Renale Ausscheidungsbedingungen von Kupfer beim Menschen

Untersuchungen über den Stoffwechsel von Spurenelementen, VI. Mitteilung

Von D. P. MERTZ, G. WILK und R. KOSCHNICK

Medizinische Poliklinik der Universität Freiburg i. Br. und Chemisches Untersuchungsamt der Stadt Stuttgart

(Eingegangen am 3. Juli 1972)

An erwachsenen Personen beiderlei Geschlechts mit normaler oder unterschiedlich eingeschränkter Nierenfunktion werden die renalen Ausscheidungsverhältnisse von Cu bei verschiedenen Diuresezuständen geprüft. Die Bestimmung von Cu erfolgt mittels Emissions-spektralanalyse. Im antidiuretischen Zustand werden von nierengesunden und nierenkranken, aber nicht niereninsuffizienten Personen bei einem Harnminutenvolumen (mit Standardabweichung) von $1,08 \pm 0,69$ ml/min im Mittel $0,1410 \pm 0,1474$ μ g Cu/min, bezogen auf $1,73$ m² Körperoberfläche, ausgeschieden. Dabei beträgt die renale Clearance von Cu durchschnittlich $0,123 \pm 0,117$ ml/min und $1,73$ m² Körperoberfläche. Während Antidiurese nimmt die Cu-Ausscheidung hochsignifikant mit dem Harnzeitvolumen zu. Bei indifferentem Harnfluß von $4,80 \pm 2,21$ ml/min ergibt sich für die Cu-Ausscheidung ein Mittelwert von $0,534 \pm 0,237$ μ g/min. Eine Abhängigkeit vom Harnfluß besteht nicht. Wesentlich stärker nimmt die Cu-Ausscheidung während osmotischer Diurese mit hypertonem Mannit-lösung zu. Sie beträgt bei einem mittleren Harnfluß von $22,7 \pm 7,2$ ml/min $2,196 \pm 1,468$ μ g/min. Die korrespondierende Cu-Clearance beläuft sich auf $2,19 \pm 1,59$ ml/min, jeweils bezogen auf $1,73$ m² Körperoberfläche. Der Anstieg der Cu-Ausscheidung mit wachsender osmotischer Diurese zeigt nur geringe Signifikanz. Ähnlich hohe Ausscheidungswerte ergeben sich während Wasserdiurese. Die Mittel-wertsdifferenzen der Kupferausscheidung und der Harnminutenvolumina sind zwischen Antidiurese und indifferentem Harnfluß, zwischen Antidiurese und osmotischer Diurese sowie zwischen indifferentem Harnfluß und osmotischer Diurese hochsignifikant. Die große Vari- abilität der Cu-Ausscheidung innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen kann nicht auf den unterschiedlichen Funktionszustand der Nieren zurückgeführt werden. Bis zu einer Einschränkung der Inulin-Clearance auf Werte von weniger als 30 ml/min und einer Herabsetzung der PAH-Clearance auf Werte von weniger als 200 ml/min verhält sich die renale Cu-Ausscheidung weitgehend unabhängig von den nierenhämodynamischen Meßgrößen. Die vom Harnfluß abhängige Steigerung der Cu-Ausscheidung ist therapeutisch irrelevant.

The renal excretion of copper in humans. Studies on the metabolism of trace elements VI

The excretion of copper was determined for different diuretic states in adult men and women with normal and variously impaired kidney function. Copper was measured by emission spectral analysis. During antidiuresis, in healthy persons and those with kidney disease, but excluding those with renal failure, the average excretion of copper was 0.1410 ± 0.1474 μ g Cu/min for a body surface area of 1.73 m², with a urine flow ($\pm$ standard deviation) of 1.08 ± 0.69 ml/min. The renal clearance of Cu was 0.123 ± 0.117 ml/min for a body surface area of 1.73 m². During antidiuresis, the Cu excretion increases highly significantly with the rate of urine production. At an indifferent urine flow of 4.80 ± 2.21 ml/min, the average rate of Cu excretion is 0.534 ± 0.237 μ g/min and it shows no dependence on the urine flow. Cu excretion is greatly increased during osmotic diuresis with hypertonic mannitol solution and it amounts to 2.196 ± 1.468 μ g/min at an average urine flow of 22.7 ± 7.2 ml/min. Under these conditions the Cu clearance is 2.19 ± 1.59 ml/min for a body surface area of 1.73 m². The increase of Cu excretion with increasing osmotic diuresis shows only a low significance. Similarly increased excretion values are observed during water diuresis. The mean differences of copper excretion and urine flow rate are highly significant between anti-diuresis and indifferent urine flow, between antidiuresis and osmotic diuresis, and between indifferent urine flow and osmotic diuresis. The wide variability of Cu excretion within individual experimental groups cannot be correlated with the different functional states of the kidney. When inulin clearance is reduced below 30 ml/min and the PAH clearance is less than 200 ml/min, the Cu excretion remains largely independent of the haemodynamic values. The increase of Cu excretion with urine flow is therapeutically irrelevant.

Soweit bekannt, ist Kupfer als Bioelement für alle Lebewesen notwendig. Der Gesamtbestand an Kupfer im Organismus beträgt 100—150 mg (1, 2). Der Serum-Spiegel wird mit 1,08 mg/l angegeben. Die physio-logische Schwankungsbreite reicht von 0,92—1,23 mg/l. Mit Hilfe der Neutronenaktivierungsanalyse wurden niedrigere Mittelwerte mit Standardabweichungen für die Serum-Konzentration von Kupfer ermittelt (in μ g/l): $8,2 \pm 1,5$ für Männer, $9,8 \pm 1,1$ für Frauen, $8,9 \pm 1,3$ für gemischte Geschlechter (3). Allgemein ist die Kupferkonzentration im Plasma bei Frauen höher als bei Männern (4). Chemische Bestimmungsmethoden ergeben höhere Plasma-Kupferwerte (5), wobei Tages-schwankungen beobachtet wurden (6). In normalen menschlichen Geweben wurden mittels der Neutronen-aktivierungsanalyse folgende Kupferkonzentrationen

in μ g/g Feuchtgewicht gefunden (7): Leber $6,9 \pm 1,7$, Milz $0,84$ — $1,07$, Niere $2,45$, Pankreas $0,80$. Bei Säug-lingen ist die Kupferkonzentration der meisten Gewebe signifikant gegenüber den bei Erwachsenen gefundenen Werten erhöht, besonders in der Leber (9,5—58). Der Erythrocyt enthält durchschnittlich $1,59$ ag Kupfer, wobei zwischen dem mittleren Zellvolumen und dem Gehalt jeder Zelle an Ca, Mg, Cu oder Zn keine Korre-lation besteht. Durch Anwendung von Na-EDTA wird zwar der Ca-Gehalt, aber nicht derjenige von Na, K, Mg, Cu oder Zn beeinflusst. Im Kopfhaut beträgt die Kupferkonzentration bei Männern $11,7 \pm 2,6$ und bei Frauen $15,4 \pm 4,0$ μ g/g (9).

Die tägliche Kupferaufnahme beim Erwachsenen liegt bei 2—5 mg (10). Beim Kind wird der Bedarf höher eingeschätzt (50—100 μ g/kg Körpergewicht). Bei der

Resorption der Kupferionen, die wahrscheinlich im oberen Teil des Dünndarms stattfindet, spielt die Magensäure eine Rolle. Sie ist für die Umwandlung des in der Nahrung gefundenen Kupfers in die ionisierte Form erforderlich (11).

Nach intravenöser Gabe von Radio-Kupfer finden sich bei der Ratte relativ schnell maximale Kupferkonzentrationen in den Ausscheidungsorganen Leber, Niere und Gastrointestinaltrakt, die dann ihre Radioaktivität langsam verlieren (12). Quantitativ ist die intestinale Resorption von Kupfer auf dem lymphatischen Wege unbedeutend (13).

Kupfer ist in allen Körpergeweben vorhanden und wird dort Teil einer Anzahl bekannter Verbindungen (14) einschließlich Erythrocytprotein, Cerebrocytprotein, Hepatocytprotein und der Enzyme Tyrosinase und Caeruloplasmin. Obgleich Caeruloplasmin eine Oxidase ist (15), scheint diese Verbindung der Kupferspender für die Organe zu sein. Kupfer ist im menschlichen Blutplasma zu über 90% an Caeruloplasmin (16) und zu etwa 7% an Albumin gebunden (17). Eine dritte, an Aminosäuren gebundene kleine Kupferfraktion ist allem Anschein nach in den Kupfertransport zwischen Blut und Geweben eingeschaltet (18, 19). Während die an Caeruloplasmin gebundene Kupferfraktion in vitro nicht im Gleichgewicht mit ionisiertem Kupfer steht und in vivo nicht austauschbar ist (20), wird das an Albumin gebundene Kupfer als rascheste Transportform im Plasma angesehen (21). Es ist wahrscheinlich, daß die kleine dritte an Aminosäuren gebundene Kupferfraktion mit dem größeren an Albumin gebundenen Pool im selben Verteilungsraum wiederum in einem Gleichgewicht steht. Wegen ihrer kleinen Molekülgröße scheinen Aminosäuren, die zur Kupferbindung im Wettbewerb mit Albumin fähig sind, den Kupfertransport durch Membranen zu vermitteln, wobei der Hauptanteil von Kupfer im Plasma und intrazellulären Raum proteingebunden ist.

Die tägliche renale Kupferausscheidung wird auf 10,5–48 µg, die gesamte Ausscheidung über den Darm auf 2 mg veranschlagt (22). Es ist erstaunlich, daß bei einem so wichtigen Spurenelement wie Kupfer praktisch nichts über das Verhalten der renalen Eliminierung in Abhängigkeit vom Harnfluß oder von nierenhämodynamischen Meßgrößen bekannt ist. Wir berichten hier über das Ergebnis diesbezüglicher eigener Untersuchungen.

Methodik

Untersuchungsgut

Die Untersuchungen fanden insgesamt bei 34 Männern und 10 Frauen im Alter zwischen 14 und 61 Jahren statt. Die Nierenfunktion der Probanden war entweder normal oder in unterschiedlichem Grade eingeschränkt. Bei 12 Personen fand sich keine Störung der Herz-, Leber-, Nieren-, Kreislauf- und endokrinen Funktionen. Ein Patient hatte eine akute Glomerulonephritis. Bei 15 Patienten bestand eine chronische Glomerulonephritis, bei 8 weiteren Kranken eine chronisch rezidivierende Pyelonephritis. In 7 Fällen stellten wir eine essentielle Hyper-

tension und bei einem Kranken ein nephrotisches Syndrom bei Plasmocytom fest.

Versuchsverfahren

Die Versuche fanden unter denselben Bedingungen und unter Anwendung derselben analytischen Methoden statt wie die vorausgegangenen Studien über die renale Ausscheidung von Eisen (23), Kobalt (24), Nickel (25) und Cadmium (26). Serienmäßig wurden bei jeder Versuchsperson im Nüchternzustand die Clearance- und Ausscheidungswerte von Inulin, *p*-Aminohippursäure (PAH) und von Kupfer in verschiedenen langen Perioden bestimmt. Der Urin wurde durch Einführen eines Einmal-Plastik-Katheters in die Blase gewonnen und in spurenelementfreien Plastikgefäßen aufgefangen. Inulin bestimmten wir nach ROE et al. (27), PAH nach der von CZOK et al. (28) angegebenen Methode, Kupfer nach dem von uns früher mitgeteilten emissionspektrographischen Verfahren (29).

Versuche bei indifferentem Harnfluß

Diese Untersuchungen fanden an 11 Männern und 9 Frauen im Alter zwischen 14 und 61 Jahren statt. Von den Probanden hatten je 6 eine chronische Glomerulonephritis bzw. eine chronisch rezidivierende Pyelonephritis. Vier Personen waren gesund. In zwei Fällen stellten wir eine essentielle Hypertension und in je einem Falle eine akute Glomerulonephritis bzw. ein nephrotisches Syndrom bei Plasmocytom fest. Alle Versuchspersonen tranken nach 12-stündigem Fasten 90 min vor Versuchsbeginn morgens innerhalb von 15–30 min 6–10 ml Flüssigkeit/kg Körpergewicht. Um die in der ersten Versuchsstunde auftretende Grunddiurese möglichst konstant zu halten, ließen wir im Bedarfsfall halbstündlich 1–3 ml Flüssigkeit/kg Körpergewicht nachtrinken. Die Clearance-Perioden dauerten stets 30 min.

Versuche während Oligurie und Hydropenie

Die Versuchsgruppe setzte sich aus 10 Männern im Alter zwischen 17 und 55 Jahren zusammen. Je 3 Patienten hatten eine chronische Glomerulonephritis bzw. eine essentielle Hypertension bzw. waren gesund. Bei einem Patienten bestand eine chronisch rezidivierende Pyelonephritis. Von 12 Uhr mittags am Vorversuchstage an wurde bei völligem Flüssigkeitsentzug eine Trockenkost verabfolgt. Vor Versuchsbeginn wurde 12 h gefastet. Am Abend des Vortages injizierten wir allen Patienten eine Ampulle Depot-Pitressin (in ölgiger Lösung) mit 5 IE antidiuretischem Hormon. Die Versuchsperioden dauerten jeweils 60 min.

Versuche während osmotischer Diurese mit hypertoner Mannit-Lösung

Ebenfalls bei 10 Männern, und zwar bei 3 gesunden Personen, 4 Patienten mit chronischer Glomerulonephritis, 2 Patienten mit essentieller Hypertension und einem Patienten mit chronisch rezidivierender Pyelonephritis erzeugten wir durch intravenöse Infusion von 5–25 ml/min einer 12proz. Mannitlösung eine osmotische Diurese. 30–45 min nach dem Start der Infusion begannen fortlaufende Perioden von 20 min Dauer.

Versuche bei Wasserdiurese

Bei einer Frau und 3 Männern im Alter zwischen 14 und 51 Jahren, von denen 2 gesund und 2 an einer chronischen Glomerulonephritis erkrankt waren, induzierten wir eine Wasserdiurese, indem wir am Morgen des Versuchstages zunächst 15–30 ml/kg Körpergewicht Flüssigkeit trinken ließen und anschließend während der gesamten Versuchszeit in Abständen von 30 min je 3–7 ml Flüssigkeit/kg Körpergewicht zusätzlich anboten. Alle Probanden erhielten 3–4 Tage vor der Untersuchung eine standardisierte Diät. Die tägliche Zufuhr von Natrium belief sich auf 40–70 mVal, diejenige von hochwertigem Protein auf 0,5 bis 1,0 g/kg Körpergewicht. Die Kost war vitaminreich und kalorisch ausreichend. Die Kaliumzufuhr wurde nicht beschränkt. Clearance-Werte und Ausscheidungsraten für Cu sind auf 1,73 m² Körperoberfläche bezogen. — Die statistische Auswertung der Meßreihen erfolgte nach der t-Verteilung (STUDENT).

Ergebnisse

Für die Kupferausscheidung bei indifferentem Harnfluß von $4,80 \pm 2,21$ ml/min ergibt sich ein Mittelwert mit Standardabweichung von $0,534 \pm 0,237$ µg/min, bezogen auf $1,73$ m² Körperoberfläche. Wie Abbildung 1 zu entnehmen ist, führt dabei eine Zunahme des Harnminutenvolumens zu keinem signifikanten Anstieg der renalen Kupferausscheidung ($p > 0,05$).

Bei Antidiurese mit einem mittleren Harnminutenvolumen von $1,08 \pm 0,69$ (Standardabweichung) ml/min sinkt die Kupferausscheidung im Mittel auf $0,1410$ µg/min und $1,73$ m² Körperoberfläche ab. Die Standardabweichung beträgt $0,1474$ µg/min. Eine Zunahme des Harnminutenvolumens ist im antidiuretischen Zustand mit einem hochsignifikanten Anstieg ($p < 0,001$) der renalen Kupferausscheidung verbunden (vgl. Abb. 1). Der korrespondierende Mittelwert der renalen Clearance von Kupfer beträgt $0,123 \pm 0,117$ ml/min, bezogen auf $1,73$ m² Körperoberfläche.

Während osmotischer Diurese, bei der sich das mittlere Harnminutenvolumen auf $22,7 \pm 7,2$ ml/min beläuft, steigt der Mittelwert (mit Standardabweichung) der renalen Kupferausscheidung auf $2,196 \pm 1,486$ µg/min und $1,73$ m² Körperoberfläche an. Hierbei weist der Anstieg der Kupferausscheidung mit zunehmendem Harnminutenvolumen nur eine geringe Signifikanz auf ($p < 0,05$), wie Abbildung 1 zeigt. Während osmotischer Diurese maßen wir für die Clearance von Kupfer einen Mittelwert von $2,19 \pm 1,59$ ml/min.

Nach Abbildung 1 ist die Kupferausscheidung während Wasserdiurese auf ein vergleichbares Niveau wie bei osmotischer Diurese erhöht.

Die Mittelwertsdifferenzen der Kupferausscheidung und der Harnminutenvolumina sind zwischen Antidiurese und indifferentem Harnfluß, zwischen Antidiurese und osmotischer Diurese sowie zwischen indifferentem

Abb. 1

Regressionsgeraden zwischen Harnfluß und renaler Kupferausscheidung bei verschiedenen Diuresezuständen, bezogen auf die Körperoberfläche

$$\begin{aligned}
 &\blacktriangle - \blacktriangle \text{ osmotische Diurese (n = 10)} \\
 &\quad y = 2,196 + 0,0769 (x - 22,67); r = 0,72; p < 0,05 \\
 &\square - \square \text{ Wasserdiurese (n = 4)} \\
 &\circ - \circ \text{ indifferentem Harnfluß (n = 20)} \\
 &\quad y = 0,534 + 0,0315 (x - 4,80); r = +0,29; p > 0,05 \\
 &\triangle - \triangle \text{ Antidiurese (n = 10)} \\
 &\quad y = 0,141 + 0,194 (x - 1,078); r = +0,91; p < 0,001 \\
 &\quad + = \text{jeweils } (\bar{x}/\bar{y})
 \end{aligned}$$

Abb. 2

Renale Clearance von Kupfer im Vergleich zu den korrespondierenden Clearancewerten von Inulin und p-Aminohippursäure (PAH) bei Antidiurese (O) und indifferentem Harnfluß (●), bezogen auf Körperoberfläche

Harnfluß und osmotischer Diurese hochsignifikant (p jeweils $< 0,001$).

Zwischen den korrespondierenden Werten der Inulin- und PAH-Clearance einerseits und der Clearance oder Ausscheidung von Kupfer andererseits läßt sich keine Beziehung nachweisen. Nach Abbildungen 2 und 3 sind die renale Clearance und die renale Ausscheidung von Kupfer bei nierensuffizienten Personen weitgehend unabhängig vom Verhalten der nierenhämodynamischen Meßgrößen. Diese Feststellung trifft für die Einschränkung der Inulin-Clearance bis auf Werte von weniger als 30 ml/min und eine Herabsetzung der PAH-Clearance auf Werte von weniger als 200 ml/min zu. Infolgedessen kann die große Schwankungsbreite der Kupferausscheidung nicht auf den unterschiedlichen Funktionszustand der Nieren zurückgeführt werden.

Angesichts des inhomogenen Patientengutes haben wir auf die Bestimmung eines Mittelwertes der Serum-Kupferkonzentration verzichtet. Im einzelnen erhoben wir folgende Grenzwerte in mg/l Serum: Bei der Versuchsgruppe mit indifferentem Harnfluß 0,75 und 2,90, bei der Patientengruppe mit Antidiurese 0,70 und 1,43, bei der Patientengruppe mit osmotischer Diurese 0,80 und 1,24 sowie bei der Versuchsgruppe mit Wasserdiurese 0,86 und 1,41.

Abb. 3

Renale Ausscheidung von Kupfer im Vergleich zu den korrespondierenden Clearancewerten von Inulin und *p*-Aminohippursäure (PAH) bei Antidiurese (○) und indifferentem Harnfluß (●), bezogen auf Körperoberfläche

Diskussion

Üblicherweise befindet sich der menschliche Organismus in einem quasi-antidiuretischen Zustand (30). Danach hätte die mittlere tägliche Kupferausscheidung etwa 203 µg betragen. Durch Steigerung des Harnflusses gelingt es zwar, die Kupferausscheidung um eine Zehnerpotenz zu steigern, maximal auf etwa das Zwanzigfache des bei Antidiurese ermittelten Durchschnitts. Kupfer wird jedoch fast ausschließlich enteral eliminiert, so daß die mögliche Ausscheidungssteigerung über die Nieren weder im Sinne einer Vorsorge vor Kupfermangelerscheinungen noch im Sinne einer Behandlung bei Kupferintoxikation eine Rolle spielt. Hauptsächlich wird Kupfer über die Galle ausgeschieden. Aber selbst dann, wenn man künstlich eine Gallenfistel und eine Duodenostomie unterhalb der Einmündung von Gallen- und Pankreasgang anlegt, hört die Kupferausscheidung nicht auf. Es muß danach eine Ausscheidung über die Darmschleimheit zusätzlich stattfinden (11).

Die beim nephrotischen Syndrom beobachtete Erniedrigung des Gesamtkupfers hat ihre Ursache im renalen Verlust von Caeruloplasmin. Dem Organismus können auf diese Weise täglich 45–75 mg Caeruloplasmin verlorengehen, und der renale Kupferverlust kann bis zu 600 µg täglich betragen (31). In der Tat bot unser Patient mit nephrotischem Syndrom bei Plasmocytom die höchste Kupferausscheidung aller bei indifferentem Harnfluß untersuchten Patienten, nämlich 0,973 µg/min bei einer Serum-Kupferkonzentration von 0,75 mg/l. Eine gesteigerte renale Kupferausscheidung (bis zu 700 µg täglich) wird bei Morbus WILSON beobachtet. Durch eine Fermenthemmung bewirkt Kupfer im Nierentubulus eine Aminoacidurie (32). Die Serum-Kupferkonzentration ist signifikant erniedrigt bei Morbus WILSON und erhöht bei Lymphogranulomatose, verschiedenen subakuten und chronischen Entzündungen und Infekten durch eine Zunahme der Caeruloplasminkonzentration (33). Bei primär chronischer Polyarthrit ist die Konzentration von nicht an Caeruloplasmin gebundenem Kupfer im Serum erhöht (34). Erhöhte Kupferwerte finden sich auch während Schwangerschaft und während der Einnahme oraler Antikonzeptiva (36) durch Zunahme der Caeruloplasminkonzentration im Serum. Bei Patienten mit Morbus WILSON führt Zufuhr von Östrogen zwar gelegentlich zu einer Erhöhung der Serum-Konzentration von Kupfer und/oder Caeruloplasmin und zu einer Cupruriose, aber zu keiner Besserung des Zustandsbildes. Im allgemeinen können Cupruriose und klinische Verschlechterung mit einer Zunahme der nicht an Caeruloplasmin gebundenen Fraktion von Serum-Kupfer korreliert werden (37). Die genaue Natur des Defektes im Kupfertransport bei Morbus WILSON ist ungeklärt. Möglicherweise ist die Kupferaufnahme durch hepatische Lysosomen für die toxischen Wirkungen des Metalls verantwortlich zu machen (38). Bei Morbus WILSON finden sich Kupferablagerungen in Leber, Niere, Basalganglien des Gehirns und der Cornea sowie in der Muskulatur (39). Bei Kupferüberschuß ist der Sauerstoffverbrauch des Nervengewebes gesteigert, wodurch morphologische und funktionelle Störungen im Gehirn auftreten können (40). Auch Mangelerscheinungen von Kupfer führen zu Störungen in der Funktion des zentralen Nervensystems neben solchen im Pigmentstoffwechsel. Kupfer dient bei verschiedenen Enzymen (Cytochromoxidase, Fett-acyl-Coenzym A-Dehydrogenase) als Katalysator. Schließlich ist zu bemerken, daß die pharmakologische Wirkung verschiedener Arzneimittel (beispielsweise *p*-Aminosalicylsäure, blutzuckersenkende Biguanide) von deren Fähigkeit zur Komplexbildung mit zweiwertigem Kupfer abhängig ist (41).

Literatur

1. SCHROEDER, H. A. (1956), *Adv. Int. Med.* 8, 259—269. —
2. SCHOEN, R. & SÜDHOF, H. (1965), *Biochemische Befunde in der Differentialdiagnose innerer Krankheiten*, 2. Aufl., S. 105 Georg Thieme Verlag, Stuttgart. —
3. PARR, R. M. & TAYLOR, D. M. (1964), *Biochem. J.* 91, 424—431. —
4. LAHEY, M. E., GUBLER, C. J., CARTWRIGHT, G. E. & WINTROBE, M. M. (1953), *J. Clin. Invest.* 32, 320—332. —
5. WELSHMAN, S. G. (1960), *Clin. Chim. Acta* 5, 497—500. —
6. RICE, E. W. (1962), *Amer. J. Med. Sci.* 243, 593—598. —
7. PARR, R. M. & TAYLOR, D. M. (1964), *Biochem. J.* 91, 424—431. —
8. VALBERG, L. S., HOLT, J. M., PAULSON, E. & SZIVEK, J. (1965), *J. Clin. Invest.* 44, 379—389. —
9. REINHOLD, J. G., KFOURY, G. A., GHALAMBOR, M. A. & BENNETT, J. C. (1966), *Amer. J. Clin. Nutr.* 18, 254—300. —
10. BERSIN, TH. (1964), *Biochemie der Mineral- und Spurenelemente*, 1. Aufl., S. 386—401, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. —
11. OWEN, C. A. jr. (1964), *Amer. J. Physiol.* 207, 446—498. —
12. OWEN, C. A. jr. (1965), *Amer. J. Physiol.* 209, 900—904. —
13. STERNLIEB, I., VAN DEN HAMER, C. J. A. & ALPERT, S. (1967), *Nature (London)* 216, 824. —
14. SCHEINBERG, I. H. (1961), in *Wilson's disease: Some current concepts* (Walshe, J. M. & Cumings, J. N., ed.) 1. Aufl., S. 4—17, Blackwell, Oxford. —
15. HOLMBERG, C. G. & LAURELL, C.-B. (1951), *Acta Chem. Scand.* 5, 475—480. —
16. HOLMBERG, C. G. & LAURELL, C.-B. (1948), *Acta Chem. Scand.* 2, 550—556. —
17. STERNLIEB, A., MORELL, A. G., TUCKER, W. D., GREENE, M. W. & SCHEINBERG, I. H. (1961), *J. Clin. Invest.* 40, 1834—1840. —
18. NEUMANN, P. Z. & SASS-KORTSAK, A. (1967), *J. Clin. Invest.* 46, 646—658. —
19. HARRIS, D. I. M. & SASS-KORTSAK, A. (1967), *J. Clin. Invest.* 46, 659—667. —
20. STERNLIEB, A., MORELL, A. G., TUCKER, W. D., GREENE, M. W. & SCHEINBERG, I. H. (1961), *J. Clin. Invest.* 40, 1834—1840. —
21. BEARN, A. G. & KUNKEL, H. G. (1954), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 85, 44—47. —
22. SCHOEN, R. & SÜDHOF, H. (1965), *Biochemische Befunde in der Differentialdiagnose innerer Krankheiten*, 2. Aufl., S. 105, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. —
23. MERTZ, D. P., KOSCHNICK, R. & WILK, G. (1969), *diese Z.* 7, 1—3. —
24. MERTZ, D. P., WILK, G. & KOSCHNICK, R. (1970), *diese Z.* 8, 30—32. —
25. MERTZ, D. P., KOSCHNICK, R. & WILK, G. (1970), *diese Z.* 8, 387—390. —
26. MERTZ, D. P., KOSCHNICK, R. & WILK, G. (1972), *diese Z.* 10, 21—24. —
27. ROE, J. H., EPSTEIN, J. H., GOLDSTEIN, N. P. (1949), *J. Biol. Chem.* 178, 839—842. —
28. CZOK, G., KREIENBERG, W. & MERTZ, D. P. (1952), *Klin. Wochenschr.* 30, 227—228. —
29. MERTZ, D. P., KOSCHNICK, R., WILK, G. & PFEILSTICKER, K. (1968), *diese Z.* 6, 171—174. —
30. MERTZ, D. P. (1962), *Die extracelluläre Flüssigkeit (Biochemie und Klinik)*, 1. Aufl., S. 41, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. —
31. CARTWRIGHT, G. E., GUBLER, C. J. & WINTROBE, M. M. (1954), *J. Clin. Invest.* 33, 685—691. —
32. SCHOEN, R. & SÜDHOF, H. (1965), *Biochemische Befunde in der Differentialdiagnose innerer Krankheiten*, 2. Aufl., S. 105, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. —
33. LAHEY, M. E., GUBLER, C. J., CARTWRIGHT, G. E. & WINTROBE, M. M. (1953), *J. Clin. Invest.* 32, 322—329 und 329—334. —
34. LORBER, A., CUTLER, L. S. & CHANG, C. C. (1968), *Arthritis Rheumat.* 11, 65—72. —
35. LAHEY, M. E., GUBLER, C. J., CARTWRIGHT, G. E. & WINTROBE, M. M. (1953), *J. Clin. Invest.* 32, 322—329, 329—334. —
36. SUNDERMAN, F. W. jr., NOMOTO, S., GILLIES, C. G. & GOLDBLATT, P. J. (1971), *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20, 588—598. —
37. GERMAN, J. L. III. & BEARN, A. G. (1961), *J. Clin. Invest.* 40, 445—453. —
38. SMALLWOOD, R. A., MCILVEEN, B., ROSENOER, V. M. & SHERLOCK, S. (1971), *Gut* 12, 139—144. —
39. LEU, M. L., STRICKLAND, G. T., BECKNER, W. M., CHEN, T. S. M., WANG, C. C. & YEH, S. J. (1970), *J. Lab. Clin. Med.* 76, 432—438. —
40. VOGEL, F. S. & EVANS, J. W. (1961), *J. Exp. Med.* 113, 997—1003. —
41. BERSIN, TH. (1963), *Biochemie der Mineral- und Spurenelemente*, 1. Aufl., S. 386—401, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M.

Prof. Dr. D. P. Mertz
Med. Univ.-Poliklinik
7800 Freiburg/Br.
Hermann-Herder-Str. 6