

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 14, 1976, pp. 93–97

Vergleich von Methoden zur Aktivitätsbestimmung der Serumcholinesterasen (Acylcholin-acylhydrolase E. C. 3.1.1.8) und deren diagnostische Wertigkeit¹⁾

Von W. Prellwitz, S. Kapp und Doris Müller

Zentrallaboratorium der Med. Kliniken und Institut für Med. Statistik und Dokumentation der Universität Mainz

(Eingegangen am 22. September/27. November 1975)

Zusammenfassung: Die Aktivitäten der Serumcholinesterasen wurden mit den Substraten Acetyl-, Butyryl- und Propionylthiocholinjodid parallel bei einem Normalkollektiv und Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis, Lebercirrhose, Fettleber, Cholestase, Intoxikationen und malignen Tumoren bestimmt.

Als Normbereiche ergaben sich mit den aufgeführten Substraten folgende Werte:

Acetylthiocholinjodid:	1,3 – 3,7 kU/l (Männer),	1,22–3,2 kU/l (Frauen)
Butyrylthiocholinjodid:	2,27–7,40 kU/l (Männer),	2,05–6,70 kU/l (Frauen)
Propionylthiocholinjodid:	3,10– 7,5 kU/l (Männer),	2,90–6,90 kU/l (Frauen)

Die Korrelation zwischen den verschiedenen Methoden, besonders zwischen Butyryl- und Propionylthiocholinjodid sind hoch signifikant. Gegenüber der Kontrollgruppe sind die Serumaktivitäten aller drei Methoden bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis, Lebercirrhose, Intoxikationen und malignen Tumoren signifikant vermindert. Eine Veränderung der Spezifität der Serumcholinesterasen gegenüber Acetyl-, Butyryl- und Propionylthiocholinjodid bei Normalpersonen und Patienten mit schwerer akuter Hepatitis bzw. Lebercirrhose wurde nicht beobachtet. In allen Fällen kam es auch im Verlaufe eines exogenen oder endogenen Leberkomas zu einem parallelen Abfall der Serumenzymaktivitäten.

Comparative methods for the determination of the activity of serumcholinesterases (acylcholin-acyl-hydrolase E.C. 3.1.1.8) and their diagnostical value

Summary: The activities of serum cholinesterases were determined in parallel with acetyl-, butyryl- and propionylthiocholiniodide in healthy persons and patients with acute and chronic hepatitis, cirrhosis of the liver, fatty liver, cholestasis, intoxication and malignant tumors.

The following normal values were obtained:

Acetylthiocholiniodide:	1.3 – 4.7 kU/l (men),	1.22–3.2 kU/l (women)
Butyrylthiocholiniodide:	2.27–7.40 kU/l (men),	2.05–6.70 kU/l (women)
Propionylthiocholiniodide:	3.10– 7.5 kU/l (men),	2.90–6.90 kU/l (women)

The correlations between the various methods, especially between butyryl- and propionylthiocholiniodide are statistically significant. Compared to healthy persons, the activity of serum-cholinesterases, determined with the three substrates, decreased significantly in patients with acute and chronic hepatitis, cirrhosis of the liver, intoxication and malignant tumors. A change of specificity of serum-cholinesterases towards acetyl-, butyryl- and propionylthiocholiniodide in normal persons and patients with endogenous or exogenous coma of the liver was not observed. In all cases a parallel decrease of activity in sera was determined.

Einführung

Die Cholinesterasen werden heute in zwei Gruppen eingeteilt:

1. Acetylcholinesterasen oder wahre Cholinesterasen, die im Gehirn, den motorischen Endplatten, der Lunge, den Blutzellen und im Serum vorkommen.

2. Unspezifische oder Pseudocholinesterasen (Serumcholinesterasen), die außer in der Leber nur im Serum nachweisbar sind.

¹⁾ Mit freundlicher Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 36.

Mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese konnten im Serum zwei spezifische Acetylcholinesterasen nachgewiesen werden (1). Sie hydrolysieren nur Acetylcholin. Daneben wurden insgesamt 11 unspezifische Cholinesterasen beobachtet. Nach vorhergehenden Untersuchungen ist diese Heterogenität der unspezifischen Cholinesterasen auf Polymerenbildung und den unterschiedlichen Gehalt an Neuraminsäure zurückzuführen (2, 3). Gegenüber anderen Esterasen unterscheiden sich beide Cholinesterasegruppen durch ihre hohe Sensibilität gegenüber Eserin.

Für die Aktivitätsbestimmungen der Serumcholinesterasen stehen heute die Substrate Acetylthiocholinjodid, Butyrylthiocholinjodid und Propionylthiocholinjodid zur Verfügung.

In dieser Arbeit werden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Erstellung von Normbereichen der Serumcholinesterasen mit den drei o. g. Substraten.
2. Vergleich der Aktivitäten der Serumcholinesterasen, parallel gemessen mit den drei Substraten bei Normalprobanden und Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen, Fettleber, Cholestasen, Intoxikationen (Alkylphosphate) und malignen Tumoren.

Dabei interessierte besonders die Frage, ob sich die Spezifität der Acetyl-, Butyryl- und Propionylthiocholinesterasen bei Normalprobanden und Patienten mit akuter Hepatitis und Lebercirrhose bzw. endogenem und exogenem Leberkoma unterscheiden.

Methodik

Die Aktivitätsmessungen wurden manuell mit Hilfe eines Digitalphotometers der Firma Eppendorf durchgeführt.

Aktivitätsbestimmungen mit Butyrylthiocholinjodid

Kinetischer Test (Firma Merck, Art. Nr. 3225)
 Endkonzentrationen im Test:
 20 mmol/l Phosphatpuffer pH 7,7
 6 mmol/l Butyrylthiocholinjodid
 0,25 mmol/l 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoesäure)
 Wellenlänge Hg 405 nm, Schichtdicke 1 cm, Serumeinsatz 10 µl,
 Meßtemperatur: 25 °C.

Aktivitätsbestimmungen mit Acetylthiocholinjodid

Kinetischer Test (Firma Boehringer, Art. Nr. 15984)
 Endkonzentration im Test:
 50 mmol/l Phosphatpuffer pH 7,2
 0,256 mmol/l Acetylthiocholinjodid
 0,25 mmol/l 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoesäure)
 Wellenlänge Hg 405 nm, Schichtdicke 1 cm, Serumeinsatz 20 µl,
 Meßtemperatur 25 °C.

Aktivitätsbestimmungen mit Propionylthiocholinjodid

Endkonzentration im Test:
 50 mmol/l Phosphatpuffer pH 7,4
 20 mmol/l Propionylthiocholinjodid
 0,25 mmol/l 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoesäure)
 Wellenlänge Hg 405 nm, Schichtdicke 1 cm, Serumeinsatz 20 µl,
 Meßtemperatur 25 °C.

Durchführung

3.0 ml der o. g. Lösung werden mit 20 µl Serum gemischt und die Extinktion sofort abgelesen. Danach wird die Zeit in s gestoppt, bis die Extinktion um 0,100 zunimmt.

Berechnung der Volumenaktivität: $\frac{68,2}{t(s)} = kU/l$

Der Faktor 68 200 für die Volumenaktivität von U/l oder 68,2 für kU/l berechnet sich wie folgt:

$$68,2 = \frac{0,100 \times 1}{0,088 \times 50} \times \frac{50 \times 1000}{\frac{1}{60}}$$

0,100 = Extinktionsdifferenz, die gestoppt wird
 0,088 = Extinktion von 20 µl Standardlösung (1 mmol/l Glutathion) unter Analysenbedingung

$\frac{1}{50}$ = 20 µl Standard (1 mmol/l Glutathion) enthält $\frac{1}{50}$ µmol Glutathion

50 × 1000 = Faktor von 20 µl Serumeinsatz auf 1000 ml

$\frac{1}{60}$ = Korrektur der in s gemessenen Zeit auf die Bezugsgröße von 1 min.

Der unterschiedliche Serumeinsatz in den Vergleichsmethoden ist in der o. g. Berechnung zu berücksichtigen.

Die Kontrollgruppe setzte sich aus dem Normkollektiv des SFB 36 zusammen. Die Patientenkollektive wurden aufgrund klinischer, bioptischer, röntgenologischer und klinisch-chemischer Befunde zusammengestellt. Von jedem Probanden bzw. Patienten wurden die Aktivitätsbestimmungen parallel mit den 3 og. Substraten durchgeführt.

Ergebnisse

Die Präzision von Tag zu Tag der drei verschiedenen Methoden ist in Tabelle 1 dargelegt. Die Variationskoeffizienten schwanken zwischen 2,6 und 3,4%.

Tab. 1. Präzision von Tag zu Tag innerhalb von 5 Monaten bei der Aktivitätsbestimmung der Cholinesterase im Serum

Substrat = Acetylthiocholinjodid					Substrat = Butyrylthiocholinjodid					Substrat = Propionylthiocholinjodid				
Sollwerte (kU/l) 1,48–1,80					2,7–3,7					–				
Monat	n	\bar{x} (kU/l)	s (kU/l)	VK (%)	n	\bar{x} (kU/l)	s (kU/l)	VK (%)	n	\bar{x} (kU/l)	s (kU/l)	VK (%)		
1	36	1,56	0,040	2,6	36	3,41	0,098	2,9	37	5,14	0,14	2,9		
2	42	1,60	0,046	2,9	42	3,35	0,103	3,1	45	5,35	0,17	3,3		
3	38	1,62	0,050	3,1	38	3,24	0,103	3,2	42	4,65	0,16	3,4		
4	26	1,63	0,044	2,7	26	3,30	0,092	2,8	46	4,17	0,13	3,1		
5	32	1,61	0,047	2,9	32	3,45	0,093	2,7	–	–	–	–		

Tab. 2. Normbereiche der Aktivitäten der Serum-Cholinesterasen bei gesunden Männern und Frauen

	Substrat = Acetylthiocholinjodid		Substrat = Butyrylthiocholinjodid		Substrat = Propionylthiocholinjodid	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
n	226	198	226	198	221	173
\bar{x} (kU/l)	2,43	2,20	4,74	4,31	5,30	4,95
s (kU/l)	0,68	0,51	1,34	1,22	1,12	1,06
2,5-97,5% kU/l	1,3-3,7	1,22-3,2	2,27-7,40	2,05-6,70	3,10-7,50	2,90-6,90

Die Normbereiche der Serumcholinesteraseaktivität sind in Tabelle 2 aufgezeichnet. Die Aktivität der Serumcholinesterase mit Acetylthiocholinjodid als Substrat ist am geringsten, die mit Propionylthiocholinjodid am höchsten. Bei Frauen liegen die Aktivitäten insgesamt niedriger als bei Männern. Diese Ergebnisse stimmen mit den Befunden anderer Untersucher überein (4, 5). In Tabelle 3 sind die Regressionsgleichungen und Korrelationskoeffizienten zwischen den verschiedenen Substraten aufgezeigt. Dabei ergeben sich die besten Übereinstimmungen zwischen den Substraten Butyryl- und Propionylthiocholinjodid. In Tabelle 4 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der drei Methoden in den verschiedenen Patientenkollektiven den Normalprobanden gegenübergestellt. Signifikante Verminderungen der Enzymaktivitäten im Ver-

gleich zu den gesunden Personen finden sich bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis, Lebercirrhose, Intoxikationen mit Alkylphosphaten und malignen Tumoren. In Tabelle 5 sind die Regressionsgleichungen und Korrelationskoeffizienten der verschiedenen Methoden in den einzelnen Krankheitsgruppen aufgezeichnet. Auch hier ergeben sich die besten Übereinstimmungen zwischen den Substraten Butyryl- und Propionylthiocholinjodid. Bei Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis sowie Lebercirrhose ergeben sich zwischen der Aktivität der Butyrylthiocholinesterase, der Thromboplastinzeit nach Quick und den Gerinnungsfaktoren II und V signifikante Korrelationen (Tab. 6).

Um die Frage zu klären, ob die Spezifität bzw. wie die Konzentration der Serumcholinesterasen, gemessen mit unterschiedlichen Substratkonzentrationen des Butyryl- und Propionylthiocholinjodids, sich bei Normalpersonen und Patienten mit akuter Hepatitis bzw. Lebercirrhose ändert, wurden Parallelbestimmungen durchgeführt. Dabei wurde in den oben beschriebenen Testansätzen die Konzentrationen des Butyrylthiocholins zwischen 2-12 mmol/l, die des Propionylthiocholinjodids zwischen 5-40 mmol/l variiert. Von jeder Substratkonzentration wurden bei je 8 Probanden bzw. Patienten mit Lebererkrankungen parallel die Enzymkonzentrationen ermittelt. Dabei lag in allen Kollektiven das Substratoptimum für das Butyrylthiocholinjodid

Tab. 3. Methodenvergleich - Serum-Cholinesterasen

Substrat = Acetylthiocholinjodid = C₂
 Substrat = Butyrylthiocholinjodid = C₄
 Substrat = Propionylthiocholinjodid = C₃

Ver- gleich	n	r	Signi- fikanz	Regressionsgleichung
C ₂ : C ₄	808	0,751	++	y = 0,41 x + 0,652
C ₄ : C ₃	705	0,980	++	y = 0,909 x - 0,0564
C ₂ : C ₃	705	0,743	++	y = 0,39 x + 0,781

Tab. 4. Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivität der Serum-Cholinesterasen in kU/l bei normalen Probanden und Patienten

	Substrat = Acetylthiocholinjodid				Substrat = Butyrylthiocholinjodid				Substrat = Propionylthiocholinjodid			
	n	\bar{x}	s	Signif.*)	n	\bar{x}	s	Signif.*)	n	\bar{x}	s	Signif.*)
Normalkollektiv	424	2,23	0,59		424	4,52	1,28		394	5,20	1,34	
akute Hepatitis	91	1,20	0,60	++	91	2,15	1,10	++	72	3,41	1,26	+
chron. agg. Hepatitis	24	0,95	0,51	++	24	1,74	0,66	++	20	3,17	1,32	++
Lebercirrhose	77	0,69	0,31	++	77	1,23	0,54	++	71	1,81	1,10	++
Fettleber	28	2,56	0,77	=	28	4,86	1,47	-	28	5,25	1,40	-
Cholestasen	20	1,91	0,65	-	20	3,43	1,08	-	15	4,96	1,35	-
Intoxikationen (Alkylphosphate)	25	0,29	0,19	++	25	0,50	0,30	++	16	0,29	0,18	++
Maligne Tumoren	82	1,75	0,61	++	82	3,64	1,14	++	73	4,63	1,45	+

*) - = keine statistisch gesicherte Signifikanz
 + = p ≤ 0,5
 ++ = p ≤ 0,1

Tab. 5. Korrelationen zwischen den Methoden der Aktivitätsbestimmungen der Cholinesterasen in den verschiedenen Untersuchungskollektiven.

Substrat = Acetylthiocholinjodid = C₂
 Substrat = Butyrylthiocholinjodid = C₄
 Substrat = Propionylthiocholinjodid = C₃

	n	r	C ₂ :C ₄	Signif.*)	n	r	C ₄ :C ₃	Signif.*)
Gesamtkollektiv	808	0,75	y = 0,41 x + 0,65	++	705	0,980	y = 0,909 x - 0,056	++
Normalkollektiv	424	0,585	y = 0,35 x + 0,79	++	394	0,970	y = 0,900 x - 0,054	++
akute Hepatitis	91	0,765	y = 0,34 x + 0,431	++	72	0,963	y = 0,904 x - 0,126	++
Lebercirrhose	77	0,931	y = 0,19 x + 0,014	++	71	0,751	y = 0,903 x - 0,061	++
Fettleber	28	0,673	y = 0,35 x + 0,853	+	28	0,863	y = 0,914 x - 0,083	++
Cholestasen	20	0,885	y = 0,53 x + 0,60	++	15	0,915	y = 0,924 x - 0,054	++
Intoxikationen	25	0,930	y = 0,55 x + 0,30	++	16	0,985	y = 0,963 x - 0,061	++
maligne Tumoren	83	0,668	y = 0,66 x + 0,735	++	73	0,924	y = 0,951 x - 0,091	++

*) s. Tab. 4

Tab. 6. Korrelationen zwischen der Aktivitätsbestimmung von Cholinesterase mit Butyrylthiocholinjodid und gerinnungsphysiologischen Untersuchungen.

1 = Thromboplastinzeit nach Quick (Behring-Werke)
 2 = Faktor II (Behring-Werke)
 3 = Faktor V (Behring-Werke)

	N	r		Signif.*)	
Akute Hepatitis	91	1	0,776	y = 0,10 x + 0,51	++
	91	2	0,785	y = 0,10 x + 0,44	++
	91	3	0,793	y = 0,11 x + 0,42	++
Chronische Hepatitis	24	1	0,673	y = 0,35 x + 0,85	++
	24	2	0,665	y = 0,36 x + 0,71	++
	24	3	0,680	y = 0,41 x + 0,77	++
Lebercirrhose	77	1	0,780	y = 0,23 x + 0,311	++
	77	2	0,793	y = 0,24 x + 0,22	++
	77	3	0,834	y = 0,22 x + 0,24	++

*) s. Tab. 4

zwischen 5–10 mmol/l, für Propionylthiocholinjodid zwischen 20 und 30 mmol/l. Eine unterschiedliche Hydrolyserate zwischen beiden Substraten in den Patientengruppen konnte nicht beobachtet werden (Abb. 1).

Die Verlaufskontrollen bei Patienten mit endogenem und exogenem Leberkoma zeigen ein paralleles Verhalten der Serumcholinesteraseaktivität gemessen mit den drei verschiedenen Substraten (Tab. 7).

Tab. 7. Mittelwerte und einfache Standardabweichung der Serum-Cholinesterasen (kU/l) Verlaufskontrollen bei Patienten mit endogenem Lebererfallskoma und exogenem Leberausfallskoma

Methode A: Substrat = Acetylthiocholinjodid
 Methode B: Substrat = Butyrylthiocholinjodid
 Methode C: Substrat = Propionylthiocholinjodid

Krankheitsgruppe	Thiocholinjodide	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	6. Tag
endogenes Lebererfallskoma (n = 8)	Acetyl-	1,30 ± 1,1	1,20 ± 1,04	1,15 ± 0,94	0,95 ± 0,43	0,20 ± 0,15
	Butyryl-	2,40 ± 1,93	1,95 ± 1,73	2,04 ± 1,64	1,40 ± 0,86	0,40 ± 0,31
	Propionyl-	3,20 ± 1,47	2,41 ± 1,35	1,83 ± 0,94	1,25 ± 0,63	0,81 ± 0,60
exogenes Leberausfallskoma (n = 7)	Acetyl-	0,71 ± 0,42	0,65 ± 0,41	0,30 ± 0,24	0,31 ± 0,20	0,18 ± 0,11
	Butyryl-	1,52 ± 0,83	1,24 ± 0,70	0,86 ± 0,63	0,84 ± 0,44	0,35 ± 0,27
	Propionyl-	1,86 ± 1,05	1,45 ± 0,63	1,17 ± 0,59	0,93 ± 0,56	0,95 ± 0,63

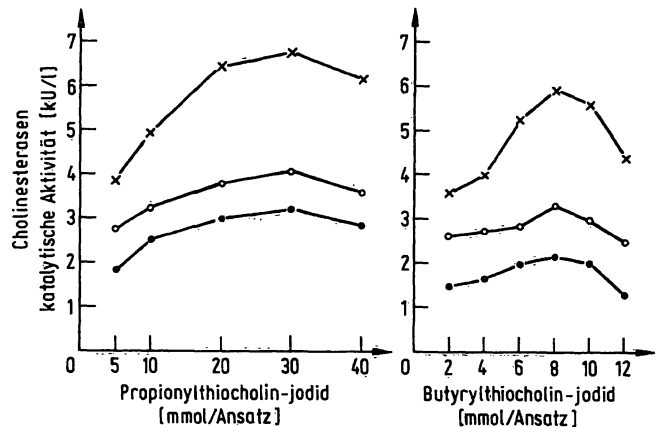


Abb. 1. Abhängigkeit der Enzymaktivität der Serum-Cholinesterasen (x) von der Konzentration der Substrate Butyrylthiocholin- und Propionylthiocholinjodid im Ansatz

x---x Normalpersonen
 o---o akute Hepatitis
 •---• Lebercirrhose

Diskussion

Die diagnostische Bedeutung der Serumcholinesterasen ist wegen ihrer großen physiologischen Schwankungsbreite zum Teil noch umstritten. Allein bei Intoxikationen mit Alkylphosphaten ist der Wert der Messung

der Enzymaktivitäten anerkannt (6, 7, 8). Die meisten Beobachtungen liegen bei akuten und chronischen Lebererkrankungen vor (9–15). Dabei finden sich, wie in unseren Untersuchungen, Verminderungen der Serumaktivität, die in etwa der Schwere des Krankheitsverlaufes entsprechen. Bei Lebercirrhose wird außerdem eine gute Übereinstimmung zwischen Serumcholinesterasen und dem Albuminspiegel beschrieben (16). Dieser Befund entspricht der in dieser Arbeit gefundenen Korrelation zwischen hepatisch gebildeten Gerinnungsfaktoren und der Enzymaktivität im Serum bei Leberkranken. Die Bedeutung der Serumcholinesterasen liegt demnach in der Beurteilung der Syntheseleistung der Leber. So sind auch die Untersuchungen über eine Aktivitätsminderung der Serumcholinesterasen bei Mangelernährung (17, 18), chronischen Entzündungen und malignen Tumoren (19) zu interpretieren.

Die in der Literatur angeführten Ergebnisse wurden praktisch nur mit den Substraten Acetyl- und Butyrylthiocholinjodid erhoben, wobei zwischen beiden Verbindungen wie in den eigenen Untersuchungen keine differentialdiagnostischen Unterschiede beobachtbar sind. Das Substrat Propionylthiocholinjodid wurde

bisher vorwiegend zur Bestimmung genetischer Varianten der Serumcholinesterasen eingesetzt (20, 21). Lediglich Kekwick (22) benutzte Propionylthiocholin als Substrat für die Enzymaktivitätsbestimmungen bei Leberinsuffizienz. Dabei konnte beobachtet werden, daß bei chronischer Leberinsuffizienz das Substrat Propionylcholin, bei akuter Leberinsuffizienz vorwiegend das Butyrylcholin eine höhere Hydrolyserate aufweisen. Das ließ vermuten, daß die Serumcholinesterasen sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ bei Lebererkrankungen ändern. So ergäbe sich ein Hinweis für das Vorliegen mehrerer Enzyme, deren Synthese bei verschiedenen Lebererkrankungen unterschiedlich eingeschränkt ist. In eigenen Untersuchungen waren die Hydrolyseraten in beiden Krankheitsgruppen gleichsinnig verändert. Die Aktivität der Serumcholinesterasen nahm unabhängig von dem verwendeten Substrat bei akuter Hepatitis und Lebercirrhose, ebenso wie in endogenem und exogenem Leberkoma parallel ab.

Für die diagnostische Bewertung der Serumcholinesterasen erscheint es demnach in den hier untersuchten Krankheitsgruppen ohne Bedeutung, ob das Substrat Acetyl-, Butyryl- oder Propionylthiocholinjodid eingesetzt wird.

Literatur

1. Pilz, W. (1966), Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 345, 80–86.
2. La Motta, R. V., Mc Comb, R. B., Noll, C. R., Wetstone, H. J. & Reinfrank, R. R. (1968), Arch. Biochem. Biophys. 124, 299–306.
3. La Motta, R. V. & Woronick, Ch. L. (1971), Clin. Chem. 17, 135–144.
4. Szász, G. (1968), Clin. Chim. Acta 19, 191–204.
5. Szász, G. (1968), Clin. Chem. 14, 646–659.
6. O'Brien, R. D. (1960), Phosphoric Inhibitors, Acad. Press New York.
7. Klimmer, O. R. (1971), Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Verlag Hundt, Hattingen/Ruhr.
8. Awad, O. (1972), Arzneim.-Forsch. 22, 1926–1927.
9. Goll, K. H. (1962), Deut. Gesundheitsw. 17, 950–955.
10. Weidmann, H. (1963), Med. Klinik 58, 1795–1798.
11. Weber, H. (1966), Deut. Med. Wochenschr. 91, 1927–1932.
12. Doenicke, A. (1967), in Pseudocholesterasen (Goedde, H. W., Doenicke, A., Altland, K., Hrsg.), Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York.
13. Fintelmann, V. & Lindner, H. (1970), Deut. Med. Wochenschr. 95, 469–470.
14. Knedel, M. & Böttger, R. (1967), Klin. Wochenschr. 45, 325–327.
15. Wiessmann, U. (1967), Schweiz. Med. Wochenschr. 97, 422–424.
16. Stefanelli, N. (1961), Klin. Wochenschr. 39, 1019–1022.
17. Begum, A. & Prathapkuman, J. (1969), Clin. Chim. Acta 26, 343–349.
18. Barclay, G. P. T. & Rath, M. R. (1971), Amer. J. Clin. Pathol. 59, 712–716.
19. Mustea, L. (1969), Clin. Chim. Acta 24, 453–456.
20. Garry, P. J. (1971), Clin. Chem. 17, 183–191.
21. Dietz, A. A., Rubinstein, H. M., Lubrano, T. & Garry, P. J. (1973), Clin. Chem. 19, 1309–1313.
22. Kekwick, R. G. O. (1960), Biochem. J. 76, 420–424.

Prof. Dr. W. Prellwitz
65 Mainz,
Langenbeckstraße 1
Zentrallabor der Med. Kliniken