



한국인에서 Soluble ST2의 참고치 설정

Establishing Reference Intervals for Soluble ST2 Assay in a Korean Population

박미경¹ · 지미숙² · 김한아¹ · 문희원¹ · 허미나¹ · 윤여민¹Mikyung Park, M.D.¹, Misuk Ji, M.D.², Hanah Kim, M.D.¹, Hee-Won Moon, M.D.¹, Mina Hur, M.D.¹, Yeo-Min Yun, M.D.¹건국대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실¹, 중앙보훈병원 진단검사의학과²Department of Laboratory Medicine¹, Konkuk University School of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine², VHS Medical Center, Seoul, Korea

Background: Soluble ST2 (sST2) has emerged as a biomarker of heart failure. Previous studies indicated 35 ng/mL of sST2 as the clinically prognostic cut-off value. This study aims to establish reference intervals in a Korean population using an sST2 assay and to evaluate the applicability of the cut-off value.

Methods: From March to May 2014, sST2 levels were assayed in serum samples of 255 cardio-healthy Koreans (128 men and 127 women) using the Presage ST2 ELISA kit (Critical Diagnostics, USA). The reference interval for sST2 was defined using the nonparametric percentile method according to the CLSI EP28-A3c guideline.

Results: The median sST2 concentrations were 23.8 ng/mL (interquartile range (IQR), 19.0-28.7), 26.6 ng/mL (IQR, 21.0-30.9), and 21.9 ng/mL (IQR, 17.3-26.5) for the entire cohort, men, and women, respectively. sST2 levels were significantly higher in men than in women ($P < 0.0001$). The 97.5th percentile upper reference limits for sST2 were 43.8 ng/mL, 49.6 ng/mL, and 35.4 ng/mL for the cohort, men, and women, respectively. Gender-specific upper reference limits were similar to limits reported by other studies.

Conclusions: We suggest that gender-specific reference intervals should be used for the Korean population, as application of a single cut-off value of 35 ng/mL may be overcautious of the possibility of false positivity, especially in men.

Key Words: Soluble ST2, Reference interval, Korean, Heart failure

서론

Suppression of tumorigenicity 2 (ST2)는 interleukin-1 수용체 계열의 하나인 단백질로 세포막에 결합되어 있는 ST2L과 혈청 내 존재하는 수용성 ST2 (soluble ST2, sST2), 위장관에 주로 존재하는 변이형 STV 등 3가지 형태로 구성되어 있다[1]. 혈청 내 sST2 농도는 심장 질환 및 다양한 염증 질환에서 증가한다[1, 2]. 전통적으로

급성 호흡곤란의 감별 진단, 심부전의 진단 및 예후 판정을 위하여 B-type natriuretic peptide (BNP) 또는 N-terminal pro-BNP (NT-proBNP)가 사용되어 왔으나[3], sST2가 급만성 심부전 환자의 불량한 예후를 예측할 수 있는 새로운 표지자로 최근 주목 받고 있다[1]. 그러나 sST2는 질병 특이도가 없어서 심부전의 진단보다 예후에 유용한 표지자로 평가되고 있다[1, 2].

인간 sST2 농도를 측정할 수 있는 상업화된 제품은 20개 이상이나, 이 중 기존 문헌에서 주로 사용된 키트는 4가지이다[1, 2]. 이 중 Presage ST2 ELISA kit (Critical Diagnostics, San Diego, CA, USA)는 혈액 내 sST2 측정을 위한 ELISA 방법 중 유일하게 미국 식약처 (Food and Drug Administration) 승인 및 유럽 Conformité Européenne (CE) Mark를 모두 획득한 방법으로 측정 한계는 1.3 ng/mL, 측정 범위는 ~200 ng/mL이다[2].

sST2는 단일 기준치(cut-off value)를 사용함으로써 임상적 판단이 보다 용이하다. 그러나 현재 sST2 농도 측정을 위해 사용 중인 검사들은 표준화가 되어 있지 않으므로, 검사 간 결과값을 호환하기 곤란하고 해당 검사의 참고치가 중요하다[2]. Lu 등[4]의 연구에 근거하여, Presage ST2 검사의 시약 제조사는 중앙 95% 참고 범위

Corresponding author: Yeo-Min Yun

Department of Laboratory Medicine, Konkuk University School of Medicine, Konkuk University Medical Center, 120-1 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05030, Korea
Tel: +82-2-2030-5582, Fax: +82-2-2030-5587, E-mail: ymyun@kuh.ac.kr

Received: October 19, 2016

Revision received: April 20, 2017

Accepted: April 21, 2017

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2017, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

로 남성 8.5-49.3 ng/mL, 여성 7.1-33.5 ng/mL를 제시하고 있고, 심부전 예후 판정을 위한 임상적 기준으로 35 ng/mL를 제시하고 있다[5]. 이 임상적 기준치는 심부전 예후 판정에 사용되어, HF-ACTION 코호트 연구에서 혈장 sST2 농도가 35 ng/mL 보다 높은 경우 사망률이 유의하게 높은 것으로 보고되었다(log rank, $P < 0.001$) [6, 7].

오스트리아 및 미국 등의 참고집단에서 Presage ST2 검사를 이용하여 sST2의 참고 범위를 설정한 기존 연구들이 있으나[4, 8, 9], 한국의 건강한 성인에서 어느 정도의 sST2 농도 분포가 나타나는지 잘 알려져 있지 않아, 참고 범위 설정이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 한국의 건강한 참고집단에서 Presage ST2 검사의 참고 범위를 CLSI EP28-A3c [10]에 따라 설정하고, 기존의 임상적 기준으로 알려져 있는 35 ng/mL와 비교하였다.

재료 및 방법

1. 대상

본 연구는 건국대학교병원 기관윤리심의위원회의 승인을 받은 후, 2014년 3월부터 5월까지, 건국대학교병원의 건강증진센터를 방문한 정상 성인을 대상으로 하였다. 연구 대상자는 기존의 연구[11-13]에 근거하여 다음과 같은 기준으로 선택하였다.

- (1) 고혈압, 심장혈관질환 등을 포함한 심장질환의 경력이 없을 것
- (2) 현재 복용하는 약물이 없을 것
- (3) Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) 방법으로 측정된 사구체 여과율(estimated Glomerular Fraction Rate, eGFR) [14]
 - >90 mL/min/1.73 m² (40세 미만)
 - >60 mL/min/1.73 m² (40세 이상)
- (4) 당화혈색소(HbA1c) < 6.5%
- (5) B-type natriuretic peptide (BNP) < 40 pg/mL

상기 조건을 만족하는 남성 130명, 여성 130명을 대상으로 선정하였으나, 이 중 남성 1명이 이완기 고혈압으로 진단받아 제외되었고, Dixon-Reed 기준에 따른 이상치로 남성 1명, 여성 3명이 대상에서 제외되었다[15]. 최종 대상자 수는 255명(남성 128명, 여성 127명)으로, 대상의 연령 범위는 18세에서 70세였다.

2. 방법

혈청 sST2의 참고 범위 설정을 위하여 장비의 분석능을 평가하였다. 정밀도(precision)를 평가하기 위해 CLSI EP10-A3-AMD에 따라, 저농도, 중간농도, 고농도의 3가지 농도의 환자의 혈청을 사용하여 5일에 걸쳐 “중간농도 - 고농도 - 저농도 - 중간농도 - 중간농도 - 저농도 - 저농도 - 고농도 - 고농도 - 중간농도” 순으로 검사하였다. 그 결과로 검사 차례 내, 검사일 간 및 총 정밀도(within-run,

between-day 및 total precision) 변이계수(coefficient of variation, CV%)를 계산하였다[16]. 직선성(linearity)을 평가하기 위해, CLSI guideline EP6-A에 따라 저농도와 고농도 검체를 일정 비율로 혼합하여 총 5가지의 농도의 검체를 준비하여 각 농도별로 4번 반복하여 검사하였다[17]. CLSI EP10-A3-AMD에 따라 5일간 잔효(carry-over)를 계산하였다[16].

총 대상자의 각각 남녀 군에서 -80°C에 보관된 혈청 잔여검체에서 Presage® ST2 ELISA Assay (Critical Diagnostics, San Diego, CA, USA)를 사용하여 sST2를 2번 측정하여, 평균값을 사용하였다.

혈청 sST2의 참고 범위는 CLSI EP28-A3c에 따라 설정하였다[10]. sST2의 측정값에서 Dixon-Reed 기준에 따라 이상치를 제거한 후 [15], 비모수적 방법을 사용하여 2.5 퍼센타일에서 97.5 퍼센타일(중앙 95%)을 참고 범위로 설정하였다.

통계 처리는 MedCalc Software version 15.2.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium)와 Analyse-it (Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK)을 이용하였다. 남녀 군의 혈청 sST2의 중앙값을 비교하기 위해, Mann-Whitney *U* test를 사용하였고, $P < 0.05$ 를 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

검사 차례 내 정밀도(CV%)는 저농도에서 3.3%, 중간농도에서 1.7%, 고농도에서 3.7%였다. 검사일 간 정밀도는 저농도에서 3.8%, 중간 농도에서 3.8%, 고농도에서 2.9%였다. 총 정밀도는 저농도에서 5.0%, 중간 농도에서 4.2%, 고농도에서 4.7%였다. 검사 차례 내, 검사일 간 및 총 정밀도는 제조사에서 제시하는 범위(2.4-9.1%) 내에 있었다[5]. 직선성의 평가에서, 4.3 ng/mL에서 192.9 ng/mL까지 직선성을 확인하였고($r^2 = 0.996$), 5일간 시행한 잔효는 -0.54%부터 +0.42%로 허용범위 내에 있었다[17].

총 255명의 대상자 중 남성은 128명(50.2%) 여성은 127명(49.8%)이었다. 연령 평균(mean)은 총 대상자 45.0 ± 8.2세, 남성 46.0 ± 7.8세, 여성 44.0 ± 8.6세였다. 사구체 여과율(eGFR)이 90 mL/min/1.73 m²를 초과한 대상자는 총 80명(남성 29명, 여성 51명)이었고, 60-90 mL/min/1.73 m² 사이의 대상자는 총 175명(남성 99명, 여성 76명)이었다. 당화혈색소(HbA1c)의 평균은 총 대상자 5.3 ± 0.3%, 남성 5.3 ± 0.3%, 여성 5.3 ± 0.3%였다. BNP 값이 측정 한계치 미만(< 10 pg/mL)인 대상자는 총 140명(남성 94명, 여성 46명)이었고, 10-40 pg/mL 사이의 대상자는 총 115명(남성 34명, 여성 81명)이었다.

혈청 sST2 참고 범위의 2.5 퍼센타일은 총 대상자 12.6 ng/mL (90% 신뢰구간, 10.6-13.8), 남성 13.4 ng/mL (90% 신뢰구간, 8.8-16.3), 여성 12.1 ng/mL (90% 신뢰구간, 6.1-13.6)이었다. 혈청 sST2 농도의 97.5 퍼센타일은 총 대상자 43.8 ng/mL (90% 신뢰구간, 40.7-

50.7), 남성 49.6 ng/mL (90% 신뢰구간, 43.2-53.5), 여성 35.4 ng/mL (90% 신뢰구간, 32.5-43.8)이었다(Table 1). 혈청 sST2 농도의 중앙

값(사분범위)은 총 대상자 23.8 (19.0-28.7) ng/mL, 남성 26.6 (21.0-30.9) ng/mL, 여성 21.9 (17.3-26.5) ng/mL이었고(Table 1), 남성이 여

Table 1. Comparison of previously reported sST2 reference intervals with values from the Presage ST2 ELISA assay*

Reference	Sample size	Age (yr)	Specimen	Unit	Median sST2 (sex) [†]	Reference intervals		
						Total	Male	Female
Dieplinger <i>et al.</i> [8]	N (M) = 338 N (F) = 190	18-64 18-64	Plasma	U/mL	13 (M) [†] 8 (F) [†]	Not reported	4.0-31.0	2.0-21.0
Lu <i>et al.</i> [4]	N (M) = 245 N (F) = 245	18-84 18-84	Plasma	ng/mL	24.9 (M) [§] 16.9 (F) [§]	Not reported	8.6-49.3	7.2-33.5
Coglianesse <i>et al.</i> [9]	N (M) = 462 N (F) = 674	35-74 35-74	Plasma, serum	ng/mL	Not available	Not reported	10.6-13.2 (2.5th, E) 43.3-47.6 (97.5th, E) 10.3-13.1 (2.5th, Q) 44.6-46.5 (97.5th, Q)	9.3-10.4 (2.5th, E) 30.7-45.1 (97.5th, E) 9.6-10.2 (2.5th, Q) 29.4-35.3 (97.5th, Q)
Manufacturer [5]	N (M) = 245 N (F) = 245	18-84 18-84	Plasma, serum	ng/mL	23.6 (M) 16.2 (F) 18.8 (T)	1.75-34.3	8.5-49.3	7.1-33.5
Present study	N (M) = 128 N (F) = 127	18-70 18-70	Serum	ng/mL	26.6 (M) 21.9 (F) 23.8 (T)	12.6-43.8	13.4-49.6	12.1-35.4

*All reference intervals were calculated using a non-parametric percentile method (95%, double sided.) except in only one study [9]. [†]Median sST2 values were presented except in one study [4]. [‡]Median sST2 values were significantly different according to sex (Mann-Whitney *U* test, *P* < 0.001). [§]Mean sST2 concentrations in the male group were significantly higher compared to that in the female group (*P* < 0.0001). ^{||}Reference intervals according to sex and age was estimated using both empirical and quantile regression methods from a healthy reference sample in the Framingham Heart Study [9].

Abbreviations: sST2, soluble suppression of tumorigenicity 2; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; M, males; F, females; T, total; E, empirical reference limits; Q, quantile regression reference limits.

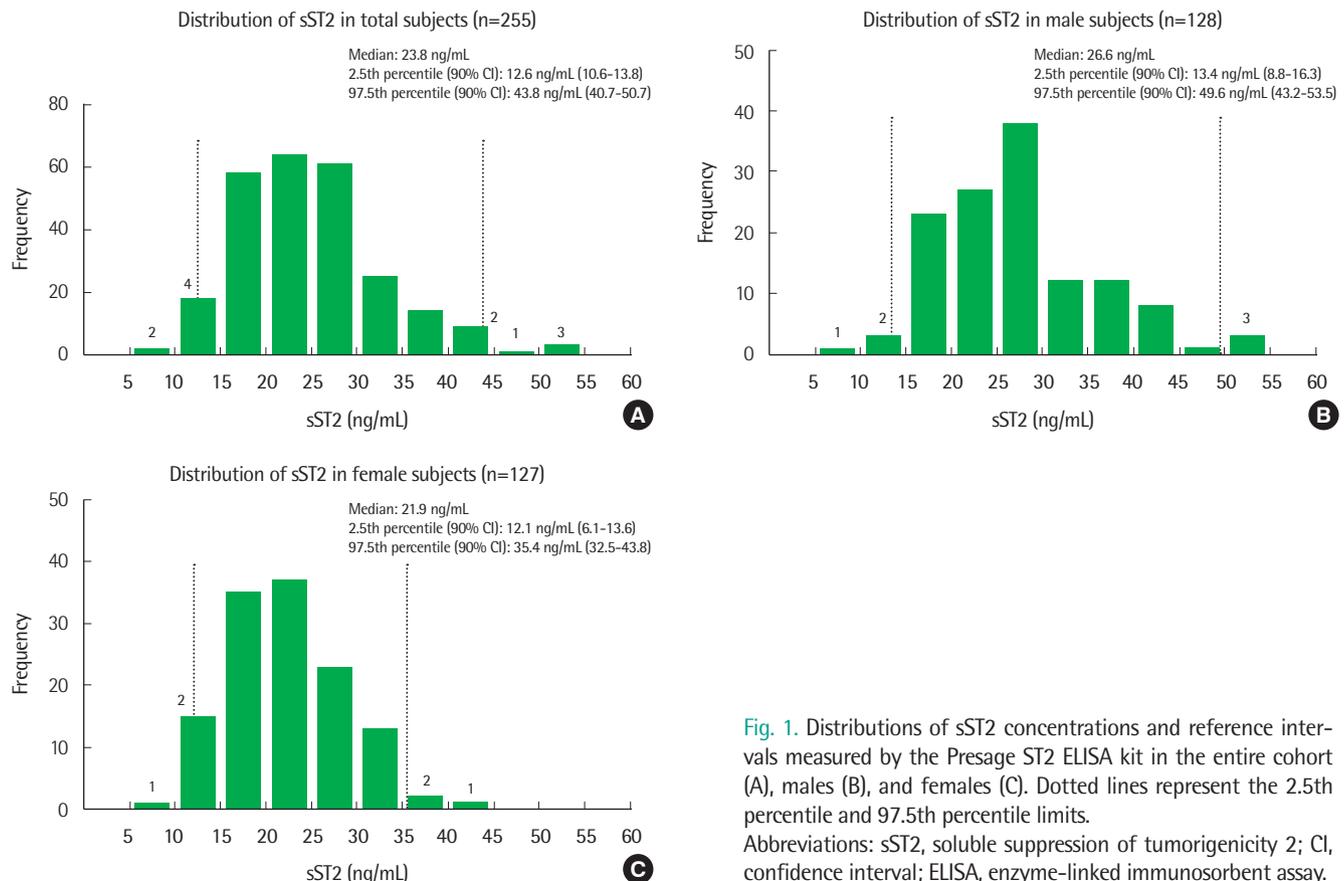


Fig. 1. Distributions of sST2 concentrations and reference intervals measured by the Presage ST2 ELISA kit in the entire cohort (A), males (B), and females (C). Dotted lines represent the 2.5th percentile and 97.5th percentile limits. Abbreviations: sST2, soluble suppression of tumorigenicity 2; CI, confidence interval; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay.

성보다 유의하게 높았다(Mann-Whitney U test, $P < 0.0001$). sST2의 심부전 예후 판정의 임상적 기준치로 알려져 있는 35 ng/mL [5-기를 초과한 대상자는 총 255명 대상자 중 27명(10.6%)이었고, 이중 남성이 24명, 여성이 3명이었다.

한국의 건강인 참고집단에서 Presage ST2 검사를 사용하여 측정한 혈청 sST2 참고 범위의 분포가 Fig. 1에 나와 있다. 혈청 ST2 농도의 97.5 퍼센타일 기준치(43.8 ng/mL)를 초과한 대상자 총 6명의 hs-TnI, 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌(creatinine), 중성지방(triglyceride), 총 콜레스테롤(total cholesterol), 저밀도지단백 콜레스테롤(LDL-cholesterol), 고밀도지단백 콜레스테롤(HDL-cholesterol)의 측정값은 모두 각 검사의 참고치 이내였고, 심질환과 관련된 특이적인 임상 병력이 없었다.

고 찰

성능 평가에서 재현성이 5% 이내였고, 잔효가 없어서 혈청 sST2의 참고 범위 설정에 문제 없음을 확인하였다. 본 연구는 한국의 건강인 참고집단에서 Presage ST2 검사를 사용하여 혈청 sST2 참고 범위를 설정한 첫 번째 연구이다. Table 1에서 보여주는 것처럼, 본 연구에서 성별에 따른 sST2의 참고 범위의 상한치는 한 연구를 제외하고 대체로 기존 연구들과 제조사에서 제시한 값과 비슷하였다[4, 5, 8, 9]. Lu 등[4]은 미국의 참고집단에서 비모수적 방법으로 설정한 혈장 및 혈청 sST2 농도의 중앙 95% 참고 범위로 남성 8.6-49.3 ng/mL, 여성 7.2-33.5 ng/mL로 제시하였다. Coglianesse 등[9]은 Framingham Heart 코호트의 참고 집단 1,136명을 대상으로 경험적 방법으로 계산한 혈장 sST2농도의 97.5% 참고 범위를 남성에서 43.3-47.6 ng/mL, 여성에서 30.7-45.1 ng/mL로 제시하였다. Dieplinger 등[8]은 오스트리아의 참고집단에서 중앙 95%의 참고 범위로 남성 4-31 U/mL, 여성 2-21 U/mL로 보고하였다. 한편, 총 대상자의 혈청 sST2 농도의 상한참고치는 제조사의 상한참고치보다 높았다[5].

본 연구에서는 남성의 혈청 sST2 농도의 평균값과 상한참고치가 여성보다 유의하게 높았다(Table 1). 이는 기존의 연구와 크게 다르지 않았다[4, 8]. 그리고 심부전 예후의 임상적 기준치인 35 ng/mL을 초과한 총 27명 중에서 24명이 남성이 차지하였다. Lu 등[4]의 연구에 근거한 제조사의 참고집단에서도 sST2가 35 ng/mL를 초과한 대상자 수는 남성이 여성보다 많았다[5]. 남성이 여성보다 sST2 농도가 높은 원인 중의 하나로 안드로겐에 의한 sST2의 합성 혹은 분비 조절의 가능성이 제기되었다[1, 2] 그러나 Dieplinger 등[18]은 sST2와 성호르몬 사이의 유의한 연관성을 발견하지 못했다. 성별에 따른 sST2 농도 차이의 원인이 명확하게 밝혀지지 않아, 아직 더 많은 연구가 필요하다. 남녀의 혈청 sST2의 농도 분포에 차이

가 있으므로, 성별에 따라 혈청 sST2의 참고 범위를 구별하여 사용할 필요가 있다.

sST2 농도는 급성 및 만성심부전, 관상동맥 질환, 만성폐쇄성폐질환, 폐렴, 패혈증, 급성호흡기증후군 등의 다양한 질환에서 증가하고, 기존 연구에서 보고된 건강인의 혈중 sST2의 참고 범위는 심부전 환자를 포함한 다양한 질환의 혈중 sST2 농도 범위와 중복되어 있다[2]. 따라서 35 ng/mL의 기준치로 심부전의 예후를 판정하는 것은 특히 남성에게서 위양성의 결과를 보일 수 있으므로 유의해야 한다. Wu 등[19]은 sST2의 결과 해석을 위해서는 연속적인 검사가 필요하고, 기준치(baseline)에서 변할 경우 심부전 진행을 나타낼 수 있으며, 만성 심부전 환자에서 기준치보다 2배 초과하여 증가할 경우 그 결과가 성별 특이적인 참고 범위 내에 있다고 하더라도, 의미 있는 증가로 고려되어야 할 것을 제시하였다. 한편, sST2의 참고 범위를 해석하고, sST2의 농도로 심부전의 진행을 예측하기 위해서는 생물학적 변이의 특성을 고려할 필요가 있다. Wu 등[19]의 연구에서 17명의 건강인을 대상으로 Presage ST2 검사를 사용하여 혈장 sST2 농도를 2주 간격으로 8주간 측정하였다. 혈장 sST2 평균값은 29 ng/mL로 12-75 ng/mL의 분포를 보였고, 개인 내 변이와 개인 간 변이 및 참고변화값(Reference Change Value)은 각각 11%, 46%, 30%였다. sST2농도는 심부전 치료에 의해 감소할 수 있고, 심부전 예후의 기준치로 30%의 참고변화값이 사용될 수 있다[2, 20].

이 연구는 몇 가지 제한점을 가지고 있다. 첫째로, 대상자 선정 기준에 건강력, 사구체 여과율, 당화혈색소, BNP만을 포함하였다. sST2가 증가할 수 있는 상황을 배제할 수 있는 다양한 검사들을 포함하지 않았다. 따라서 이 연구의 건강인 대상자 중에, 특히 남성에서, 무증상의 심장질환 등의 환자가 일부 포함되었을 가능성이 있다. 그리고 연령의 증가에 따른 참고치 증가, 특히 여성의 경우에 65세 이상에서 많이 증가한다는 보고[9]를 고려할 때에 연령군에 따른 참고치 설정은 고려하지 못했다는 한계점이 있다. 둘째로, 기존 연구들에 비하여 대상자 수가 적다는 것이다. Dieplinger 등[8]은 528명, Lu 등[4]은 490명, Coglianesse 등[9]은 1,136명의 참고 집단을 대상으로 한 것에 비해, 이 연구에서는 총 255명을 대상으로 하였다. 따라서, 이 연구의 대상자 군이 전체 한국인 집단을 대표하지 못할 가능성이 있다.

결론적으로, Presage ST2 검사를 사용한 한국의 건강인 참고집단에서 혈청 sST2의 성별에 따른 상한참고치는 기존 연구들의 결과와 유사하였다. 성별에 따라 혈청 sST2의 농도 분포에 차이가 있으므로, 성별 특이적인 참고치를 사용할 것이 권장된다. 남성의 경우 혈청 sST2의 결과값이 건강한 성인에서도 심부전 예후 기준으로 사용되는 35 ng/mL 보다 높은 경우가 있으므로, 임상적 적용 시에 대한 고려가 필요하다.

요 약

배경: Soluble ST2 (sST2)는 새로운 심장 표지자이다. 기존 연구들에서, 심부전 예후를 판정하는 임상적 기준치로 35 ng/mL가 사용되었다. 이 연구의 목표는 한국인에서 sST2의 참고 범위를 설정하고, 임상적 기준치의 진단적 적용을 평가하는 것이다.

방법: 2014년 3월부터 5월까지, 총 255명의 건강인(남성 128명과 여성 127명)의 혈청 잔여 검체로 Presage ST2 ELISA assay (Critical Diagnostics, USA)를 사용하여 sST2을 측정하였다. CLSI EP28-A3c 가이드라인에 따라 비모수적 퍼센타일 방법을 사용하여 sST2의 참고 범위를 설정하였다.

결과: 혈청 sST2 농도의 중앙값(사분범위)은 총 대상자, 남성, 그리고 여성에서 각각 23.8 (19.0-28.7) ng/mL, 26.6 (21.0-30.9) ng/mL, 21.9 (17.3-26.5) ng/mL였다. 혈청 sST2 농도는 남성이 여성보다 유의하게 높았다($P < 0.0001$). 혈청 sST2의 975 퍼센타일 상한참고치는 총 대상자, 남성, 그리고 여성에서 각각 43.8 ng/mL, 49.6 ng/mL, 35.4 ng/mL 였다. 성별에 따른 상한참고치는 기존 연구들의 결과와 유사하였다.

결론: 성별에 따라 혈청 sST2의 농도 분포가 다르므로, 성별 특이적인 참고 범위를 사용할 필요가 있다. 건강인에서 심부전의 임상적 기준치인 35 ng/mL을 적용하는 것은, 특히 남성에서 위양성 결과를 보일 수 있으므로 유의해야 한다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 해당 회사와 이해관계가 없음.

참고문헌

- Dieplinger B and Mueller T. Soluble ST2 in heart failure. *Clin Chim Acta* 2015;443:57-70.
- Mueller T and Jaffe AS. Soluble ST2-analytical considerations. *Am J Cardiol* 2015;115:8B-21B.
- Yoo B-S. Biomarkers in heart failure: focus on B-type natriuretic peptide. *Korean J Med* 2012;82:647-50.
- Lu J, Snider JV, Grenache DG. Establishment of reference intervals for soluble ST2 from a United State population. *Clin Chim Acta* 2010;411:1825-6.
- Critical diagnostics. Use of ST2 in Conjunction with Traditional clinical evaluations. http://www.criticaldiagnostics.com/US/products/pdfs/Presage_ELISA_Indication_For_Use.pdf (Updated on July 2017).
- US Food and Drug Administration. 510(k) Premarket Notification. http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/k111452.pdf (Updated on July 2017).
- Felker GM, Fiuzat M, Thompson V, Shaw LK, Neely ML, Adams KF, et al. Soluble ST2 in ambulatory patients with heart failure: association with functional capacity and long-term outcomes. *Circ Heart Fail* 2013;6:1172-9
- Dieplinger B, Januzzi JL, Steinmair M, Gabriel C, Poelz W, Haltmayer M, et al. Analytical and clinical evaluation of a novel high-sensitivity assay for measurement of soluble ST2 in human plasma--the Presage ST2 assay. *Clin Chim Acta* 2009;409:33-40.
- Coglianesi EE, Larson MG, Vasan RS, Ho JE, Ghorbani A, McCabe EL, et al. Distribution and Clinical Correlates of the Interleukin Receptor Family Member Soluble ST2 in the Framingham Heart Study. *Clin Chem* 2012;58:1673-81.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in Clinical laboratory; Approved guideline-Third edition. CLSI document EP28-A3C. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
- McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012;14:803-69.
- Gillett MJ. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1327-1334. *Clin Biochem Rev* 2009;30:197-200.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. http://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf (Updated on July 2017).
- Levey AS, Goresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006;145: 247-54.
- Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem* 1971;17:275-84.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures; Approved guideline-third edition. CLSI document EP10-A3-AMD. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity

- of quantitative measurement procedures: a statistical approach; Approved guideline. CLSI document EP06-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
18. Dieplinger B, Egger M, Poelz W, Gabriel C, Haltmayer M, Mueller T. Soluble ST2 is not independently associated with androgen and estrogen status in healthy males and females. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1515-8.
19. Wu AH, Wians F, Jaffe A. Biological variation of galectin-3 and soluble ST2 for chronic heart failure: implication on interpretation of test results. *Am Heart J* 2013;165:995-9.
20. Mueller T and Dieplinger B. Soluble ST2 and Galectin-3: What We Know and Don't Know Analytically. *EJIFCC*. 2016;27:224-37.