Die Ergebnisse dieser Arbeit stützen Hypothese I: Es lassen sich keine statistisch signifikanten Konzentrationen des nichtCplCu finden. In allen Untersuchungsserien (bei einigen allerdings erst nach Entfernen der am stärksten abweichenden Messungen, s.o.) ergab sich für die mittlere nichtCplCu-Konz. keine Signifikanz, so dass die Null-Hypothese ("nichtCplCu = 0") zutrifft. Die hier errechneten Konzentrationen lagen unter 0,2 µmol/l. Dieses Ergebnis ließ sich in der Untersuchungsserie H1988 bereits mit dem kompletten Datensatz, in Untersuchungsserie A nach Entfernen von nur 4 der 400 (= 1%), in der Untersuchungsserie M nach Entfernen von 10 der 230 (= 4,4%) und in der hier nicht näher beschriebenen Untersuchungsserie Stuttgart nach Entfernen von 8 der 137 (= 5,8%) der Cu_{und}Cpl-Messungen errechnen.

Statistisch signifikant erhöhte nichtCplCu-Konz werden durch die Regressionsanalysen regelmäßig dann ermittelt, wenn a) einige wenige stark abweichende Cu_{und}Cpl-Messwertepaare im Datenkollektiv enthalten sind und b) wenn nicht kompatible Datensätze gemischt werden, die aus verschiedenen Laboratorien oder aus ein und demselben Laboratorium aus verschiedenen Zeitperioden stammen. Es fiel beim Zusammenführen nicht kompatibler Datensätze auf, dass mittlere nichtCplCu Konzentration bei gemeinsamer Regressionsanalyse nicht etwa zwischen denen der einzeln analysierten Datensätzen, sondern über diesen lag.

Der Anteil des nichtCplCu am gesCu des Serums beträgt maximal 0,2 µmol/l. Bezogen auf die mittlere Konzentration des Cu von ca. 20 µmol/l beträgt der mittlere prozentuale Anteil also maximal 1%.

5.2.2. Prüfung der Hypothese II

Die Ergebnisse dieser Arbeit stützen ebenfalls die Hypothese II: Es konnte eine enge, positive, lineare Korrelation zwischen Cu und Cpl nachgewiesen werden ($R^2 > 0,9$). Auch hier gilt, dass abweichende Ergebnisse keinen Bestand haben, wenn einige wenige erheblich abweichende Cu_{und}Cpl-Messungen aus den Datenkollektiven entfernt werden.

Die enge Korrelation zwischen den Konzentrationen von Cu und Cpl und die niedrigen Konzentrationen des nichtCplCu erlauben es, den Korrelationskoeffizienten (der

Regressionsanalyse) gleichzusetzen mit dem Mittelwert oder noch genauer mit dem Median der Cu/Cpl-Quotienten (siehe Kapitel 3 und 5.4).

5.3.3. Prüfung der Hypothese III

Die Untersuchungen der Datensätze aus den drei Laboratorien scheinen auf den ersten Blick der Hypothese III („Cu/Cpl-Koeffizient = 6,0“) zu widersprechen, weil sie voneinander abweichende Cu/Cpl-Koeffizienten ergeben. Die Abweichungen voneinander und vom erwarteten Wert 6,0 (Ausnahme Datensatz München) sind so groß, dass sie nicht als zufällig angesehen werden können. Bei genauerer Wertung der Daten fiel auf, dass die Datensätze sich bezüglich ihrer mittleren Cu-Konz. fast gar nicht, bezüglich ihrer mittleren Cpl-Konz. dagegen sehr stark unterschieden. Es lag daher die Vermutung nahe, die Abweichung der Koeffizienten könnte - laborbedingt - auf verschiedene Bestimmungsmethoden für das Cpl zurückzuführen sein. Diese Vermutung ließ sich dadurch bestätigen, dass wir in einzelnen Serumproben Cpl parallel in verschiedenen Laboratorien messen ließen und dabei reproduzierbar konstant von einander abweichende Messwerte erhielten (Kapitel 4.5.2). Dass diese anhand einzelner Seren beobachtete Abweichung auf eine strenge Gesetzmäßigkeit zurückzuführen ist, ließ sich durch einen größeren Versuch bestätigen. Nachdem sich gezeigt hatte, dass sich die Untersuchungsserien durch ihren mittleren Cpl-Konz. nicht aber durch die ihrer Cu-Konz. unterschieden, haben wir die prozentuale Abweichung der Mediane berechnet und sämtliche die Cpl-Messwerte aller Cu_{und}Cpl-Messwertepaare der Serien entsprechend angehoben oder gesenkt (Kapitel 4.4). Die so angeglichenen Datensätze erwiesen sich dann als kompatibel: wie zuvor nur für die Einzelserien nachzuweisen erwies sich jetzt der Gesamtdatensatz rechnerisch als praktisch frei von nichtCplCu. Dieses Ergebnis lässt den Schluss zu, dass die Laboratorien in verschiedenen Institutionen und zu verschiedenen Zeitperioden Cpl systematisch unterschiedlich gemessen haben und dass die jeweiligen Cu/Cpl-Koeffizienten sich deshalb unterscheiden. Die Grundgesamtheit aller Seren enthalten Cu und Cpl in einem festen Konzentrationsverhältnis.

In unseren Untersuchungen lagen die Cu/Cpl-Koeffizienten in den Untersuchungsserien Hannover 1988 bei 7,5; München bei 6,0, Augsburg bei 8,8 und in (der hier nicht näher beschrieben Studie) Stuttgart bei 7,8 Cu-Atome pro Cpl-Molekül.

Der Grund für diese abweichenden Ergebnisse liegt in den erheblich voneinander abweichenden Messwerten für Coeruloplasmin in den Untersuchungsserien: die Mediane liegen bei 2,5 µmol/l in Serie Hannover 88, bei 3,0 µmol/l in Serie München, bei 2,2µmol/l in

der (hier nicht näher beschriebenen) Untersuchungsserie Stuttgart und bei 2,1 $\mu\text{mol/l}$ in Serie Augsburg. Die Messwerte für Cu dagegen sind für alle Untersuchungsserien nahezu identisch (zwischen 17 und 18 $\mu\text{mol/l}$). Offensichtlich sind unterschiedliche Messverfahren oder Referenzproben verantwortlich für die abweichenden Messwerte für Coeruloplasmin.

Das Abweichen der Cu/Cpl-Koeffizienten vom erwarteten Wert 6,0 in zwei dieser Untersuchungsserien steht also nicht in Widerspruch zur Hypothese III; man muss vielmehr annehmen, dass die in klinisch-chemischen Laboratorien angewandten Meßmethoden nicht geeignet sind, die tatsächliche Cpl-Konz. gleich zu messen. Aus diesen Beobachtungen muss die Forderung abgeleitet werden, dass die Methoden zur Bestimmung des Cpl besser standardisiert werden müssen.

5.3. Untersuchungsbefunde anderer Untersucher

In den folgenden Kapiteln wird nun überprüft inwieweit die Ergebnisse dieser Arbeit von Angaben in der Literatur abweichen bzw. mit ihnen übereinstimmen.

Ordnet man das Kupfer im Serum des Menschen dem Cpl-Cu-Kompartiment und einem nicht näher definierten nichtCplCu-Kompartiment zu und sucht in der Literatur nach Hinweisen auf die absolute und relative Größe der beiden Kompartimente, so findet man äußerst widersprüchliche Angaben. Diese werden in den beiden folgenden Kapiteln beschrieben.

5.3.1 Angaben über das nichtCplCu

Über die Größe des nichtCplCu-Kompartiments gibt es widersprüchliche Angaben in der Literatur. Dabei fällt auf, dass über die absolute Größe des Kompartiments so gut wie keine Angaben gemacht werden und immer nur von seinem prozentualen Anteil am Gesamt-Serum-Kupfer gesprochen wird.

Wirth und Linder (1985) geben den Anteil des nichtCplCu am Gesamt-Serum-Kupfer mit 36% an, 14% an Transcuprein, 14% an Albumin und 8% an kleine Moleküle (Aminosäuren) gebunden. Farver et al. (1999), Farver und Pecht (1997), Barrow und Tanner (1987) errechnen den Anteil des nicht Cpl-Cu mit 20% bis 30%.

In anderen Arbeiten wird der Anteil des nichtCplCu niedriger angegeben. So liegt nach Poulik und Weiss (1975) der nichtCplCu-Anteil bei nur 5-10%, locker gebunden an Albumin. Nach Carr et al. (1975) liegt der Anteil ebenfalls bei 5-10%, gebunden an Albumin und Histidin.

Im Gegensatz zu diesen Arbeiten stehen die Angaben der folgenden Autoren, die das nichtCplCu-Kompartiment als sehr klein angeben: Lewis et al. (1976), Marceau und Aspin (1973), Sarkar und Kruck (1966) <5%, und Kleinbaum H. (1968) <0,6% des Gesamtkupfers. Tatsächliche Messungen (nicht lediglich Berechnungen) des nichtCplCu wurden durchgeführt von Evans et al. (1989), dabei konnten die Autoren keine oberhalb der Nachweisgrenze (0,1 µmol/l) ihrer Methode liegenden Cu-Konzentration messen.

Im Gegensatz dazu fanden Walker-Smith und Blomfield (1973) bei direkten Messungen nichtCplCu, allerdings bei Mitgliedern einer Familie die kupferexponiert war und deren Kind an der Kupfervergiftung verstorben ist (siehe Kapitel 4.7).

Ein anderer Weg, das nichtCplCu zu bestimmen ist die Berechnung des intercepts der linearen Regressionsanalyse. Wir haben in der Literatur Datensätze anderer Autoren gefunden die eine lineare Regressionsanalyse erlauben. Aus diesen ließen sich intercept Werte = nichtCplCu errechnen von 0,268 µmol/l (Turnlund et al., 1997), 0,114 µmol/l (Salmenperä et al., 1989), 0,013 µmol/l (Lowry et al., 1981). Die komplette Analyse dieser Datensätze wird in Kapitel 5.5.3 beschrieben.

Die Angaben in der Literatur scheinen also nur widersprüchlich zu sein, denn direkte Messungen und Regressionsanalysen weisen keine signifikanten Konzentrationen von nichtCplCu nach. Wenn Konzentrationen berechnet oder gemessen werden konnten, handelt es sich bei den untersuchten Seren um solche von kupferbelasteten Patienten (siehe Kapitel 4.7). Literaturangaben mit signifikanten Konzentrationen des nichtCplCu scheinen letztlich alle direkt oder indirekt zurückgehen auf die Arbeit von Holmberg and Laurell (1947), den Erstbeschreibern des Coeruloplasmins, die tatsächlich eine Fraktion Cu beschrieben haben, die neben der CplCu-Fraktion nachzuweisen war; sie bezeichneten diese Fraktion jedoch als Artefakt.

5.3.2 Angaben über den Cu/Cpl-Koeffizienten

Coeruloplasmin wird in der Leber synthetisiert und ist ein aus 1046 Aminosäuren bestehendes Protein, das sechs Atome Kupfer enthält.

Diese eindeutige Aussage zum Kupfergehalt des Cpl findet man in den Arbeiten von Curzon und Vallet (1959), Tutor et al. (1982), Chidambaram et al. (1984), Musci et al. (1999), Zaitsev et al. (1999), Mukhoppadhyay et al. (1997), Calabrese et al. (1997), Messerschmidt et al. (1990), Ryden (1982), und Kleinbaum (1968), Meghji et al. (1997).

Andere Untersucher dagegen kommen nicht zu so eindeutigen Ergebnissen. So finden Owen et al. (1982) sechs bis acht und Huber und Frieden (1970) sechs bis sieben Cu-Atome pro Cpl-Molekül.

Bezüglich der Zahl der tatsächlichen im Cpl enthaltenen Cu-Atome gibt es also widersprüchliche Angaben und es gilt zu überprüfen, ob es tatsächlich einen Cu/Cpl-Koeffizienten als konstante Größe gibt bzw. wie die widersprüchlichen Untersuchungsergebnisse zu erklären sind.

Strukturanalysen des Coeruloplasmins haben gezeigt, dass sich von den sechs Kupferatomen im Cpl-Molekül drei in einem dreikernigen Zentrum und die übrigen drei in jeweils einem einkernigen Zentrum befinden (Zaitsev et al., 1999; Mukhoppadhyay et al., 1997; Messerschmidt und Huber, 1990).

Unter normalen Bedingungen werden nur komplette Cpl-Moleküle (mit sechs Atomen Kupfer = Holocoeruloplasmin) von den Leberzellen sezerniert. Für das frisch synthetisierte und von der Leber sezernierte Cpl besteht also ein konstantes Verhältnis zwischen den Cu-Atomen und dem Cpl-Molekül. Tatsächlich lässt sich im Blut nur Holocoeruloplasmin nachweisen (Sato M., Gitlin JD., 1991)

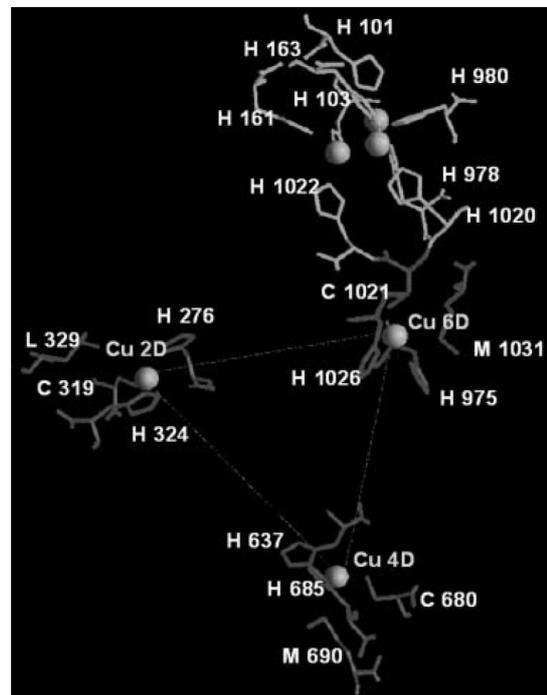


Abb. 5.3.2 Konfiguration der sechs Kupferatome im humanen Coeruloplasmin (Bielli et al. 2002)

Diese Beobachtung steht auch im Widerspruch zur Annahme, dass Cpl ein Kupfertransporter ist. Als Cu-Transporter im strengen Sinne müsste Cpl (kupferbeladen) mit dem Blut zu seinen Zielzellen im Organismus gelangen und nach Kupferabgabe (an die Zellen) ohne oder zumindest mit weniger Kupfer beladen zur Leber zurückkehren. Im Blut müsste dann immer neben dem Holo- auch Apocoeruloplasmin (das ist kupferfreies Cpl) oder kupferarme Cpl-Moleküle nachweisbar sein. Ein konstantes Verhältnis zwischen Cu und Cpl wäre dann nicht zu erwarten. Man würde dann im Blut vielmehr ein Gemisch von Cpl-Molekülen mit

unterschiedlicher, im Mittel also einer vom Maximum 6 nach unten abweichenden Anzahl von Cu-Atomen finden.

Schließlich könnte man sich vorstellen, dass das Cpl-Molekül außer den strukturell gebundenen noch weitere, nicht strukturelle Cu-Atome binden kann. Dann müsste man im Blut ebenfalls mit einem Gemisch von Cpl-Molekülen mit unterschiedlicher (dann allerdings mit einer von 6 nach oben abweichender) Zahl von Cu-Atomen rechnen.

Gegen diese Möglichkeiten sprechen einige Beobachtungen oder Hinweise in der Literatur und vor allem die Tatsache, dass sich mit linearen Regressionsanalysen Cu/Cpl-Koeffizienten errechnen lassen, die allerdings unterschiedlich groß sein können. Unter diesen findet man dann tatsächlich einige, die den erwarteten Koeffizienten von 6 ergeben haben.

Wir fanden in unseren Untersuchungen unterschiedliche Koeffizienten: 6,0, 7,5 und 8,8 und für die Studien Turnlund et al. (1990) 6,5, Salmenperä et al. (1989) 6,1 und Lowry et al. (1981) 9,2. Siehe Kapitel 5.5.3.

5.4. Erörterung der hier entwickelten Testmethoden

Fast das gesamte Cu im Serum des Menschen ist – unter normalen Bedingungen - somit Coeruloplasmin gebunden (Cpl-Cu). Das Bindungsverhältnis lässt sich durch den Cu/Cpl-Koeffizienten ausdrücken, der nach neueren Untersuchungen (Zaitsev VN et al., 1999; Mukhoppadhyay CK et al., 1997; Messerschmidt A. et al., 1990) übereinstimmend mit 6 (6 Atome Cu pro Molekül Cpl) beträgt. Dies ist sozusagen der wahre Koeffizient. Leider sind die Methoden der Cpl-Messung im Serum nicht so standardisiert, dass die Cpl-Messwerte identisch wären. In den Untersuchungsserien hier lassen sich Abweichungen bis zu 8,8 nachweisen.

Aus diesem Grund dürfen einzelne Cu_{und}Cpl-Messungen aus verschiedenen Laboratorien nur bewertet werden, wenn aus den Laboratorien größere Untersuchungsserien vorliegen und der jeweilige Cu/Cpl-Koeffizient berechnet werden kann.

Weil das nichtCplCu sehr niedrig ist, kann der Cu/Cpl-Koeffizienten annäherungsweise auch als Median der Cu/Cpl-Quotienten ($\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$) berechnet werden, die Abweichung zwischen beiden Werten beträgt weniger als 1%.

Die Bedeutung des Median der Cu/Cpl-Quotienten besteht darin, dass er - ohne Eingriff in den Datensatz –

- (1.) zur Bereinigung eines Datensatzes dienen kann (zur Definition stark abweichender Cu_{undCpl} -Messungen);
- (2.) nach der Bereinigung empirisch bis auf eine Fehlerquote von etwa 1% dem b-Wert der Regressionsanalyse (also dem Cu/Cpl-Koeffizient) entspricht;
- (3.) und mit seiner Hilfe in einer Einzelmessung die Abweichungen zwischen Cu und Cpl berechnet werden kann (diagnostisches Kriterium zur Erkennung einer Hypercupraemia vera).

Abweichende Cu_{undCpl} -Messungen können also durch die Berechnung des ΔCu erkannt werden und quantitativ ermittelt werden.

Die enge Korrelation zwischen den Konzentrationen von Cu und Cpl und die niedrigen Konzentrationen des nichtCplCu, die ja eine Konstante in der Regressionsformel ist, zeigen an, dass das nichtCplCu unabhängig ist vom Cpl-Cu bzw. vom gesCu des Serums. Der Anteil des nichtCplCu am gesCu des Serums beträgt, bezogen auf die mittlere Konzentration des Cu von ca. 20 $\mu\text{mol/l}$, weniger als 1%. Dieser Prozentwert gilt jedoch nicht für andere Kupferkonzentrationen: das nichtCplCu ist eine Konstante und unabhängig vom Cpl-Cu oder gesCu des Serums.

Es war eine der Hauptaufgaben dieser Untersuchungen herauszufinden, welche Methode am besten und verlässlichsten geeignet ist, abweichende Cu_{undCpl} -Messungen zu erkennen. In einem Datenkollektiv, das an kranken Menschen gewonnen wurde, unter denen auch solche mit Störungen im Kupferstoffwechsel und mit Kupferüberladung, wie bei der chronischen Kupfer-Vergiftung vorkommen können, musste mit solchen abweichenden Cu_{undCpl} -Messungen gerechnet werden.

Über zwei solcher Methoden wird hier berichtet. Die erste Methode, die OLS-Regression (Ordinary Least Squares Regression) erlaubt, über die Erkennung von epsilondach (also von Residuen, die stark abweichen und die hier als ΔCu_{REGR} bezeichnet werden) stark abweichende Messungen zu erkennen (und aus dem Datenkollektiv zu entfernen). Diese Methode hat den Nachteil, dass die Regressionsformel stark von Ausreißern beeinflusst wird und dass deshalb die ΔCu_{REGR} ohne eine kritische Kontrolle falsch berechnet werden. Diese

Schwäche der Methode kann man ausgleichen, wenn man Ausreißer nicht als Gruppe (en bloc), sondern abhängig von der Größe ihres $\Delta\text{Cu}_{\text{REGR}}$ schrittweise und korrigierend entfernt, d.h. in dem man nach jeder Entfernung abweichender $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen eine neue Regressionsanalyse durchführt und ΔCu neu berechnet.

Die zweite Methode basiert auf der Beobachtung, dass das nichtCplCu sehr niedrig ist und dass deshalb der $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ der einzelnen Seren dem Cu/Cpl-Koeffizienten einer Untersuchungsserie praktisch gleich ist. Die Abweichung zwischen beiden macht weniger als 1% aus. Mit dem Median der Cu/Cpl-Quotienten lässt sich – ohne Regressionsanalyse – das ΔCu (hier $\Delta\text{Cu}_{\text{MedianCu/Cpl-Q}}$ genannt) berechnen. Beide Methoden, die Regressionsanalyse mit Korrektur des Datensatzes und die Verwendung des $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ als Cu/Cpl-Koeffizient, führen zu praktisch gleichen Ergebnissen.

In einer früheren Publikation (Eife et al, 1999) wurde – auf der Basis der hier beschriebenen Untersuchungsserie M und anderer Untersuchungen – die Formel für die Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ generell angegeben mit $\Delta\text{-Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - 6,0 * \text{Cpl}$. Dies geschah in Unwissenheit darüber, dass andere Laboratorien bzw. Meßmethoden systematisch abweichende Cpl-Konz. messen. Wie wir aus den vergleichenden Untersuchungen dieser Arbeit gezeigt haben, ist die Formel nur dann korrekt, wenn Cpl nach dem damaligen, oder nach vergleichbaren Messverfahren bestimmt wird. Die Formel darf deshalb nicht verallgemeinert werden. Bedingung für die korrekte Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ ist vielmehr, das haben diese Untersuchungen gezeigt, die Ermittlung der Cu/Cpl-Koeffizienten oder des $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ für das betreffende Laboratorium bzw. das angewandte Messverfahren.

Leider hat die o.g. Publikation andere Autoren veranlasst, in eigenen Untersuchungsserien $\Delta\text{-Cu}$ ohne vorherige Ermittlung des jeweils gültigen Cu/Cpl-Koeffizienten zu berechnen. So haben sie als Cu/Cpl-Koeffizienten den Wert von 6 verwendet, obwohl der zutreffende bei ca. 9 liegen müsste. Diesen Wert glauben wir aus einer früheren Arbeit der Autoren mit Hilfe $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ berechnen zu können. Die Verwendung eines zu niedrigen Cu/Cpl-Koeffizienten erklärt dann die Untersuchungsergebnisse der Autoren bezüglich des $\Delta\text{-Cu}$: in nahezu allen Seren ließen sich ein hohes $\Delta\text{-Cu}$ und hohe Konzentrationen des nichtCplCu berechnen (Uauy R, persönliche Mitteilung).

Wird dagegen für jede Untersuchungsserie der $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ bzw. der Cu/Cpl-Koeffizienten zuvor ermittelt, führt die Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ für die einzelnen $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen interessanter Weise zu einem objektiven, d.h. vergleichbaren Ergebnis. Da Coeruloplasmin im Nenner des Cu/Cpl-Koeffizienten und auch des $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ vorkommt und zur Berechnung des CplCu mit Cpl (Cpl_{IST}) multipliziert wird (d.h. Cpl auch im Zähler vorkommt ($\text{Cpl-Cu} = \text{Cu/Cpl-Quotient} * \text{Cpl}$; $\text{Cpl-Cu} \sim \text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}} * \text{Cpl}$), wird die Einheit des Cpl (und etwaige systemische methodische Abweichungen) herausgekürzt. Dies hat zur Folge, dass die Größe von $\Delta\text{-Cu}$ in $\mu\text{mol/l}$ völlig unabhängig ist vom Messverfahren des Cpl. Mit anderen Worten, wenn die quantitative Berechnung des $\Delta\text{-Cu}$ mit Hilfe des Cu/Cpl-Koeffizienten oder des $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ erfolgt, ist sie unabhängig von der Messmethode für Cpl zwischen allen Laboratorien identisch. Es ist jedoch nicht statthaft, ohne vorherige Prüfung auf Kompatibilität (Bestimmung von Cu/Cpl-Koeffizient oder $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$) Datensätze verschiedener Untersuchungsserien zusammen zu analysieren.

Wenn wir sämtliche $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen der drei hier beschriebenen Untersuchungsserien adaptiert zusammen analysieren berechnet sich in der Regressionsanalyse ein sehr kleines nichtCplCu ($<0,1\mu\text{mol/l}$) (siehe Kapitel 4.4, Tabelle 4.4.2.3).

5.5. Anwendung der entwickelten Testmethode an veröffentlichter Daten

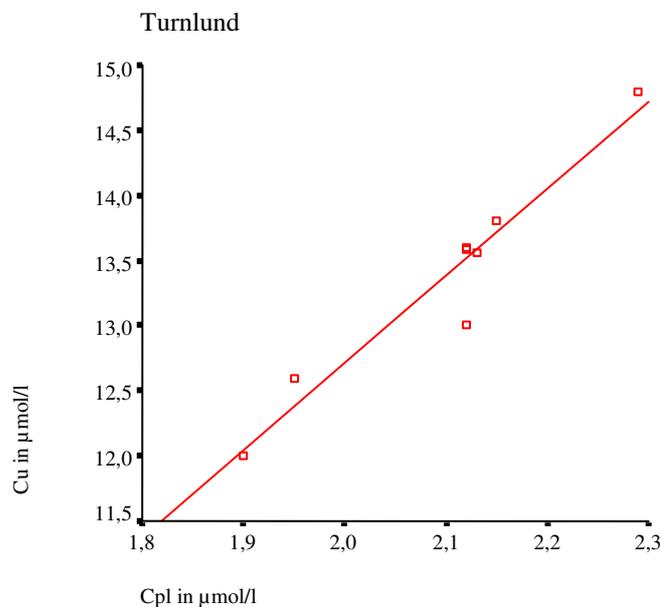
Wir haben in der Literatur nur wenige Untersuchungsserien mit systematischen $Cu_{plus}Cpl$ -Messungen gefunden. An diesen haben wir Regressionsanalysen entsprechend unseren Verfahren durchgeführt.

Turnlund et al., 1990 untersuchten den Kupferstatus bei jungen Männern unter einer niedrig- bzw. hoch- Kupfer-dosierten Diät. Die Regressionsanalyse für die veröffentlichten $Cu+Cpl$ -Messungen (Mittelwerte von jeweils ca. 10 Messungen bei den Probanden) ($n = 7$) ergibt:

$$Cu = 0,268 + 6,506 * Cpl;$$

$$\text{StAbw für } nCplCu: 2,336; P = 0,913;$$

$$\text{StAbw für } b = 1,098; R^2 = 0,875$$



Price et al. (1996): Bei einem 20 Monate alten Kind in Australien, das an der chronischen Kupfervergiftung verstorben ist, wurde eine Dissoziation zwischen Cu und Cpl mit einem Cu/Cpl-Quotienten von 10 gefunden. Die Autoren geben Cu/Cpl-Quotienten zwischen 6 bis 8 als normal an.

Wir berechnen für die Kontrollwerte der Arbeit von Price et al. einen Cu/Cpl-Quotienten von 6,34, und für den Patienten von 10,07 (!) und somit ein ΔCu von 10,59 $\mu\text{mol/l}$.

Fleming et al. (1977) untersuchen Cu- und Cpl-Spiegel bei Patienten mit primärer biliärer Zirrhose (3 Patienten) und einem Patienten mit chronisch aggressiver Hepatitis mit Zirrhose. Aus den angegebenen Normbereichen lässt sich annäherungsweise ein Cu/Cpl-Quotient 6,35

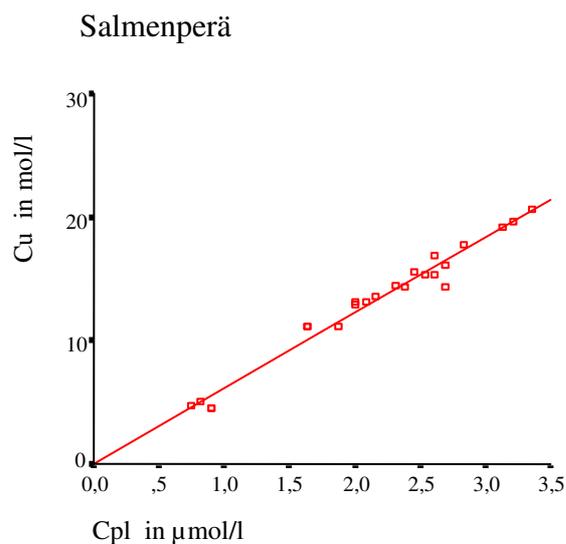
berechnen. Interessanterweise fand sich bei keinem der Patienten – bei Verwendung des Cu/Cpl-Quotienten – ein positives ΔCu .

Die Regressionsanalyse der Untersuchungsserie von Olivares et al. (1998) mit $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen bei Kindern, denen willentlich Nahrungen mit erhöhten Cu-Konzentrationen angeboten wurden, ergeben statistisch signifikante, stark erhöhte nicht CplCu-Werte: Die Regressionsanalyse ergibt für die Studie von OLIVARES et al:

$$\text{Cu} = 10,051 + 6,182 * \text{Cpl}.$$

Interessanterweise entspricht dieses Ergebnis dem der Göttinger Studie, bei der ebenfalls kupferexponierte Säuglinge untersucht wurden.

Salmenperä et al. (1989) ernährten zwei Gruppen von Säuglingen mit jeweils einer kupferarmen und einer kupferreichen, jedoch die physiologischen Konzentrationen von Cu nicht überschreitenden Diät. Vor Beginn der Untersuchungen, also bei Geburt und dann im Alter von 2, 4, 6, 9 und 12 Monaten wurden die Kinder untersucht und dabei $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen im Serum vorgenommen. Die Autoren geben in einer Tabelle ihrer Publikation die jeweiligen Mittelwerte von Cu und Cpl in den Altersgruppen der Säuglinge zwischen im Alter von 0, 2, 4, 6, 9 und 12 Monaten an. Führt man anhand der Werte ($n = 24$) eine Regressionsanalyse durch, so ergibt diese: $\text{Cu} = 0,114 + 6,091 * \text{Cpl}$; also auch hier ein sehr niedriges nichtCplCu und ein Cu/Cpl-Koeffizient nahe 6,0.



Lowry et al. (1981) führten ebenfalls eine diätetische Studie bei Säuglingen durch, denen Säuglingsnahrung mit verschiedenem Cu-Gehalt gegeben wurden. Keine der Cu-Konzentrationen lag oberhalb physiologischer Konzentrationen.

Die Autoren geben die Untersuchungsergebnisse in einem Diagramm wieder, in dem jeder Messpunkt eine (Cu+Cpl-Messungen) repräsentiert. Nach Vergrößern des Diagramms haben wir die einzelnen Messwerte ermittelt und in die Cu- und Cpl-Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ umgerechnet. Von der Gesamtzahl der Messungen konnten wir 67 ablesen. Die Regressionsanalyse ergab: $\text{Cu} = 0,013 + 9,151 * \text{Cp}$ mit p (nichtCplCu = a) = 0,991 und $R^2=0,832$.

Diese beiden letzten Untersuchungsserien eignen sich besonders gut für Regressionsanalysen dieser Art, weil hier Kinder im ersten Lebensjahr untersucht wurden, in einer Zeit also, in der es physiologisch zu einem Anstieg von Cpl (und damit Cu) im Serum kommt; für die Regressionsanalysen steht hier also ein Spektrum niedriger bis hoher Messwerte für Cu und Cpl zur Verfügung steht. Angaben über die p -Werte und die Korrelationskoeffizienten lassen diese Studien jedoch nicht zu, weil in den Studien Mehrfachuntersuchungen an denselben Probanden durchgeführt wurden. Die Residuen sind deshalb nicht unabhängig und möglicherweise autokorrelierend.

Die Regressionsanalysen an den eigenen und an den Datensätzen, die den Veröffentlichungen von Salmenperä und von Lowry entnommen wurden, bestätigen die Annahme, dass der a -Wert (nichtCplCu) eine Konstante ist. Es ist deshalb weder sinnvoll, noch korrekt, das nichtCplCu pauschal in Prozent des Gesamt-Cu anzugeben.

Angaben des nichtCplCu in Prozent sind nur dann sinnvoll, wenn die Höhe der Bezugsgröße (hier die Konzentration des Gesamt-Cu) mitangegeben werden kann. Diese ist jedoch eine Variable. In keiner der Studien haben wir eine statistisch signifikante Konzentration des nichtCplCu gefunden.

Twomey et al., 2005:

Die Autoren analysieren retrospektiv $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare von 338 Patienten, die sie bezüglich des Kupferstoffwechsels für „healthy patients“ und deren Kupfermesswerte sie deshalb für repräsentativ für eine kupfergesunde Population halten.

Eine Regressionsanalyse, bei der die Autoren die (robuste) lineare Regressionsgleichung nach Deming verwandt haben, ergab:

$$\text{“Cu } (\mu\text{mol/l)} = 0,052 * \text{Cpl } (\text{mg/l}) - 0,1\text{“}$$

oder in der Schreibweise dieser Arbeit:

$$\text{Cu } (\mu\text{mol/l)} = -0,1 + 0,052 * \text{Cpl } (\text{mg/l})$$

und nach Umrechnung des Cpl in $\mu\text{mol/l}$:

$$\text{Cu} = -0,1 + 6,864 * \text{Cpl}$$

Dieses Ergebnis entspricht bezüglich des Cu/Cpl-Koeffizienten der Untersuchungsserie Hannover (siehe Kapitel 4.1). Durch die Anwendung eines robusten regressionsanalytischen Verfahrens stoßen die Autoren direkt auf ein nichtCplCu-Wert nahe Null ($-0,1 \mu\text{mol/l}$), wie man es entsprechend den Ergebnissen dieser Arbeit erwartet hätte. Damit bestätigt auch dieses Ergebnis die Hypothesen I und II dieser Arbeit.

Erwähnt sei hier, dass die Autoren die Aussage ihrer Analyse eigentlich nicht weiter beachten. Anstatt für alle $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare das ΔCu nach der (für ihre Studie maßgeblichen) Formel: $\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - (-0,1 + 6,864 * \text{Cpl}_{\text{IST}})$ zu berechnen, verwenden sie die Formel $\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - 0,0472 \mu\text{molCu/mgCpl} * \text{Cpl}_{\text{IST}}$. Der Cu/Cpl-Koeffizient $0,0472 \mu\text{mol/l/mg}$ wird von Walshe (2003) und von Gaffney et al. (2000) angegeben. Er entspricht (nach Umrechnung von Cpl in $\mu\text{mol/l}$) $6,23 \mu\text{molCu}/\mu\text{molCpl}$. Die beiden Cu/Cpl-Koeffizienten $6,864$ (der von den Autoren errechnete) und $6,23$ (der aus der Literatur übernommene) unterscheiden sich um $0,63$. Der Median der Cpl-Konz in den 338 Seren wird von den Autoren mit $2,54 \mu\text{molCpl/l}$ angegeben. Dadurch dass die Autoren in allen nachfolgenden Rechnungen mit einem um (in Bezug auf ihre Daten um $0,63$ zu niedrigen Cu/Cpl-Koeffizient rechnen, verschieben sie rechnerisch ($=0,63 \mu\text{molCu}/\mu\text{molCpl} * 2,54 \mu\text{molCpl/l} =$) $1,6 \mu\text{molCu/l}$ vom CplCu-Kompartiment ins nichtCplCu-Kompartiment. Diesen Wert errechnen die Autoren dann tatsächlich als Median für das nichtCplCu ihrer Untersuchungsserie.

Die Untersuchungen von Twomey et al. (2005) bestätigen also nicht nur die Hypothesen dieser Arbeit, sie zeigen außerdem wie irreführend es sein kann, nicht relevante (aktuelle) Kontroll- oder Normwerte zu verwenden.

5.6. Kommentar zu den Normwerten von Cu und Cpl im Serum

Üblicherweise werden für die Cu- und Cpl-Konzentrationen im Serum Normbereiche angegeben. Für Erwachsene gelten z.B. für Cu 66 bis 136 µg/dl und für Cpl 18 bis 71 mg/dl als Normal. Solche Angaben berücksichtigen nicht die in dieser Arbeit gefundene bzw. bestätigte Abhängigkeit der Cu- von der Cpl-Konzentration.

Wenn man diese nicht berücksichtigt und die Messwerte lediglich auf ihre jeweiligen Normbereiche bezieht, kommt man z.B. mit dem Messwertepaar Cu: 136 µg/dl (21,4 µmol/l) (oberer Wert des Normbereichs für Cu) und Cpl: 18 mg/dl Cpl (1,4 µmol/l) (unterer Werte des Normbereich für Cpl) zu der Bewertung: „Cu und Cpl jeweils (noch) im Bereich der Norm.“ Berechnet man jedoch den Cu/Cpl-Quotienten für das Messwertepaar, so ergibt sich mit 15,4 ein Wert, der selbst den höchsten in den Serien dieser Arbeit entdeckten Cu/Cpl-Koeffizienten überschreitet und der auf eine Cu/Cpl-Konstellation im Serum hinweist, wie sie typischer Weise bei eine chronische Kupfervergiftung beobachtet wird.

5.7 Praktisches Vorgehen bei der Bewertung von Cu- und Cpl-Messwerten

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich Folgendes ableiten:

1. Eine Messung von Cu ohne Messung von Cpl ist praktisch wertlos.
2. Cu und Cpl müssen durch eine Cu_{und}Cpl-Messung bestimmt werden
3. Zur Bewertung der Messwerte muss der aktuell gültige Cu/Cpl-Koeffizient für das die Analyse durchführende Laboratorium bekannt sein
4. Als Äquivalent für den gültigen Cu/Cpl-Koeffizienten kann - unter bestimmten Voraussetzungen - der Median aller Cu/Cpl-Quotienten (der „Median_{Cu/Cpl-Q}“) aus aktuell untersuchten Serumproben des betreffenden Laboratoriums verwendet werden.
5. Ist der Cu/Cpl-Koeffizient errechnet (bekannt), lässt sich für jede Cu_{und}Cpl-Messung Δ Cu berechnen (siehe als Beispiel die Werte und Berechnungen in Tabelle 6.7 unten).

Im Folgenden wird die Bewertung von Messwerten anhand eines Beispiels wiedergegeben (siehe auch Tabelle 5.7).

An einem bestimmten Tag (Spalte 1 der Tabelle: Untersuchungsdatum: 18.3.2003) wurden in ein und demselben Laboratorium bei sechs Patienten (Spalte 2: Nr. der Patienten) Cu+Cpl-Messungen durchgeführt. Die Messwerte für Cu in µg/dl (Spalte 3) und Cpl in mg/dl (Spalte

5) wurden umgerechnet in μmol (Cu: Spalte 4; Cpl: Spalte 6) und für jede Messung der Cu/Cpl-Quotient errechnet (Spalte 7). Aus den sechs Cu/Cpl-Quotienten des Untersuchungstages wurde der Median bestimmt (letzte Zeile in Teil A der Tabelle, Spalte 7). Dieser Median (für den Untersuchungstag) sowie die Mediane für die Untersuchungswoche, den Untersuchungsmonat und das Untersuchungsquartal sind in Teil B der Tabelle angegeben. Mit den jeweiligen $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ wurden nach der Formel: „ $\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}} * \text{Cpl}_{\text{IST}}$ “ die jeweils sechs ΔCu -Konz der am 18.3.2003 untersuchten Patienten errechnet.

Tabelle 5.7 Beispiel für die Cu- und Cpl-Messungen eines Labors an einem bestimmten Tag und die Berechnung des ΔCu für jedes der $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaare

Teil A										
01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
U-Datum	Patient	Cu	Cu	Cpl	Cpl	Cu/Cpl-Q	ΔCu	ΔCu	ΔCu	ΔCu
	Nr.	$\mu\text{g/dl}$	$\mu\text{mol/l}$	mg/dl	$\mu\text{mol/l}$		Tag	Woche	Monat	Quart.
18.03.2003	1	85,9	13,5	21,90	1,7	8,15	0,08	-0,60	-0,88	-0,61
18.03.2003	2	133,9	21,1	26,80	2,0	10,38	4,63	3,80	3,45	3,78
18.03.2003	3	116,7	18,4	29,00	2,2	8,36	0,57	-0,33	-0,70	-0,35
18.03.2003	4	22,8	3,6	8,60	0,7	5,51	-1,69	-1,96	-2,07	-1,96
18.03.2003	5	118,3	18,6	30,50	2,3	8,06	-0,10	-1,04	-1,44	-1,07
18.03.2003	6	114,0	17,9	30,60	2,3	7,74	-0,83	-1,78	-2,18	-1,81
Median						8,10				
Teil B										
B 1 Median der Cu/Cpl-Q für den 18.3.03 (U-Tag)							8,10			
MedianCu/Cpl-Q für die U-Woche								8,51		
MedianCu/Cpl-Q für den U-Monat									8,68	
MedianCu/Cpl-Q für das U-Quartal										8,52

Legende: Oberer Teil der Tabelle: gemessene und berechnete Cu-, Cpl-Werte, Cu/Cpl-Quotienten und ΔCu -Werte (siehe den vorangehenden Text).

Unterer Teil der Tabelle: Angegeben sind die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten errechnet aus allen $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaaren des Untersuchungstages (Zeile B1), der Untersuchungswoche (Zeile B2), des Untersuchungsmonats (Zeile B3), des Untersuchungsquartals (Zeile B4) und des Untersuchungsjahres. Die jeweiligen $\text{Median}_{\text{Cu/Cpl-Q}}$ dienen der Berechnung des ΔCu . Zur Kontrolle sind außer dem Median der Cu/Cpl-Quotienten der Messungen des Untersuchungstages (Spalte 8, Übertrag aus Spalte 7) auch die für die Berechnung von ΔCu verwendeten Mediane angegeben, die sich aus allen Messungen der Untersuchungswoche (Spalte 9), des Untersuchungsmonats (Spalte 10), und des

Untersuchungsquartals (Spalte 11) berechnen ließen. In den jeweils darüber stehenden Feldern in den Spalten des oberen Teils der Tabelle sind die so berechneten ΔCu -Werte wiedergegeben. Diese Werte dienen als Kontrolle für die ΔCu -Werte, die aus dem Median der Quotienten des Tages errechnet werden. Für die einzelnen Patienten weichen deren ΔCu -Werte kaum ab von einander – ein Zeichen dafür, dass der Quotient der für den Untersuchungstag berechnet wurde, repräsentativ ist für die Messungen in den oben angegebenen Zeiträumen und nicht etwa Zufallsbefunde eines einzelnen Tages sind.

Bewertung:

Auffällig ist das $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaar des Patienten Nr. 2, dessen ΔCu mit $4,63 \mu\text{mol/l}$ nach oben abweicht. Dies ist ein deutlicher Hinweis auf einen Kupferüberschuss im Serum des Patienten. Tatsächlich litt dieser am Tag der Untersuchung unter einem hämolytisch-urämischen Syndrom.

Auffällig ist außerdem das $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messwertepaar des Patienten Nr. 4, dessen Kupfer- und Coeruloplasmin-Konzentrationen deutlich unter den Werten der übrigen Patienten liegen. Der Cu/Cpl -Koeffizient dagegen liegt mit 7,9 nahe am Tagesvergleichswert (8,1). Bei dem Patienten ist kein Kupferüberschuss nachweisbar. Tatsächlich leidet der Patient an einem Morbus Wilson; er wurde zum Zeitpunkt der Untersuchung mit D-Penicillamin behandelt. Ohne messbaren Kupferüberschuss im Serum war er offensichtlich therapiebedingt normocuprämisch.

5.8 Probleme bei der Gewinnung der Stichproben für die eigenen Untersuchungen

Die Stichproben anhand derer in dieser Arbeit Rückschlüsse auf die Abhängigkeit von Coeruloplasmin und Kupfer im Serum des Menschen generell gezogen werden sollten, wurden anhand von Untersuchungen bei Gesunden und bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen gewonnen. Ein solches methodisches Vorgehen birgt das Risiko, das sich unter den Stichproben Messungen verbergen, die den Gesetzmäßigkeiten der Grundgesamtheit nicht folgen, also die Ergebnisse verfälschen und zu falschen Schlussfolgerungen führen können.

Deshalb erschien es uns notwendig, in allen Stichproben (hier: Untersuchungsserien) nach den am stärksten abweichenden Messwerten zu suchen und deren Einfluss auf das Untersuchungsergebnis zu ermitteln. Dabei haben wir zunächst die für die jeweilige

Untersuchungsserie gültigen statistischen Gesetzmäßigkeiten durch lineare Regressionsanalyse ermittelt und immer dann, wenn die Ergebnisse mit den zu prüfenden Hypothesen nicht vereinbar waren oder sich untereinander widersprachen probeweise die am stärksten abweichenden Messungen ermittelt und aus den Datenkollektiven entfernt und eine neue Regressionsanalyse durchgeführt.

Ein solches methodisches Vorgehen muss man durchaus als möglicherweise fehlerbehaftet ansehen, da es das Ergebnis in Richtung des Erwarteten oder Gewünschten beeinflussen kann. Wir haben diesen Einwand berücksichtigend deshalb das Entfernen extremer Messwerte sehr vorsichtig gehandhabt. In der Untersuchungsserie Augsburg waren die Ergebnisse der Regressionsanalyse nach Entfernen von nur 5 von 400, oder von weniger als 1,25% der Messungen mit den Hypothesen kompatibel. In der Studie München waren es 11 von 230, oder 5%, in der (hier nicht näher beschriebenen) Untersuchungsserie Stuttgart 8 von 137, oder 5,5%; in der Studie Hannover (n = 242) ergab die Regressionsanalyse am kompletten Datensatz, also ohne Entfernen abweichender Messungen, mit den Hypothesen kompatible Ergebnisse.

Obwohl es nicht Aufgabe dieser Arbeit war, die Ursache der Abweichung einzelner Messwerte zu finden, seien hier einige genannt. Dies geschieht auch deshalb, um das methodische Vorgehen weiter zu rechtfertigen. Stark abweichende Messungen haben wir beobachtet bei Kindern mit chronischer Kupfervergiftung (siehe Untersuchungsserie Hannover und die Berechnungen zur „Australischen Studie“, Kapitel 4.1 bzw. 4.7) und bei Patienten mit Morbus Wilson. Bei exogenen und endogenen Kupfervergiftungen muss also mit einem relativen, d.h. bezogen auf das Coeruloplasmin, Überschuss an Kupfer im Serum gerechnet werden. Wir fanden die Abweichungen aber auch bei Patienten mit schwerer intravasaler Hämolyse, wie beim hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) (siehe Tabelle 5.7, Patient 2). Bei dieser Erkrankung kommt es wahrscheinlich durch das Freiwerden der Superoxiddismutase aus den zerfallenden Erythrozyten zu erhöhten Kupfermesswerten, weil bei der Analyse das Cu der Superoxiddismutase zusammen mit dem eigentlichen Serum-Cu gemessen wird und dadurch (bei unverändertem Serum-Cpl) eine echte Hypercupämie vorliegt.

6. Zusammenfassung

Das Kupfer im Serum des Menschen lässt sich zwei Kompartimenten zuordnen: dem Coeruloplasmin-Kupferkompartiment, welches das meiste Kupfer des Serums - gebunden an das Cuproprotein Coeruloplasmin - enthält, und dem Nicht-Coeruloplasmin-Kupferkompartiment, dem alles übrige Kupfer - gebunden vorwiegend an Albumin und Aminosäuren - zugerechnet wird. Über die Kupfermengen in den beiden Kompartimenten gibt es sehr widersprüchliche Meinungen. So werden die Zahl der Kupferatome im Cpl-Molekül mit 6 bis 8 und der Anteil des nichtCplCu am gesamten Serumkupfer mit 1 bis 40% angegeben. Von einzelnen Untersuchergruppen durchgeführte Berechnungen und Messungen haben jedoch ergeben, dass das Cpl-Molekül sechs Kupferbindungsstellen besitzt, die unter normalen Bedingungen immer besetzt sind, und dass mit hochempfindlichen Nachweismethoden selbst geringe Kupfermengen wie 0,1 $\mu\text{mol/l}$ in coeruloplasminfreien Seren nicht gefunden werden.

Wegen dieser widersprüchlichen Angaben ist eine sinnvolle Bewertung von Cu- und Cpl-Messungen bei Patienten nicht möglich. Es gibt zwar jeweils Normbereiche für Cu und für Cpl im Serum. Diese erlauben jedoch lediglich eine getrennte Einstufung der Messwerte beider Faktoren und lassen die Abhängigkeit der Cu- von der Cpl-Konzentration unberücksichtigt. Störungen im Kupferhaushalt bleiben deshalb häufig unerkannt.

In dieser Arbeit wird versucht, die Gründe für die widersprüchlichen Angaben in der Literatur aufzudecken, in dem nach Gesetzmäßigkeiten zwischen den Konzentrationen von Cu und Cpl im Serum von gesunden Menschen und von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen gesucht wird. Denn erst wenn die Gesetzmäßigkeiten bekannt sind, können normale und pathologische Verhältnisse von Cu und Cpl im Serum des Menschen von einander abgegrenzt und Störungen im Kupferhaushalt aufgedeckt werden. Überprüft werden in dieser Arbeit die folgenden drei Hypothesen.

Hypothese I: „Nahezu das gesamte Cu des Serums ist Cpl gebunden“ oder „Unter normalen Bedingungen lassen sich im Serum des Menschen keine signifikanten Konzentrationen von nichtCplCu nachweisen.“

Hypothese II: „Die Cu- und Cpl- Konzentrationen im Serum des Menschen stehen in einem festen, positiven linearen Verhältnis zueinander.“

Hypothese III: „Das Coeruloplasminmolekül im Serum des Menschen enthält konstant sechs Atome Kupfer.“

Dem Dokumentationszentrum für Kupfervergiftungen im Dr. von Haunerschen Kinderspital wurden von fünf Klinisch-chemischen Instituten in fünf Städten Deutschlands Serien (Datensätze) von Cu- und Cpl-Messwerten aus den Jahren 1988 bis 2004 für weitere Berechnungen überlassen. Aus den Datensätzen wurden in dieser Arbeit alle Parallelmessungen von Cu und Cpl in jeweils ein und derselben Serumprobe (sog. Cu_{und}Cpl-Messungen) mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse (OSL) untersucht und entsprechend der Formel „ $Y = a + b * X$ “ die Mittelwerte für „a“ = intercept = (hier:) das nichtCplCu und für „b“ = Steigung der Regressionsgeraden = (hier:) der Cu/Cpl-Koeffizient = Zahl Cu-Atome pro Cpl-Molekül berechnet. Die Regressionsformel lautet dann: „Cu = nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl“; das Produkt „Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl“ repräsentiert das CplCu. Analysiert wurden insgesamt 1239 Cu_{und}Cpl-Messwertepaare.

Das aus methodischer Sicht wichtigste Ergebnis der Untersuchung war, dass eine gemeinsame Analyse aller Datensätze zu nicht plausiblen Ergebnissen führt, weil – bei nahezu identischen mittleren Messwerten für Cu – die mittleren Cpl-Messwerte der einzelnen Institute, aber auch ein und desselben Institutes aus verschiedenen Jahren erheblich von einander abweichen. Diese offensichtlich systematische Abweichung der Cpl-Messungen hatte zur Folge, dass sich für die Datensätze unterschiedliche Cu/Cpl-Koeffizienten und damit unterschiedliche Zahlen von Cu-Atomen pro Cpl-Molekül errechneten.

Getrennte Regressionsanalysen der Datensätze ergaben dann übereinstimmend für die überwiegende Zahl (mehr als 90%) der Messungen in den Seren keine statistisch signifikanten Cu-Konzentrationen im nichtCplCu-Kompartiment (mittlere Konzentrationen unter 0,2 µmol/l) und für die einzelnen Datensätze (also für jedes Labor für bestimmte Zeitabschnitte) konstante Cu/Cpl-Koeffizienten zwischen 6,0 und 8,8.

Bei einer mittleren GesCu-Konzentrationen von ca. 20 µmol/l im Serum errechnet sich somit für das nichtCplCu ein Anteil von weniger 1%. Dieses Ergebnis widerspricht zahlreichen früheren Studien, Berichten und Zitaten, nach denen bis zu 40% des Serum-GesCu auf das nichtCplCu entfallen soll. Das Ergebnis bestätigt aber die Hypothese I dieser Arbeit und die Mittelung von Evans et al. (1989) die bei direkten Messungen in Seren von Menschen kein nichtCplCu (untere Nachweisgrenze: 0,1 µmol/l) nachweisen konnten.

Die für jedes Labor (und für bestimmte Zeitperioden) als Konstante zu errechnenden Cu/Cpl-Koeffizienten (Bestätigung der Hypothese II dieser Arbeit) weisen daraufhin, dass die Cpl-Messmethoden nicht ausreichend standardisiert und ihre Ergebnisse deshalb nicht geeignet

sind, die Hypothese III dieser Arbeit zu überprüfen: nur in einem der fünf Datensätze konnte der erwartete Cu/Cpl-Koeffizient von 6 gefunden werden.

Bei der Bewertung von Cu- und Cpl-Messwerten, bei denen es sich immer um Cu_{und}Cpl-Messwertepaare handeln muss, kann man in praxi also das nichtCplCu-Kompartiment vernachlässigen und in der Formel „Cu = nichtCplCu + Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl“ das nichtCplCu gleich Null setzen, so dass sich für jedes Serum – bei bekannter (gemessener) Cpl-Konzentration – die erwartete Cu-Konzentration errechnen lässt nach der Formel „Cu_{SOLL} = Cu/Cpl-Koeffizient * Cpl_{IST}“. Voraussetzung für die Berechnung ist, dass der aktuelle Cu/Cpl-Koeffizient des jeweiligen Laboratoriums bekannt ist.

Im Verlauf der Untersuchungen dieser Arbeit erwies sich die Ermittlung des Cu/Cpl-Koeffizienten mittels Regressionsanalyse (OLS) als immer dann nicht möglich ist, wenn sich unter den Cu_{und}Cpl-Messwertepaaren stark abweichende Messungen, wie solche mit einem Kupferüberschuss, befanden. Die Arbeit zeigt jedoch Verfahren auf, wie diese Messungen im Datensatz erkannt und entfernt werden können. Ein solches Vorgehen erwies sich jedoch als überflüssig, weil sich herausstellte, dass der nach Berechnung des Cu/Cpl-Quotienten für alle Serumproben eines Datensatzes ermittelte Median der Quotienten (Median_{Cu/Cpl-Q}) immer nahezu identisch ist mit dem zugehörigen Cu/Cpl-Koeffizienten.

Der Median_{Cu/Cpl-Q} kann in praxi in jedem Labor z. B. täglich oder wöchentlich anhand von Routinemessungen bei Patienten ermittelt und dann anstelle des Cu/Cpl-Koeffizienten verwendet werden. Ist der Cu/Cpl-Koeffizient oder der (hier als gleichwertig gefundene) Median der Cu/Cpl-Quotienten eines Laboratoriums bekannt, lässt sich aus den Messwerten Cu und Cpl der Cu_{SOLL}-Wert der Probe ermitteln und ein Überschuss an Cu (Δ Cu), wie er z.B. bei Patienten mit Morbus Wilson oder mit einer Kupfervergiftung vorkommt, ermitteln. Die entsprechenden Formeln lauten: „ Δ Cu = Cu_{IST} - Cu/Cpl-Koeff. * Cpl_{IST}“ bzw. „ Δ Cu = Cu_{IST} - Median_{Cu/Cpl-Q} * Cpl_{IST}“. Auf diese Weise lässt sich eine „echte“ Hypercuprämie (die hypercupraemia vera), die auf ein Missverhältnis zwischen Cu und Cpl im Serum hinweist und somit eine echte Störung im Kupferhaushalt anzeigt, unterscheiden von der einfachen Hypercuprämie (der hypercupraemia simplex), die immer dann auftritt, wenn Cpl im Serum z.B. bei entzündlichen oder malignen Prozessen oder unter hormonellem Einfluss bei Schwangerschaft oder Antikonzeption, erhöht ist.

Ausblick: Die in dieser Arbeit ermittelten Gesetzmäßigkeiten zwischen den Konzentrationen von Cu und Cpl im Serum gesunder und kranker Menschen erlauben eine gezielte Suche nach

Patienten/Krankheiten mit Störungen im Kupferhaushalt; sie ermöglichen insbesondere eine quantitative Bestimmung des Kupferüberschusses im Serum von Menschen mit Morbus Wilson und den Kupfervergiftungen als einen zur Diagnose führenden Befund.

7. Literaturverzeichnis

1. Araya M., Olivares M., Pizarro F., Mendez MA., Gonzalez M., Uauy R., 2005: Supplementing copper at the upper level of the adult dietary recommended intake induces detectable but transient changes in healthy adults. *J Nutr.* 2005 Oct;135(10):2367-71.
2. Barrow L., Tanner MS., 1987: Copper distribution among serum proteins in paediatric liver disorders and malignancies. *Eur L Clin Invest* 1988; 18:555-60.
3. Bielli P, Calabrese L., 2002: Structure to function relationships in ceruloplasmin: a 'moonlighting' protein. *Cell mol life science* 59: 1413-1427.
4. Calabrese L., Musci G., 1997: in *Molecular Properties of Ceruloplasmin from Different Species in Multi-Copper Oxidase* (Messerschmidt, A., ed), pp. 307-354, World Scientific Publications, Singapore.
5. Carr G., Wilkinson AW., 1975: "Zinc and Copper Urinary Excretions in Children with Burns and Scalds." *Clinica Chimica Acta* 61: 199-204.
6. Chidambaram MV., Barnes G., Frieden E., 1984: Inhibition of ceruloplasmin and other copper oxidases by thiomolybdate. *J Inorg Biochem.* 1984 Dec; 22(4):231-40.
7. Curzon G., Vallet L., 1959: Preparation of caeruloplasmin from the G2 fraction of human plasma. *Nature* 1959 Mar 14;183(4663):751.
8. Eife R., Weiss M., Barros V., Sigmund B., Goriup U., Komb D., Wolf W., Kittel J., Schramel P., Reiter K., 1999: Chronic poisoning by copper in tap water: I. Copper intoxications with predominantly gastrointestinal symptoms. *Eur J Med Res.* 1999 Jun 28; 4(6): 219-23.
9. Eife R., Weiss M., Muller-Hocker M., Lang T., Barros V., Sigmund B., Thanner F., Welling P., Lange H., Wolf W., Rodeck B., Kittel J., Schramel P., Reiter K., 1999: Chronic poisoning by copper in tap water: II. Copper intoxications with predominantly systemic symptoms. *Eur J Med Res.* 1999 Jun 28; 4(6):224-8.
10. Evans PJ., Bomford A., Halliwell B., 1989: Non-caeruloplasmin copper and ferroxidase activity in mammalian serum. Ferroxidase activity and phenanthroline-detectable copper in human serum in Wilson's disease. *Free Radic Res Commun.* 1989;7(1):55-62.
11. Farver O., Bendahl L., Skov LK., Pecht I., 1999: Human Ceruloplasmin intramolecular electron transfer kinetics and equilibration. *Journal of Biological Chemistry* 274(37): 26135-26140.
12. Farver O., Pecht I., 1997: Electron transfer reactions in multi-copper oxidases. In *Multi-Copper Oxidases* (Messerschmidt, A., ed.), pp. 355–389. World Scientific, Singapore.

13. Fleming CR., D. E., Wahner HW., Hohenhorst RW., McCall JT., 1977. "Pigmented Corneal Rings in Non-Wilsonian Liver Disease." *Annals of Internal Medicine* 86: 285-288.
14. Gaffney D., Fell G.S. and O'Reilly D.St.J., Wilson's disease: acute and presymptomatic laboratory diagnosis and monitoring, *J. Clin. Pathol* 2000;53:807-812.
15. Holmberg CG., Laurell CB., 1947: Investigations in serum copper. I. Nature of serum copper and its relation to the iron-binding protein in human serum. *Acta Chem. Scand.* 1: 944-950.
16. Huber CT., Frieden E., 1970: Substrate activation and the kinetics of ferroxidase, *Journal of Biological Chemistry*; 245: 3973-3978.
17. Kleinbaum H., 1968: Ceruloplasmin, direct reacting copper and total copper content in various infectious and inflammatory processes. *Kinderheilkd.* 1968; 102(1):84-94.
18. Lewis et al., 1976: Hypercupremia with a monoclonal immunoglobulin. *J.Lab. Med.*, Vol 88, Number 3, 375-388.
19. Lowry SF., Smith JC. Jr., Brennan MF., 1981: "Zinc and Copper Replacement during total parenteral nutrition." *Am J Clin Nutr.* 1981 Sep; 34(9):1853-60.
20. Marceau N, Aspin N., 1973: "The intracellular distribution of the radiocopper derived from ceruloplasmin and from albumin." *Biochimica et Biophysica Acta* 1975; 293:331-350.
21. Meghji S, Haque MF, and Harris M, (1997): Oral submucous fibrosis and copper; *Lancet.*1997 Jul 19; 350(9072):220.
22. Messerschmidt A., Huber R., 1990: The blue oxidase, ascorbate oxidase, laccase and ceruloplasmin. Modelling and structural relationship; *Eur J Biochem.* 1990 Jan 26; 187(2):341-52.
23. Mukhoppadhyay CK., Mazumder B., Lindley PF., Fox PL., 1997: Identification of the prooxidant site of human ceruloplasmin: model for oxidative damage by copper bound to protein surfaces. *Proc Natl Acad Sci USA.*1997 Okt 14; 94(21):11546-51.
24. Musci G., Bellenchi GC., Calabrese L., 1999: The multifunctional oxidase activity of ceruloplasmin as revealed by anion binding studies. *Eur J Biochem.* 1999 Oct; 265(2):589-97.
25. Olivares et al., 1998: "Copper in Infant Nutrition: Safety of World Health Organization Provisional Guideline Value for Copper Content of Drinking Water." *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 26: 251-257.
26. Owen CA. and Ludwig J., 1982: "Inherited Copper Toxicosis in Bedlington Terriers." *American Journal of Pathology* 106: 432-434.
27. Poulik and Weiss, 1975: *The Plasma Proteins Vol.II, Structure, Function and Genetic Control*, Second Edition: F.W.Putnam Academic Press 1975.

28. Price LA., Walker NI., Clague AE., Pullen ID., Smits SJ., Ong TH., Patrick M., 1996: "Chronic Copper Toxicosis Presenting As Liver Failure in An Australian Child." *Pathology* 28: 316-320.
29. Ryden L., 1982: Model of the active site in the blue oxidase based on the ceruloplasmin-plastocyanin homology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982 Nov; 79(22):6767-71.
30. Salmenperä et al., 1989: Copper supplementation; failure to increase plasma copper and ceruloplasmin concentrations in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 50, p. 843-847.
31. Sarkar B., Kruck APT., 1966: Copper amino-acid complexes in human serum; *The Biochemistry of Copper*. Pelsach, J., Aisen, P. and Blumberg. W.E., Editors. New York, 1966, Academic Press, Inc., pp.183-196.
32. Sato M., Gitlin JD.:Mechanisms of copper incorporation during the biosynthesis of human ceruloplasmin. *J Biol Chem*. 1991 Mar 15;266(8):5128-34
33. Shaw JCL., 1980: "Trace Elements in the Fetus and Young Infant." *American Journal of Disease of Childhood* 134 Jan.: 74 - 81.
34. Sobol G, Pyda E., 1995: Copper and ceruloplasmin concentrations in serum of infants with pneumonia. *Pneumonol Alergol Pol*. 1995;63(7-8):378-81.
35. Thomas L, 1984: *Labor und Diagnose*. TH-Books, Frankfurt/Main, 3. Auflage.
36. Turnlund JR., K. C., Smith RG., 1990: "Copper status and urinary and salivary copper in young men at three levels of dietary copper." *Am J Clin Nutr* 51(4): 658-664.
37. Turnlund JR, S. K., Pfeiffer GL, Jang AM, Keyes WR, Keen CL, Sakanashi TM, 1997: "Copper status of young men consuming a low-copper diet." *Am J Clin Nutr* 65(1): 72-78.
38. Turnlund JR, Jacob RA, Keen CL, Strain JJ., Kelley DS., Domek JM., Keyes WR., Ensunsa JL., Lykkesfeldt J., Coulter J.: Long-term high copper intake: effects on indexes of copper status, antioxidant status, and immune function in young men. *Am J Clin Nutr*. 2004 Jun; 79(6):1037-44.
39. Turnlund JR, Keyes WR, Kim SK, Domek JM.: Long-term high copper intake: effects on copper absorption, retention, and homeostasis in men. *Am J Clin Nutr*. 2005 Apr;81(4):822-8.
40. Tutor JC., F. M., Paz JM., 1982: "Serum copper concentration and hepatic enzyme induction during long-term therapy with anticonvulsants." *Clinical Chemistry* 28(6): 1367-1370.
41. Twomey PJ., Viljoen A., House IM., Reynolds TM., Wierzbicki AS., 2005: Relationship between serum copper, ceruloplasmin, and non-ceruloplasmin-bound copper in routine clinical practice. *Clinical Chemistry* 51(8):1558-1559.

42. Walker-Smith J., Blomfield J., 1973: Wilson's disease or chronic copper poisoning? Arch.Dis.Child.48:476-479.
43. Walshe JM.,2003: Wilsons disease: the importance of measuring caeruloplasmin non-immunologically. Ann Clin Biochem 40:115-121.
44. Wirth PL., Linder MC., 1985: Distribution of Copper among components of human serum. J Natl Cancer Inst 1985; 75; 277-84.
45. Zaitsev VN., Zaitseva I., Papiz M., Lindley PF., 1999: An X-ray crystallographic study of the binding sites of the azide inhibitor and organic substrates to ceruloplasmin, a multi-copper oxidase in the plasma; J Biol Inorg Chem. 1999 Oct;4(5):579-87.

8. Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. R. Eife dafür, dass er mir dieses außerordentlich interessante Thema zur wissenschaftlichen Bearbeitung anvertraut hat. Des Weiteren gilt ihm Dank für die hervorragende Zusammenarbeit und seine engagierte Betreuung der Arbeit. Seine Hilfe und kompetente Beratung haben maßgeblich zum Erfolg und Gelingen dieser Dissertation beigetragen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. W.-R. Külpmann, dem Direktor des Instituts für Klinische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, Herrn Dr. R. Alkier im Institut für medizinische Virologie und Infektionsepidemiologie Stuttgart, Herrn Dr. W. Behr im Institut für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Umwelthygiene im Zentralklinikum Augsburg für die Überlassung der Datensätze „Hannover“, „Stuttgart“ und „Augsburg“, und ebenso Herrn Prof. Dr. H.H. Dieter im Institut für Wasser-Boden-Lufthygiene für die Überlassung der gesamten Messwerte der Göttinger Studie.

Mein Dank gilt auch den Leitern und Mitarbeitern der Klinisch-chemischen Laboratorien in der Haunerschen Kinderklinik und im Zentrallabor des Klinikums Innenstadt der Universität München, Prof. Dr. Frank Bidlingmair, Prof. Dr. Adelbert Roscher, Prof. Dr. Horn, Dr. Rolinski und Frau Anne Prause für ihre Hilfe bei der Erstellung der Messdatensammlung für die Datensätze „München“.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Augustin, Vorstand des Instituts für Statistik der LMU, der mit vielen Anregungen und Kommentaren wesentlich zur Entwicklung der Methoden beigetragen hat.

Das letzte und ganz besondere Dankeschön gilt Alexander Lammert, Alexander Nawrath und Julia Peller ohne deren Unterstützung diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre.

9. Persönliche Daten und tabellarischer Lebenslauf

Name, Vorname: Pelz, Reta
Straße: Enzianstraße 24a
Ort: 68309 Mannheim
Geburtsdatum: 28.09.1976
Geburtsort: Braunschweig
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

1982 - 1986	Grundschule Höchststadt a. d. Aisch
1986 - 1996	Gymnasium Höchststadt a. d. Aisch
Juni 1996	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Universitätsstudium:

Seit Oktober 1996	Medizinstudium an der Universität Leipzig
September 1998	Physikum
September 1999	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2002	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 2002 – März 2003	Praktisches Jahr an der Universität Leipzig
6. Mai 2003	Abschluss des Medizinstudiums an der Universität Leipzig mit Bestehen des Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
1. Aug. 2003 – 30. Sept. 2004	Ärztin im Praktikum in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Zentralinstituts für seelische Gesundheit in Mannheim
Seit 1. Okt. 2004	Ärztin in Weiterbildung zum Facharzt für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Zentralinstituts für seelische Gesundheit in Mannheim