J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 21, 1983, pp. 429–436

α_2 -Makroglobulin in Serum und Plasma: Referenzwerte mit Carbobenzoxymal-arginin-*p*-nitroanilid, einem chromogenen Substrat¹⁾

Von I. Witt

Biochemisches Labor der Univ.-Kinderklinik, Freiburg i.Br. und

W. Tritschler

Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica Forschung, Mannheim

(Eingegangen am 30. September 1982/24. Januar 1983)

Zusammenfassung: α_2 -Makroglobulin lässt sich über die amidolytische Aktivität des α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplexes bestimmen. Mit einer konfektioniert erhältlichen Testpackung wurden in einem kontinuierlichen Verfahren bei 25 °C Referenzwerte ermittelt. Für ein Kollektiv von 235 Kindern und Erwachsenen im Alter von 1 Tag bis 61 Jahren ergaben sich altersabhängige Referenzbereiche. Um praktikable Werte zu erhalten, wurden bei Kindern die Referenzbereiche aus mehreren Altersstufen zu Richtwerten zusammengefaßt. Für Serum ergaben sich folgende Bereiche:

1 bis 10 Tage: 5–11 kU/l
11 Tage bis 18 Jahre: 8–16 kU/l

Für Jugendliche und Erwachsene wurden in Serum bzw. Citratplasma folgende Referenzwerte erhalten (5. bzw. 95. Perzentil):

19 bis 25 Jahre: 4,1–12,2 kU/l bzw. 4,0–11,2 kU/l
≥25 bis 61 Jahre: 4,1–8,1 kU/l bzw. 3,7–7,4 kU/l

Es besteht keine Geschlechtsabhängigkeit der katalytischen Konzentrationen, präprandiale und postprandiale Werte unterscheiden sich nicht, zwischen Rauchern und Nichtrauchern sowie Frauen mit und ohne hormonale Kontrazeption wurde kein Unterschied gefunden.

Berücksichtigt man bei der Berechnung der katalytischen Konzentrationen im Plasma die Verdünnung des Blutes mit Citratlösung, dann zeigt sich, daß in Plasma höhere Werte als in Serum gefunden werden (Median 11%). Mit der Messung der Konzentration des α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplexes in Plasma erhält man vermutlich ein realistischeres Bild der in vivo-Aktivität als bei Messung der Konzentration im Serum.

Der Vergleich gegenüber zwei immunologischen Methoden (radiale Immunodiffusion und kinetische Nephelometrie) zeigt, daß zwischen der katalytischen Konzentration des α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplexes und der immunologisch bestimmten Konzentration an α_2 -Makroglobulin ein linearer Zusammenhang besteht. Eine gegenseitige Umrechnung ist deshalb für den beschriebenen Konzentrationsbereich möglich.

α_2 -Macroglobulin in serum und plasma:

*Reference values using carbobenzoxy-mal-arginine-*p*-nitroanilide, a chromogenic substrate¹⁾*

Summary: α_2 -Macroglobulin can be determined using the amidolytic activity of the α_2 -macroglobulin-trypsin-complex. Reference values are reported using a commercially available kit for continuous assay at 25 °C.

¹⁾ Auszugsweise präsentiert am XI. Internationalen Kongreß für Klinische Chemie, Wien, 30. August – 5. September 1981 (1).

Reference ranges obtained in a population of 235 children and adults aged between 1 day and 61 years were found to be age-dependent. Reference ranges established for the different age groups of children were grouped together in order to obtain useful guide values. The following values were obtained for serum:

1 to 10 days: 5–11 kU/l
11 days to 18 years: 8–16 kU/l

The reference values (5th to 95th percentile) determined for juveniles and adults were as follows:

19 to 25 years: 4.1–12.2 kU/l (serum); 4.0–11.2 kU/l (citrate plasma)
≥25 to 61 years: 4.1–8.1 kU/l (serum); 3.7–7.4 kU/l (citrate plasma)

No variation according to sex was observed, nor was any difference noted between preprandial and postprandial catalytic concentrations, or between values in smokers and non-smokers or between values in the group of women taking hormonal contraceptives and the group not taking such drugs.

If the dilution of the blood sample with citrate solution is taken into account when calculating the catalytic concentrations in citrated plasma, the values in plasma are higher than those in serum (median 11%). Measurement of the α_2 -makroglobulin-trypsin complex in plasma is assumed to give a more realistic reflection of the in vivo activity than measurement in serum.

Comparison with two immunological methods (radial immunodiffusion and kinetic nephelometry) revealed that there is a linear relationship between the measurement of the catalytic concentration of the α_2 -makroglobulin-trypsin complex and the immunological concentration of α_2 -makroglobulin. Therefore mutual conversion is possible for the described concentration range.

Einführung

Die biologische Funktion des α_2 -Makroglobulins besteht in der Hemmung endoproteolytischer Enzyme. Aktive Proteinasen können im Plasma bei endogener Aktivierung des Gerinnungssystems, bei Gewebeerkrankungen und entzündlichen Prozessen auftreten. Die Hemmung der Proteinase durch α_2 -Makroglobulin kommt durch die Bildung irreversibler Komplexe zustande. α_2 -Makroglobulin bildet bevorzugt Komplexe mit Plasmin, Trypsin und Thrombin, aber auch mit einer Reihe weiterer Proteinase. Neben α_2 -Antiplasmin ist α_2 -Makroglobulin der wichtigste Plasmin-Inhibitor. Die α_2 -Makroglobulin-Enzym-Komplexe behalten gegenüber niedermolekularen Substraten enzymatische Aktivität. Verhindert wird die Bindung der Enzyme an ihre natürlichen Substrate.

Veränderungen der α_2 -Makroglobulin-Konzentration im Serum werden bei verschiedenen Erkrankungen beobachtet. Erhöhungen sind bei entzündlichen Prozessen, nephrotischem Syndrom, Diabetes mellitus, Lebererkrankungen oder Neoplasmen beschrieben. Erniedrigte Konzentrationen sind z.B. bei multiplem Myelom oder rheumatoider Arthritis bekannt (2). Die α_2 -Makroglobulin-Konzentration ist stark altersabhängig. Kinder haben höhere Werte als Erwachsene (3), bei Erwachsenen soll die Konzentration im Serum unabhängig vom Alter sein (3) oder mit zunehmendem Lebensalter ansteigen (4).

Ungeklärt ist auch, ob eine Geschlechtsabhängigkeit vorliegt (3, 4) oder nicht existiert (5). Frauen sollen nach hormonaler Kontrazeption mit Östrogen-Progestogen-Kombinationen erhöhte Konzentrationen an α_2 -Makroglobulin aufweisen (6); andererseits wurde gezeigt, daß sich bei Kurz- oder Langzeittherapie mit Östrogen die Werte im Serum nicht ändern (5).

Vor kurzem wurde eine amidolytische Methode zur Bestimmung von α_2 -Makroglobulin mit einem chromogenen Substrat auf dem Markt eingeführt. Wir haben in Serum und Plasma Referenzwerte ermittelt und sind der Frage nach den oben genannten Abhängigkeiten nachgegangen.

Mit immunologischen Methoden werden in Serum höhere Werte als in Plasma gefunden (7). Wir interessierten uns deshalb auch dafür, ob für die amidolytische Methode eine Abhängigkeit der Werte vom Probenmaterial besteht.

Für immunologische Methoden werden als Bezugssystem Standards verwendet, d.h. Richtigkeit und Vergleichbarkeit der Werte sind von der Qualität dieser Standards abhängig. Wir haben deshalb zwei immunologische Methoden mit der hier beschriebenen Standard-unabhängigen amidolytischen (chromogenen) Methode verglichen.

Material und Methoden

Testprinzip

Die von Ganrot (8) beschriebene Methode zur Bestimmung von α_2 -Makroglobulin im Serum über die amidolytische Aktivität des α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplexes wurde modifiziert, indem das wenig empfindliche Substrat N-Benzoyl-D,L-arginin-p-nitroanilid durch Carbobenzoxy-valyl-glycyl-arginin-p-nitroanilid (Chromozym® TRY) ersetzt wurde:

Probenvorbereitung

1 Teil Citratplasma oder Serum mit 20 Teilen NaCl (9 g/l) verdünnen.

Bestimmungsansatz (25 °C)

0,05 ml verdünnte Probe mit 2,00 ml Reaktionsgemisch aus 40 Teilen Lösung 1 und 1 Teil Lösung 2 1 min inkubieren (Lösung 1: 100 mmol/l Tris-Puffer, pH 8,0; 150 mmol/l NaCl, Konservierungsmittel Natriumazid; Lösung 2: 10 kU/l Trypsin). 0,10 ml Lösung 3 (25000 IU/l Aprotinin) zugeben und 2 min inkubieren. Nach Zugabe von 0,20 ml Lösung 4 (5 mmol/l Chromozym® TRY) 1 min inkubieren und Bildung von p-Nitroanilin bei 405 nm ($\epsilon = 970 \text{ m}^2/\text{mol}$, $d = 1 \text{ cm}$) 3 min kontinuierlich verfolgen.

Die katalytische Konzentration des α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplexes läßt sich in Einheiten pro 1 Serum oder Plasma ausdrücken (kU/l): Eine Einheit α_2 -Makroglobulin ist die Menge, welche eine Einheit Trypsin bindet. Eine Einheit α_2 -Makroglobulin-Trypsin-Komplex ist die Enzymaktivität, welche bei 25 °C 1 μmol Substrat in 1 min umsetzt.

Analytische Eigenschaften

Die Verdünnungsgrenze liegt bei einer Absorptionsdifferenz von $\Delta A/\text{min} = 0,1$; bei höheren Werten muß entsprechend vorverdünnt werden (z.B. 1 Teil Probe + 40 Teile 9 g/l NaCl-Lösung).

Einer Plasmaprobe zugesetztes reines α_2 -Makroglobulin wurde quantitativ wiedergefunden. Die Präzisionen in der Serie bzw. von Tag zu Tag sind $<3\%$. Erfolgt die Testdurchführung ohne Zugabe von Trypsin (Probenleerwert), dann werden für Plasma keine katalytischen Konzentrationen gemessen, d.h. in vivo liegen keine meßbaren α_2 -Makroglobulin-Protease-Komplexe vor. Durch Serum erfolgt eine geringfügige Spaltung des Substrates ($\Delta A/\text{min} \leq 0,003$), die für die Praxis ohne Belang ist.

Störungen der Bestimmung konnten nicht festgestellt werden (bis 0,2 mmol/l Hämoglobin, bis 85 $\mu\text{mol/l}$ Bilirubin, bis 2000 USP/l Heparin), lipämische Proben sind einsetzbar, wenn die Trübung der 1+20 verdünnten Probe kleiner als 0,9 Absorptionseinheiten (bei 546 nm) ist.

In der verdünnten oder unverdünnten Probe ist α_2 -Makroglobulin bei -20°C mindestens 1 Monat haltbar.

Reagenzien, Methoden, Geräte

α_2 -Makroglobulin, Farbtest (Best. Nr. 403768) sowie Testpakungen zur Bestimmung von L- γ -Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2), Harnstoff, Triglyceriden und Gesamtprotein entstammen dem Lieferprogramm von Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31. Zur Bestimmung von Aspartataminotransferase (EC 2.6.1.1) und Alaninaminotransferase (EC 2.6.1.2) wurden Packungen von E. Merck, D-6100 Darmstadt 2, eingesetzt.

Mit Natriumcitratlösung beschickte Probenröhrchen (0,5 ml, 0,11 mol/l, Gesamtvolumen 5 ml) wurden von der Fa. Sarstedt, D-5223 Rommelsdorf, bezogen (Best. Nr. 05268).

Kreatinin wurde mit der Jaffé-Reaktion kontinuierlich mit dem Kreatinin-Analyser von Beckman Instruments, D-8000 München 40, gemessen.

Die Proteinelektrophorese wurde als Mikrozonenelektrophorese auf Celluloseacetatfolie, Färbung mit Ponceau S und automatischer Auswertung mit Elscript III (Hirschmann, D-8000 München), durchgeführt.

Nach der Arbeitsanleitung wurde α_2 -Makroglobulin kontinuierlich bei 25 °C an einem Photometer Eppendorf 1101 M (Netheler & Hinz, D-2000 Hamburg) mit Thermostat, Wechsellautomatik und Schreiber bestimmt.

Für die Vergleichsuntersuchungen wurde α_2 -Makroglobulin immunologisch mit Hilfe der kinetischen Nephelometrie (Immunochemie System, Beckman Instruments, D-8000 München 40) bestimmt.

Die radiale Immunodiffusion wurde mit M-Partigen-Platten durchgeführt (Behring-Werke AG, D-3550 Marburg).

Probanden

Das Kollektiv der Kinder ($N = 115$) bestand aus Patienten der Kinderklinik der Universität Freiburg/Brsg. Die Blutabnahme erfolgte innerhalb der üblichen Untersuchungen bei der Klinikaufnahme. Patienten mit entzündlichen Erkrankungen und Erkrankungen der Leber, Niere sowie Diabetes mellitus wurden nicht in das Kollektiv einbezogen.

Das Ausgangskollektiv der Erwachsenen ($N = 120$) bestand aus Blutspendern der Blutbank der Universitätsklinik Freiburg/Brsg. Durch Anamnese wurden erfaßt: Alter, Geschlecht, Einnahme von Kontrazeptiva, prä- bzw. postprandialer Zustand, Rauchen. Schwangere sowie Probanden mit aktuellen Erkrankungen oder Medikamenten-Therapie sind im Ausgangskollektiv nicht enthalten. Zur Auswahl eines Referenzkollektivs wurden klinisch-chemische Kenngrößen eingesetzt, welche bei Leber-, Nieren- sowie entzündlichen Erkrankungen verändert sind.

Referenzwerte

Aspartataminotransferase: Männer bis 18 U/l, Frauen bis 15 U/l;

Alaninaminotransferase: Männer bis 22 U/l, Frauen bis 17 U/l;

L- γ -Glutamyltransferase: Männer 6–28 U/l, Frauen 4–18 U/l;

Harnstoff: 1,7–8,3 mmol/l;

Kreatinin: Männer 44–97 $\mu\text{mol/l}$, Frauen 44–80 $\mu\text{mol/l}$;

Albumin: 38–54 g/l;

α_1 -Globulin: 1–3 g/l;

α_2 -Globulin: 4–9 g/l;

β -Globulin: 5–11 g/l;

γ -Globulin: 6–16 g/l.

Probennahme und Qualitätssicherung

Die Blutabnahme erfolgte venös am Vormittag. Bei den Erwachsenen wurden nach Lösen der Stauung etwa 500 ml Blut (Blutkonserve) und danach Blut für Serum- und Plasmagewinnung entnommen. Citratplasma und Serum wurden durch 20 min Zentrifugation bei 2000 g erhalten. Die Proben wurden bei -20°C eingefroren und innerhalb von vier Wochen untersucht.

Die Präzision der Meßergebnisse von α_2 -Makroglobulin wurde mit den Humancitratplasmen PreciChrom® I und II (Charge 09001) sowie einem portioniert eingefrorenen laboreigenen Plas-

ma- und Serum-Pool überprüft. Die Wiederfindung wurde mit PreciChrom® I und II (Charge 1002) überprüft, indem an 10 Tagen jeweils Doppelbestimmungen in beiden Kontrollplasmen durchgeführt wurden.

Statistische Methoden und Berechnungen

Die Präzision in der Serie und von Serie zu Serie wurde mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse berechnet. Die Verteilung der Meßwerte wurde durch Angabe der Perzentile beschrieben. Zur Überprüfung eines geschlechtsspezifischen Unterschiedes sowie anderer Einflußgrößen auf die α_2 -Makroglobulin-Bestimmung (siehe Tab. 6) wurde der U-Test von Mann-Whitney eingesetzt (9). Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde $\alpha = 0,05$ festgelegt. Als statistische Verfahren beim Methodenvergleich wurde die standardisierte Hauptkomponentenmethode herangezogen und der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient berechnet (9, 10); (Abb. 3 und 4).

Berechnungen für Referenzwerte

α_2 -Makroglobulin in Serum und Citratplasma aus 9+1 verd. Blut:

$$\text{kU/l (25 °C)} = 101,5 \cdot \Delta A/\text{min} \quad \text{g/l (25 °C)} = 34,5 \cdot \Delta A/\text{min}$$

Der Faktor für die Angabe in g/l wurde nach Angaben des Herstellers durch Vergleich der chromogenen Methode mit der radiellen Immunodiffusion erhalten.

Berechnungen für Vergleichsuntersuchungen Plasma/Serum

Die jeweilige Verdünnung des Plasma-Anteils des Blutes bei Verwendung von Citratlösung als Antikoagulans hängt vom individuellen Hämatokrit (PCV) ab.

Damit gilt:

$$\alpha_2\text{-Makroglobulin in Plasma:} \\ \text{kU/l (25 °C)} = 101,5 \cdot \left[1 + \frac{1}{9(1 - \text{PCV})} \right] \cdot \Delta A/\text{min}$$

Ergebnisse und Diskussion

Qualitätssicherung

Tabelle 1 enthält die Ergebnisse der Qualitätssicherung von α_2 -Makroglobulin in Kontrollplasmen sowie eingefrorenen und einmal wiederaufgetauten Plasma- und Serumproben. Die Präzision in der Serie und von Serie zu Serie war sehr gut ($\bar{V}\bar{K}$: 0,7 bis 2,8%); die Wiederfindung des Sollwertes war während des Untersuchungszeitraumes gegeben.

Referenzwerte

Abbildung 1 zeigt die Häufigkeitsverteilung der α_2 -Makroglobulin-Werte in Abhängigkeit vom Lebensalter.

In den ersten Lebenstagen treten stark streuende und besonders bei Frühgeborenen niedrige Werte auf; danach werden zunehmend höhere Konzentrationen erhalten, wobei im Alter von ca. 3 Monaten ein Plateau erreicht wird, das sich etwa bis in das 10. Lebensjahr hält. Bis zum 25. Lebensjahr fallen danach die Konzentrationen, um dann bis zum 61. Lebensjahr annähernd konstant zu bleiben. Wir können damit die Ergebnisse von Ganrot & Scherstén (3) bestätigen, die nach ähnlichen Befunden dem α_2 -Makroglobulin wichtige Funktionen bei der Regulation des Wachstumsprozesses zuschreiben.

Abb. 1. α_2 -Makroglobulin in Serum (25 °C), Bestimmung als Trypsin-Komplex: Häufigkeitsverteilung der Konzentrationen im Ausgangskollektiv (N = 235) in Abhängigkeit vom Alter. Es sind die Meßwerte für 115 Kinder im Alter von 1 Tag bis 18 Jahren und 120 Erwachsene im Alter von 19 bis 61 Jahren dargestellt.

Altersklassen: 1.-3. Tag;
4.-10. Tag;
11. Tag-3. Monat;
>3 Monate-1 Jahr
▲ = Frühgeborene

Tab. 1. α_2 -Makroglobulin, Bestimmung als Trypsin-Komplex: Präzision in Kontrollplasmen, Nativplasma und Serum sowie Wiederfindung in Kontrollplasmen.

Untersuchungs- material	Median* [kU/l]	VK [%] Serie	Serie/ Serie	Kontrollplasma	Sollwert [kU/l] (Streu- bereich**)	Perzentile*** [kU/l] Min.	10%	50%	90%	Max.
PreciChrom® I	3,39	1,4	2,8	PreciChrom® I	4,14 (3,32–4,96)	3,66	3,68	3,82	3,91	3,98
PreciChrom® II	1,89	0,7	2,4	PreciChrom® II	2,28 (1,83–2,73)	2,01	2,10	2,15	2,26	2,33
Nativplasma	4,87	1,2	2,2							
Serum	9,82	0,9	2,0							

* 5 Tage mit jeweils 6 Bestimmungen (N = 30)

** Der Streubereich entspricht $\pm 20\%$ des vom Hersteller angegebenen Sollwertes

*** Die Werte geben das 10., 50. (Median), 90. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte für Doppelbestimmungen an 10 Tagen (N = 20) an.

Tab. 2. α_2 -Makroglobulin in Serum (25 °C): Verteilung der Werte im Ausgangskollektiv (N = 235).

Die Werte geben das 5., 50. (Median) und 95. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte von N Probanden in kU/l (in Klammern: g/l) an.

Alter	N	Minimum	5%	50%	95%	Maximum
1 bis 3 Tage	24*	4,0 (1,4)	4,5 (1,5)	7,1 (2,4)	10,6 (3,6)	11,1 (3,8)
4 bis 10 Tage	10	7,3 (2,5)	7,3 (2,5)	9,4 (3,2)	11,4 (3,9)	11,4 (3,9)
11 Tage bis 3 Monate	17	9,3 (3,2)	9,3 (3,2)	11,0 (3,7)	13,2 (4,5)	13,2 (4,5)
≥ 3 Monate bis 10 Jahre	38	8,5 (2,9)	9,5 (3,2)	12,3 (4,2)	15,7 (5,3)	15,7 (5,3)
≥ 10 bis 18 Jahre	26	7,1 (2,4)	7,7 (2,6)	10,7 (3,6)	12,7 (4,3)	12,9 (4,4)
19 bis 25 Jahre	31	3,9 (1,3)	4,1 (1,4)	7,6 (2,6)	12,2 (4,1)	13,5 (4,6)
≥ 25 bis 61 Jahre	89	3,9 (1,3)	4,1 (1,4)	5,7 (1,9)	8,1 (2,8)	11,0 (3,7)

* davon 18 Frühgeborene

Tab. 3. α_2 -Makroglobulin in Plasma (25 °C): Verteilung der Werte bei Erwachsenen (N = 120).

Die Werte geben das 5., 50. (Median) und 95. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte von N Probanden in kU/l (in Klammern: g/l) an.

Probenmaterial	Alter [Jahre]	N	Minimum	5%	50%	95%	Maximum
Plasma verd.*	19–25	31	3,9 (1,3)	4,0 (1,4)	6,9 (2,4)	11,2 (3,8)	12,2 (4,1)
	≥ 25 –61	89	3,5 (1,2)	3,7 (1,2)	5,4 (1,8)	7,4 (2,5)	9,4 (3,2)
Plasma**	19–25	31	4,6	4,7	8,3	13,2	14,6
	≥ 25 –61	89	4,2	4,4	6,5	8,8	11,4

* Die Werte beziehen sich auf Citratplasma aus 9+1 verd. Blut

** Der experimentell ermittelte Wert für Citrat-Plasma aus 9+1 verd. Blut wurde über den individuellen Hämatokrit korrigiert, d.h. auf unverdünntes Plasma bezogen

Wählt man zur Charakterisierung der Variabilität der Meßwerte den 90%-Bereich zwischen dem 5. und 95. Perzentil, dann ergeben sich für Serum und Citratplasma die in den Tabellen 2 und 3 wiedergegebenen Referenzbereiche. Bis zum 25. Lebensjahr müssen altersabhängige Referenzwerte angegeben werden. Wegen der erheblichen biologischen Streuung der Werte im Neugeborenen-, Säuglings- und

Kindesalter sowie wegen der kleinen Anzahl von Werten für einige Altersklassen wurden die Referenzbereiche von Altersstufen, die sich nur geringfügig unterscheiden, zu Richtwertbereichen zusammengefaßt (Tab. 4). Diese Richtwerte geben die Grenzen zum klinischen Warnbereich an. Sie haben sich für andere klinisch-chemische Kenngrößen als sehr praktikabel für den klinischen Gebrauch erwiesen (11).

Tab. 4. α_2 -Makroglobulin: Richtwertbereiche im Serum von Kindern sowie Referenzbereiche im Serum und Citratplasma von Jugendlichen und Erwachsenen.

Alter	α_2 -Makroglobulin			
	Serum [kU/l]	[g/l]	Citratplasma [kU/l]	[g/l]
1 bis 10 Tage	5 – 11	1,7–3,7	–	–
11 Tage bis 18 Jahre	8 – 16	2,7–5,4	–	–
19 bis 25 Jahre	4,1–12,2	1,4–4,1	4,0–11,2	1,4–3,8
≥25 bis 61 Jahre	4,1– 8,1	1,4–2,8	3,7– 7,4	1,2–2,5

Tab. 5. Verteilung klinisch-chemischer Kenngrößen im Ausgangskollektiv der Erwachsenen (N = 120). Die Werte geben das 5., 50. (Median) und 95. Perzentil sowie niedrigste und höchste Meßwerte im Serum von 120 Probanden an.

Kenngröße [Einheit]	Minimum	5%	50%	95%	Maximum
Aspartataminotransferase [U/l]	6	7	10	18	20
Alaninaminotransferase [U/l]	5	6	10	23	42
L- γ -Glutamyltransferase [U/l]	5	7	11	45	93
Harnstoff [mmol/l]	1,3	1,8	4,6	7,7	9,3
Kreatinin [μ mol/l]	44	53	80	97	168
Albumin [g/l]	38	43	49	55	59
α_1 -Globulin [g/l]	1	1	2	3	3
α_2 -Globulin [g/l]	4	4	5	8	9
β -Globulin [g/l]	5	6	8	10	12
γ -Globulin [g/l]	5	6	10	13	17
Triglyceride [mmol/l]	0,5	0,5	1,1	2,5	4,5
Hämatokrit (PCV)	0,37	0,39	0,45	0,49	0,51

Tab. 6. α_2 -Makroglobulin, Bestimmung als Trypsin-Komplex: Verteilung der Konzentrationen (25 °C) in verschiedenen Kollektiven.

Dargestellt sind von N Erwachsenen (19 bis 61 Jahre alt) die niedrigsten, höchsten und mittleren Meßwerte (Mediane) in Serum sowie die Ergebnisse der Signifikanzprüfung mit dem U-Test.

Gruppe	N	α_2 -Makroglobulin [kU/l]			Signifikanz ($\alpha = 0,05$)
		Minimum	Median	Maximum	
Endkollektiv	94	3,9	6,4	13,5	keine
aussortiertes Kollektiv	26	3,9	6,1	11,7	
Männer	87	3,9	6,1	13,5	keine
Frauen	33	4,1	6,1	11,2	
Raucher	49	3,9	6,0	13,5	keine
Nichtraucher	71	3,9	6,4	12,2	
Keine hormonale Kontrazeptiva	23	4,1	6,1	11,2	keine
Hormonale Kontrazeptiva	10	4,3	6,0	9,4	
Nüchtern	42	3,9	6,1	10,5	keine
Post-prandial	78	3,9	6,4	13,5	
Triglyceride normal	105	3,9	6,4	13,5	**
Triglyceride erhöht*	15	4,1	4,9	11,7	
Alter: ≥19 bis 25 Jahre	31	3,9	7,6	13,5	Signifikanz
Alter: ≥25 bis 61 Jahre	89	3,9	5,7	11,0	

* mehr als 2,0 mmol/l

** Wegen der unterschiedlichen Fallzahlen der Kollektive wurde keine Signifikanzprüfung durchgeführt. Da der Bereich des Zweitkollektivs innerhalb des Wertebereiches des Erstkollektivs liegt, dürfte jedoch kein Unterschied zwischen beiden Gruppen vorliegen.

Wie die Verteilungen der in Tabelle 5 dargestellten klinisch-chemischen Kenngrößen zeigen, enthält das Ausgangskollektiv der Erwachsenen (N = 120) Probanden, bei denen Erkrankungen nicht auszuschließen sind. Setzt man die jeweiligen Referenzwerte als Auswahlkriterien an, dann ergibt sich eine Reduzierung des Kollektivs um 26 auf 94. Zwischen dem Endkollektiv (N = 94) und dem aussortierten Kollektiv (N = 26) besteht jedoch bezüglich der α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen kein Unterschied.

(Tab. 6). Das Ausgangskollektiv kann somit zugleich als Referenzkollektiv angesehen werden. Außer der bereits beschriebenen Abhängigkeit der α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen vom Alter wurden keine weiteren Abhängigkeiten festgestellt (Tab. 6).

Unterschiede Plasma – Serum

Berücksichtigt man bei der Berechnung der Konzentrationen im Plasma die jeweilige Verdünnung mit Citratlösung, dann ergeben sich für Plasma höhere Werte als für Serum (Tab. 3). Die individuellen Differenzen zwischen Plasma- und Serum-Werten liegen in Anteilen zwischen 0,02 und 0,22 (5. bzw. 95. Perzentil), der Median liegt bei 0,11 Anteilen (11%, Abb. 2). Ähnliche Ergebnisse wurden vor kurzem für α_1 -Antitrypsin mitgeteilt (12).

Diese Unterschiede zwischen Serum und Plasma lassen sich wahrscheinlich damit erklären, daß es bei der Gerinnung zu einer Freisetzung von Proteinasen kommt, welche einen Teil des α_2 -Makroglobulins binden. Es ist z.B. bekannt, daß ein anderes chromogenes Substrat, Tosyl-glycyl-prolyl-arginin-p-nitroanilid (Chromozym® TH), von Seren, jedoch nicht von Plasmen, gespalten wird. Bei dieser Aktivität im Serum handelt es sich um einen Komplex aus Thrombin und α_2 -Makroglobulin (13). Es ist deshalb zu vermuten, daß im Probenmaterial Serum ein Teil

Abb. 2. α_2 -Makroglobulin, Bestimmung als Trypsin-Komplex: Relative Differenzen zwischen den Konzentrationsmessungen in Plasma und Serum ($N = 120$) bezogen auf Serum = 1,00.

Für die Berechnung der Konzentrationen in Plasma wurde der individuelle Hämatokrit berücksichtigt.

des α_2 -Makroglobulins zur Komplexbildung mit Trypsin nicht mehr zur Verfügung steht und man niedrigere Werte als in Plasma finden muß.

Vergleichsuntersuchungen

In den Abbildungen 3 und 4 sind die Ergebnisse des Vergleichs der chromogenen Methode mit zwei immunologischen Methoden dargestellt. Gegenüber der Immunodiffusion bzw. der Immunnephelometrie besteht offensichtlich ein linearer Zusammenhang. Es fällt jedoch auf, daß mit der Immunodiffusion höhere Massenkonzentrationen als mit der Immunnephelometrie gefunden werden. Die Ursache liegt vermutlich in der Verwendung unterschiedlicher Antikörper. Welche der beiden immunologischen Methoden richtige Werte liefert, kann hier nicht entschieden werden, da mit der chromogenen Methode katalytische Aktivitäts-Konzentrationen des Komplexes bestimmt werden. Immerhin zeigt sich, daß zwischen katalytischer Aktivitätskonzentration des Komplexes und immunologisch bestimmter Massenkonzentration bei Werten innerhalb des Referenzbereiches eine Korrelation besteht. Es bleibt offen, ob diese Korrelation ebenfalls bei pathologischen Veränderungen der α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen besteht. Möglicherweise ergeben sich damit neue Einsichten in die Funktion von α_2 -Makroglobulin.

Abb. 3. Vergleich der chromogenen Methode für α_2 -Makroglobulin mit der Immunodiffusion in 62 Seren mit normaler Konzentration ($y = 0,38x - 0,27$, $r = 0,952$).

Abb. 4. Vergleich der chromogenen Methode für α_2 -Makroglobulin mit der Immunnephelometrie in 50 Seren normaler Konzentration ($y = 0,23x + 0,11$, $r = 0,967$).

Danksagung

Für die sorgfältige Durchführung der Untersuchungen danken wir Frau H. Flad und Frau B. Wohllüter.

Literatur

1. Witt, I., Tritschler, W. & Bablok, W. (1981) J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 877–878.
2. CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science, Section I: Hematology Vol. III (Schmidt, R. M., Section Editor) (1980), Hayes, M. B. & Harpel, P. C., 187–194 CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
3. Ganrot, P. O. & Scherstén, B. (1967) Clin. Chim. Acta 15, 113–120.
4. Tunstall, A. M., Merriman, J. M. L., Milne, I. & James, K. (1975) J. Clin. Pathol. 28, 133–139.
5. Adham, N. F., Wilding, P., Mehl, J. & Haverback, B. J. (1968) J. Lab. Clin. Med. 71, 271–282.

6. Horne, C. H. W., Howie, P. W., Weir, R. J. & Goudie, R. B. (1970) *Lancet* *I*, 49–50.
7. Göbel, U., Petrich, C., von Voss, H. & Schmelzer, L. (1978) *Eur. J. Pediatr.* *129*, 117–124.
8. Ganrot, P. O. (1966) *Clin. Chim. Acta* *14*, 493–501.
9. Conover, W. J. (1971) *Practical nonparametric statistics*, J. Wiley & Sons, New York.
10. Feldmann, U., Schneider, B., Klinkers, H. & Haeckel, R. (1981) *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* *19*, 121–137.
11. Witt, I. & Trendelenburg, Chr. (1982) *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* *20*, 235–242.
12. Witt, I. & Tritschler, W. (1982) *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* *20*, 587–591.
13. Keller, H., Keller, B. & Wolf, V. (1978) *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* *16*, 571–578.

Dr. rer. nat. W. Tritschler
Boehringer Mannheim GmbH
Diagnostica Forschung
Sandhofer Straße 116
D-6800 Mannheim 31

Prof. Dr. Irene Witt
Klinisch-Chemisches und
Biochemisches Labor
Universitäts-Kinderklinik
Mathildenstraße 1
D-7800 Freiburg