

Fibronectin und β_2 -Mikroglobulin im Plasma chronisch Leberkranker und ihre Beziehung zu „zirrhoseanzeigenden“ Enzymaktivitäten im Serum

A. M. Gressner*, P. Wallraff*, P. Roebruck** und W. Tittor***

* Abteilung Klinische Chemie und Pathobiochemie der Medizinischen Fakultät der Technischen Hochschule (RWTH) Aachen

** Abteilung Medizinische Statistik und Dokumentation der Medizinischen Fakultät der Technischen Hochschule (RWTH) Aachen

*** Stoffwechselklinik der Landesversicherungsanstalt Württemberg, Abteilung für Hepatologie und Stoffwechselkrankheiten, Bad Mergentheim

Zusammenfassung:

Bei Patienten mit beginnender und ausgeprägter Leberfibrose sowie bei Kranken mit vollentwickelter Leberzirrhose wurden die Konzentrationen von Fibronectin (kalte-unlösliches Globulin) im Plasma und β_2 -Mikroglobulin im Serum bestimmt und zu den Aktivitäten „fibroseanzeigender“ Enzyme im Serum in Beziehung gebracht. Es handelt sich um die Enzyme Monoamino Oxidase (EC 1.4.3.4) und N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (EC 3.2.1.30). Die Fibronectinkonzentration bei chronisch Leberkranken ist mit durchschnittlich 352 ± 87 mg/l signifikant um etwa 20% höher als bei Gesunden. Für β_2 -Mikroglobulin wurden Konzentrationen von $2,88 \pm 1,0$ mg/l gemessen. Diese liegen somit um etwa 80% ($p < 0,001$) höher als die mittlere Konzentration dieses Spurenproteins im Serum Gesunder. 25 von 51 Leberfibrosen und 40 von 48 Leberzirrhosen wiesen pathologische β_2 -Mikroglobulinkonzentrationen auf. Zwischen den Konzentrationen der genannten Plasma- bzw. Serumproteine und den Aktivitäten der Monoamino Oxidase und N-Acetyl- β -D-glucosaminidase im Serum besteht statistisch keine Korrelation.

Schlüsselwörter:

Fibronectin – β_2 -Mikroglobulin – chronische Lebererkrankungen – Monoamino Oxidase – N-Acetyl- β -D-glucosaminidase.

Summary:

The concentrations of fibronectin (cold-insoluble globulin) in plasma and β_2 -microglobulin in serum were determined in patients with initial and advanced stages of liver fibrosis and in those with fully developed liver cirrhosis. Their levels were related to some biomarkers of liver cirrhosis, i.e. to the activities of monoamine oxidase (EC 1.4.3.4) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (EC 3.2.1.30) in serum. The concentration of fibronectin in patients with chronic liver diseases is 352 ± 87 mg/l and, thus, significantly, about 20% higher than that found in healthy subjects. For β_2 -microglobulin a concentration of $2,88 \pm 1,0$ mg/l was measured, which is about 80% ($p < 0,001$) above the mean concentration of this trace protein in sera of healthy individuals. Pathologic concentrations of β_2 -microglobulin were found in 25 of 51 cases with liver fibrosis and 40 of 48 patients with liver cirrhosis. There is no statistic correlation between the concentrations of the described proteins and the activities of monoamine oxidase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in serum, respectively.

Key words:

fibronectin – β_2 -microglobulin – chronic liver diseases – monoamine oxidase – N-acetyl- β -D-glucosaminidase.

Einleitung

In zahlreichen neueren Untersuchungen wurden experimentelle Beweise für die bedeutungsvollen biologischen Aktivitäten des Fibronectins, welches auch als kalteunlösliches Globulin, Galactoprotein A und LETS (large, external, transformation sensitive) Protein bezeichnet wird, erbracht (neuere Übersichten siehe 1–5). Diesem sowohl an der Zelloberfläche, in der Interzellularsubstanz und in immunologisch nicht unterscheidbarer Form (6) auch im Plasma vorkommenden hochmolekularen, aus zwei etwa 220 000 dalton schweren Untereinheiten zusammengesetzten Glykoprotein werden auf zellulärer Ebene Funktionen in der Zell-Zell-Kommunikation, Zell-Substratbindung und in der Regulation der Zell-Lokomotion bzw. -Proliferation zugeschrieben (1–5).

Die Funktion der humoralen Form des Fibronectins ist im wesentlichen unbekannt. Es dient möglicherweise zum Aufbau der Zelloberflächenmatrix von Zellen, die zur Synthese des Fibronectins selbst inkompetent sind (7) und spielt als „humoral recognition factor“ eine wesentliche Rolle in der Clearance-Funktion des retikuloendothelialen Systems (RES). Es gibt wichtige Hinweise, daß Plasmafibronectin identisch ist mit dem α_2 -Oberflächenbindungsglykoprotein (opsonic protein) (8, 9) und somit für die Opsonierung, d. h. für die Bindung (und evtl. Aufnahme) von Immunkomplexen, Bakterien, geschädigten Thrombozyten, Fibrinaggregaten und Tumorzellen an die Makrophagen des RES essentiell ist.

Obwohl Veränderungen der Plasmakonzentration des Fibronectins bei malignen und nicht-malignen Erkrankungen beschrieben sind (10–12), fehlen vergleichbare Untersuchungen bei verschiedenen Formen der chronischen Lebererkrankungen, insbesondere bei den mit Bindegewebsvermehrung im Parenchym einhergehenden. Vorläufige Hinweise auf eine Zunahme des Plasmafibronectins finden sich in einer früheren (13) und einer jüngst erschienenen Untersuchung (14).

Es war daher das Ziel der vorliegenden Arbeit, mittels einer neu entwickelten sensitiven und präzisen lasernephelometrischen Technik (12, 15) Bestimmungen der Fibronectinkonzentration im Plasma von Patienten mit histologisch verifizierter Fibrose und Zirrhose durchzuführen. Ziel der Untersuchungen war, dessen Konzentration mit den Aktivitäten zweier „zirrhoseanzeigender“ Enzyme im Serum, der Monoamino Oxidase und N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (16) zu vergleichen und die diagnostische Bedeutung dieses Proteins zu ermitteln. In die Untersuchungen wurden Bestimmungen des β_2 -Mikroglobulins einbezogen, da nach neueren Ergebnissen dieses Spurenprotein im Serum Leberkranker in erhöhter Konzentration auftreten soll (17,

18). Seine möglichen Beziehungen zur Aktivität und zum Ausmaß der Fibroproliferation sind bislang ebenso unbekannt wie sein Verhalten zum Fibronectin, obwohl es in Struktur, Funktion und Serumkonzentration zum Plasmafibronectin grundsätzlich unterschiedlich ist (19). Die beiden Proteine zeigen hinsichtlich ihrer Zellmembranlokalisation und Serum-Konzentrationsveränderungen bei entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen ähnliches Verhalten (20–22).

Material und Methoden

Patienten

Zur Untersuchung gelangten 91, überwiegend männliche Patienten der Stoffwechselklinik Bad Mergentheim. Entsprechend ihrem leberhistologischen Befund wurde eine Gruppierung der Patienten in solche mit vollständigem zirrhotischem Umbau ($n = 49$), beginnender Fibrose (Stadium I, $n = 28$) und ausgedehnter Fibrose ohne Umbau (Stadium II, $n = 16$) vorgenommen. Blut wurde morgens, im Nüchternzustand abgenommen. Zur Bestimmung von Fibronectin wurde EDTA-Plasma, für die der anderen Parameter Serum gewonnen. Bis zur Durchführung der Analysen wurden die Proben bei -20°C durchschnittlich 7–10 Tage gelagert.

Bestimmung der Fibronectinkonzentration im Plasma

Fibronectin wurde im EDTA-Plasma mit einer früher im Detail beschriebenen lasernephelometrischen Methode bestimmt (12). Die Messungen wurden mit dem Behring Helium-Neon-Lasernephelometer durchgeführt. Monospezifisches Antiserum gegen humanes Fibronectin und Protein-Standardplasma zur Erstellung der Referenzkurve wurden von den Behringwerken AG, Marburg, erhalten. Der Variationskoeffizient der Bestimmung von Tag zu Tag betrug 3,5%.

Bestimmung der Konzentration von β_2 -Mikroglobulin im Serum

Die Konzentration von β_2 -Mikroglobulin im Serum wurde mit Hilfe eines Festphasen-Radioimmunoassays (Phadebas β_2 -micro-Test, Pharmacia GmbH, Freiburg) ermittelt. Der Variationskoeffizient von Tag zu Tag betrug 9%. Zur Untersuchung gelangten nur Seren mit normaler Kreatinin-Konzentration ($\text{Kreatinin} \leq 112 \mu\text{mol/l}$).

Aktivitätsbestimmung der Monoamino Oxidase (EC 1.4.3.4) im Serum

Die Aktivität der Monoamino Oxidase wurde im Serum nach der kolorimetrischen Methode von Ono et

al. (23) in der von uns beschriebenen Modifikation (24) bestimmt. In dem Intervall zwischen Speziennahme und Aktivitätsbestimmung (üblicherweise 6 bis 8 Tage) wurden die Seren bei -20°C gelagert. Die Bestimmung der Präzision mit Validate A (Fa. Gödecke) und Ortho/Normal (Ortho Diagnostics) als Kontrollseren ergab einen mittleren Variationskoeffizienten von Tag zu Tag von 13%.

Aktivitätsbestimmung der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (EC 3.2.1.30) im Serum

Die Aktivität der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase wurde im Serum nach der Methode von Findlay et al. (25) unter Verwendung von p-Nitrophenyl-N-Acetyl- β -Glucosaminid (Sigma Chemical Comp., München) als Substrat bestimmt. Für die Präzision von Tag zu Tag ergab sich mit Validate A und Ortho Normal ein mittlerer Variationskoeffizient von 15%.

Statistische Analyse

Angewandt wurden der t-Test für unverbundene Stichproben (26) und das Holm'sche Verfahren zur Kontrolle der experimentbezogenen Irrtumswahrscheinlichkeit (5%).

Ergebnisse

Fibronectinkonzentration im Plasma

Im Plasma von Patienten mit Leberzirrhose ($n = 49$) bestimmten wir eine Fibronectinkonzentration (Mittelwert \pm Standardabweichung) von $351 \pm$

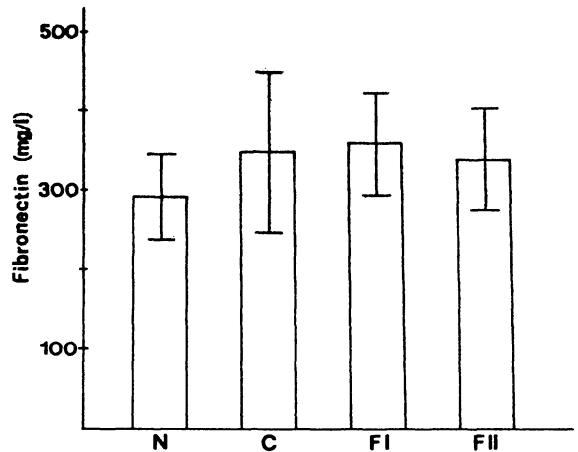


Abb. 1:

Mittelwerte und Standardabweichungen der Plasma-Fibronectinkonzentration in gesunden männlichen Normalpersonen (N, $n = 101$) Patienten mit Leberzirrhose (C, $n = 49$), beginnender Leberfibrose (FI, $n = 28$) und vollentwickelter Fibrose ohne Umbau (FII, $n = 14$). Die Konzentrationsunterschiede zwischen Gesunden und Leberkranken sind signifikant ($p < 0,001$).

102 mg/l (Abb. 1). Sie liegt somit signifikant ($p < 0,001$), um etwa 20% über dem Mittelwert (291 mg/l) der Fibronectinkonzentration im Plasma eines Kollektivs gesunder Patienten ($n = 101$) (12). Bei Patienten mit Leberfibrose im Stadium I ($n = 28$)

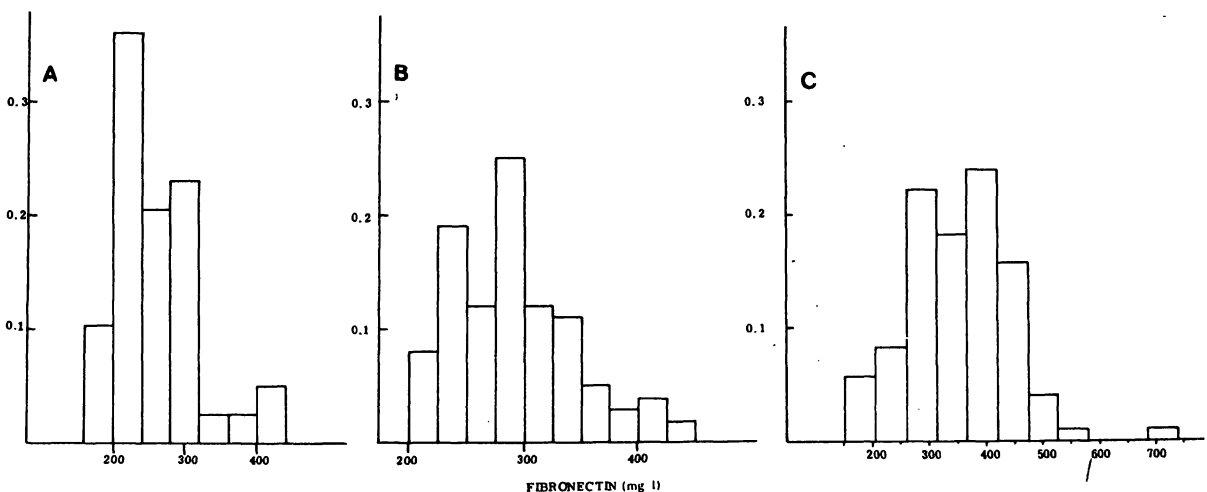


Abb. 2:

Histogramm der Fibronectinkonzentrationen im Plasma von gesunden Frauen (A, $n = 45$), gesunden Männern (B, $n = 101$) und Patienten mit Fibrose und Zirrhose (C, $n = 91$).

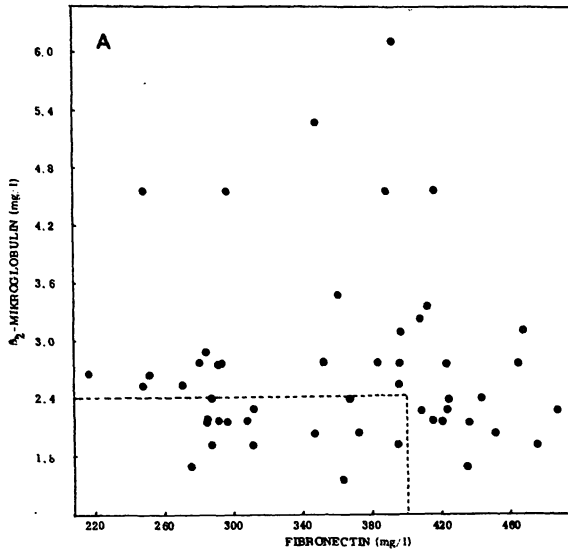


Abb. 3:

Beziehung zwischen den Konzentrationen von β_2 -Mikroglobulin im Serum und Fibronectin im Plasma von Patienten mit beginnender und vollständiger Leberfibrose.

betrug der Plasmafibronectinspiegel 362 ± 64 mg/l, bei solchen im Fibrorestadium II ($n = 14$) 339 ± 62 mg/l (Abb. 1). Der Unterschied in den Konzentrationen des kalte-unlöslichen Globulins zwischen den Patienten mit Fibrose I/II und Zirrhose erwies sich als nicht signifikant, war jedoch, bezogen auf ein gesundes Referenzkollektiv, in jedem Falle signifikant erhöht.

Die Häufigkeitsverteilung der Fibronectinkonzentrationen bei Normalpersonen und Patienten mit Leberfibrosen und -zirrhosen ist in Abb. 2 gezeigt. Aus ihr ist zu entnehmen, daß der weitaus überwiegende Teil der Patienten Plasmakonzentrationen von über 291 mg/l aufweist.

Die Fibronectinkonzentration im Plasma von Patienten mit Leberfibrose (Abb. 3–5) und Leberzirrhose (Abb. 6–8) korrelieren statistisch nicht mit den Aktivitäten „zirrhoseanzeigender“ Enzyme im Serum. Die Beziehungen der Fibronectinkonzentrationen zu den Aktivitäten der Monoamino Oxidase und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase im Serum sind in den Abb. 4, 5, 7, 8 dargestellt. Bei Patienten mit Leberfibrose fanden sich in 17 von 51 Fällen Fibronectinkonzentrationen im Plasma, die außerhalb des oberen 2s-Bereiches der Werte des Referenzkollektives lagen. Bei Patienten mit Leberzirrhose betrug dieser Anteil 16/48. Bei mehrdimensionaler Betrachtung sind diese Anteile größer.

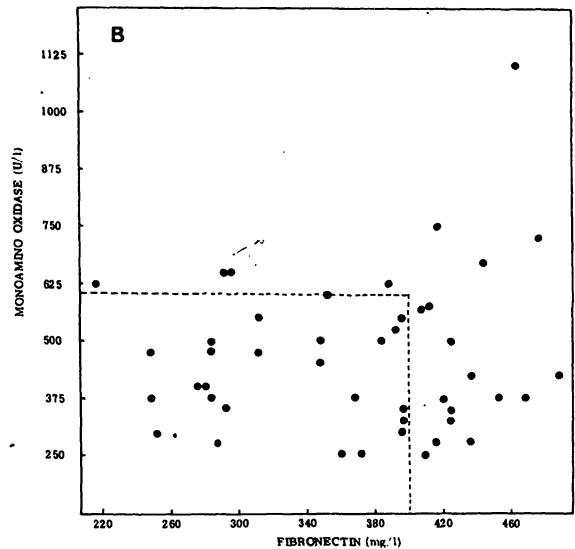


Abb. 4:

Beziehung zwischen der Aktivität der Monoamino Oxidase im Serum und Fibronectinkonzentration im Plasma von Patienten mit beginnender und vollständiger Leberfibrose.

β_2 -Mikroglobulinkonzentration im Serum

Im Serum der Patienten, deren Plasma zur Fibronectinbestimmung eingesetzt wurde, wurde die Konzentration von β_2 -Mikroglobulin bestimmt. (Abb. 9). Die Konzentration dieses Spurenproteins (Mittelwert \pm Standardabweichung) betrug bei Patienten mit Leberzirrhose $3,04 \pm 1,2$ mg/l, bei solchen mit beginnender (Fibrose I) $2,6 \pm 1,0$ mg/l und vollentwickelter Leberfibrose (Fibrose II) $2,9 \pm 0,9$ mg/l. Bezogen auf die mittlere β_2 -Mikroglobulinkonzentration im Serum Gesunder ($1,6$ mg/l) liegt somit eine signifikante ($p < 0,001$) Konzentrationserhöhung um etwa 62–90% vor. Außerdem sind die Konzentrationsunterschiede zwischen Zirrhosen und Fibrosen signifikant ($p < 0,004$). Alle Patienten hatten Serumkreatininspiegel von unter $112 \mu\text{mol/l}$.

Die relative Häufigkeitsverteilung der bei chronisch Leberkranken gefundenen Serumkonzentrationen ist in Abb. 10 angegeben.

Weder bei Leberfibrose (Abb. 3) noch Leberzirrhose (Abb. 6) zeigte sich eine statistische Korrelation zwischen β_2 -Mikroglobulin- und Fibronectinkonzentrationen. Ein ähnliches Verhalten besteht zu den Aktivitäten von Monoamino Oxidase und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase im Serum. Es konnte gezeigt werden, daß 25 von 51 Patienten mit Leberfibrose und sogar 40 von 48 Patienten mit Leberzirrhose (über 80%) β_2 -Mikroglobulinkonzen-

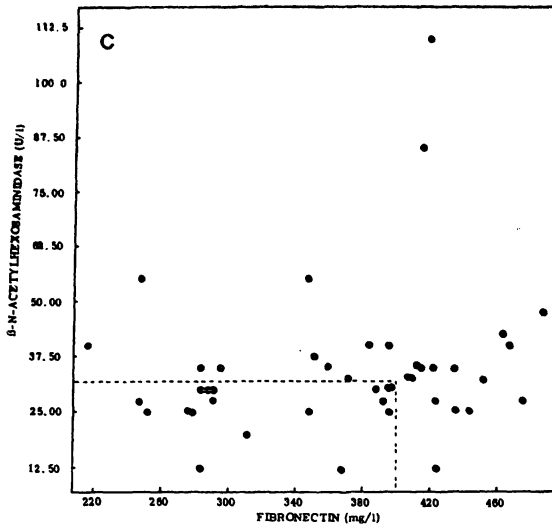


Abb. 5:

Beziehung zwischen der Aktivität der β -D-N-Acetyl-Glucosaminidase im Serum und Fibronectinkonzentration im Plasma von Patienten mit beginnender und vollständiger Leberfibrose.

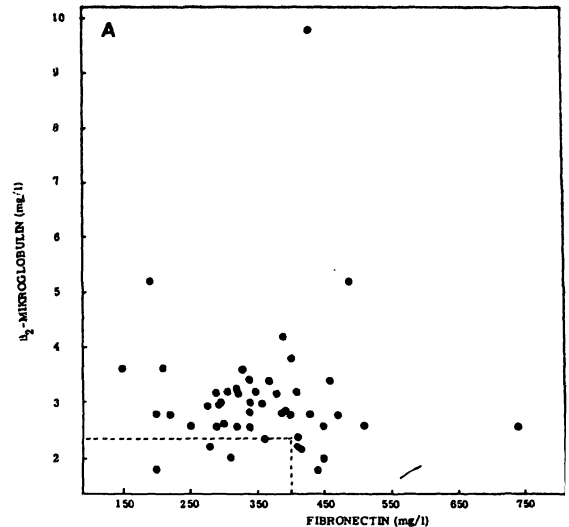


Abb. 6:

Beziehung zwischen den Konzentrationen von β_2 -Mikroglobulin im Serum und Fibronectin im Plasma von Patienten mit Leberzirrhose.

trationen oberhalb des oberen 2s-Bereiches (2,4 mg/l) gesunder Personen aufweisen.

Diskussion

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen gegenüber Normalpersonen signifikante Konzentrationserhöhungen von kalte-unlöslichem Globulin und β_2 -Mikroglobulin im Plasma bzw. Serum von Patienten mit chronischen, fibroproliferativen Lebererkrankungen. Zwischen den verschiedenen Ausbildungsstadien der Fibrose einerseits sowie Fibrose und vollentwickelter Zirrhose andererseits konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Pathomechanismen der Zunahme des Plasmafibronectins bei chronischen Lebererkrankungen sind gegenwärtig unbekannt. In Analogie zur Syntheserhöhung von Kollagen und Proteoglykanen in der chronisch geschädigten Leber (27) könnte eine Steigerung der Fibronectinsynthese, die in den Hepatozyten erfolgen kann (28, 29), von kausaler Bedeutung sein. Andererseits muß ein verminderter Katabolismus dieses Proteins, möglicherweise durch reduzierte hepatische Clearance infolge eingeschränkter Sinuszellfunktion der Leber in Betracht gezogen werden. Die funktionelle Rolle dieses Proteins bei der Opsonierung und seine daraus resultierende direkte Wechselwirkung mit den Zellen des RES würden für die Bedeutung des letztge-

nannten Pathomechanismus sprechen. Weiteren Untersuchungen bleibt es vorbehalten, evtl. Strukturmodifikationen dieses Glykoproteins, insbesondere seines Kohlenhydratanteils (30), bei Lebererkrankungen zu erkennen sowie durch Messungen seiner Halbwertszeit im Plasma mögliche Unterschiede im metabolischen turnover aufzuklären.

Stärkere Konzentrationserhöhungen als für Fibronectin ließen sich für β_2 -Mikroglobulin im Serum chronisch Leberkranker nachweisen. Dieses niedrigmolekulare (Molekulargewicht 11 800), in verschiedenen Körperflüssigkeiten in geringen Konzentrationen vorkommende Protein bildet einen Teil der klassischen HLA-Antigene (19). Ähnlich dem Fibronectin ist es auf der Oberfläche kernhaltiger Zellen, z. B. von Lymphozyten, zu finden, doch konnten fluoreszenzimmunologische Untersuchungen seinen Nachweis in der normalen Leber nicht erbringen (31). Die vorgelegten Befunde bestätigen und erweitern neuere Berichte (17, 18), denen zufolge erhöhte β_2 -Mikroglobulinspiegel bei akuten und chronischen Lebererkrankungen gefunden werden. Eine reduzierte renale Elimination dieses Proteins als Ursache seines Konzentrationsanstieges ist unwahrscheinlich, da alle Patienten unseres Krankengutes normale Serumkreatininkonzentrationen ($\leq 112 \mu\text{mol/l}$) aufwiesen. Eine gesteigerte Synthese, die wahrscheinlich durch die das entzündliche Lebergewebe infiltrierenden, aktivierten

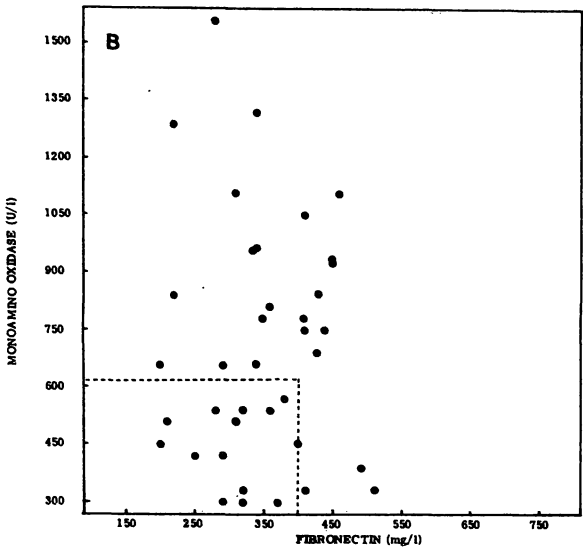


Abb. 7:

Beziehung zwischen der Aktivität der Monoamino Oxidase im Serum und der Fibronectinkonzentration im Plasma von Patienten mit Leberzirrhose.

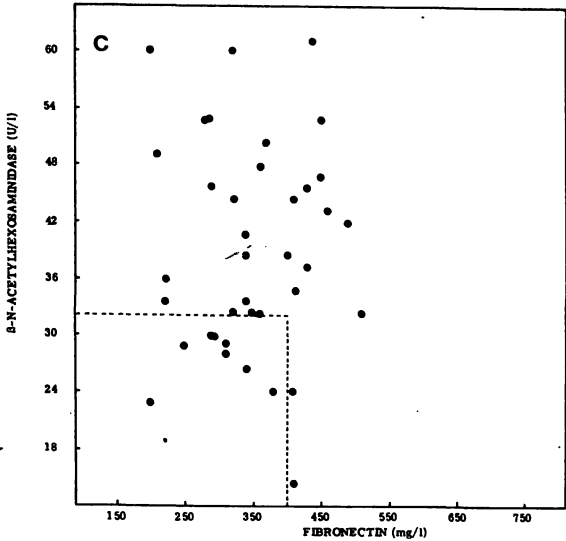


Abb. 8:

Beziehung zwischen der Aktivität der β -D-N-Acetyl-Glucosaminidase im Serum und Fibronectinkonzentration im Plasma bei Patienten mit Leberzirrhose.

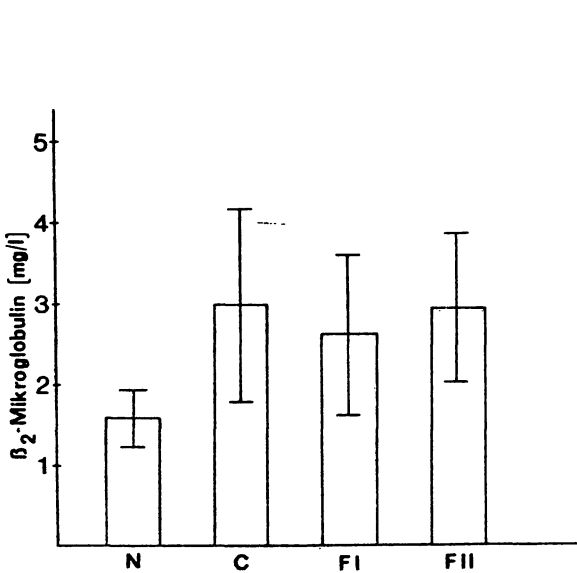


Abb. 9:

Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen von β_2 -Mikroglobulin im Serum gesunder Personen (N), Patienten mit Leberzirrhose (C), beginnender Leberfibrose (FI) und vollständiger Leberfibrose ohne Umbau (FII).

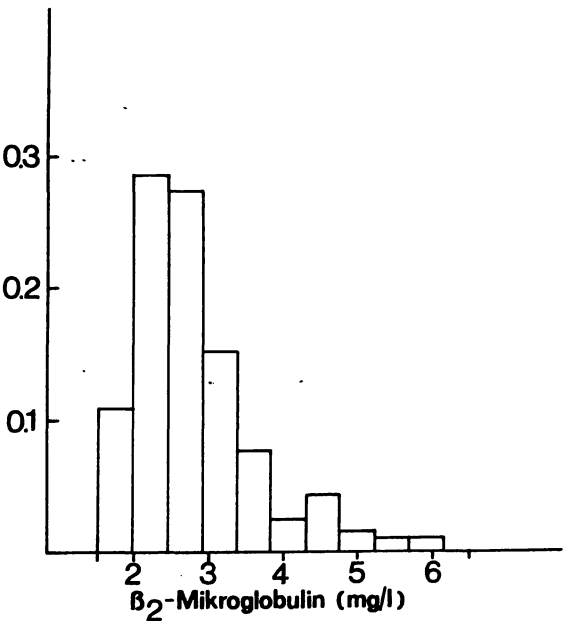


Abb. 10:

Histogramm der β_2 -Mikroglobulinkonzentrationen im Serum von Patienten mit Leberfibrose und Leberzirrhose (n = 91).

Lymphozyten bedingt ist, stellt möglicherweise den wichtigsten Pathomechanismus dar. Damit würden die bei chronischen Lebererkrankungen gefundenen β_2 -Mikroglobulinerhöhungen pathobiochemisch mit ähnlichen Befunden bei anderen chronisch-entzündlichen Erkrankungen, z. B. bei rheumatoider Arthritis, in Einklang stehen (32).

Während die diagnostische Bedeutung des Plasma-fibronectins noch nicht klar zu erkennen ist, stellt die β_2 -Mikroglobulinerhöhung bei Lebererkrankungen möglicherweise einen klinisch-chemischen Parameter der Aktivität des entzündlichen Prozesses dar und könnte deshalb zur therapeutischen Verlaufskontrolle herangezogen werden. Bei der Abklärung erhöhter β_2 -Mikroglobulinspiegel im Serum sind offensichtlich Lebererkrankungen differentialdiagnostisch in Betracht zu ziehen.

Wie aus der fehlenden statistischen Korrelation zu den Aktivitäten der Monoamino Oxidase und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase hervorgeht, scheinen weder β_2 -Mikroglobulin noch kalte-unlösliches Globulin Parameter der fibroproliferativen Aktivität bzw. des Ausmaßes der fibrotischen Transformation der Leber zu sein. Sie sind deshalb als Parameter dieser pathobiochemischen Partialreaktionen der geschädigten Leber ungeeignet. Die Untersuchungen zur diagnostischen Zuverlässigkeit „fibroseanzeigender“ Enzyme, insbesondere der Monoamino Oxidase im Serum, sind Gegenstand einer laufenden Untersuchung.

Schrifttum:

1. RUOSLAHTI, E., ENGVALL, E. und HAYMANN, E. G.: Fibronectin - current concepts of its structure and function. *Coll. Rel. Res.* 1, 95-128 (1981).
2. SABA, T. M. und JAFFE, E.: Plasmafibronektin (opsonic glycoprotein). *Am. J. Med.* 68, 577-594 (1980).
3. PEARLSTEIN, E., GOLD, L. I. und GARCIA-PARDO, A.: Fibronectin: A review of its Structure and Biological Activity. *Mol. Cell. Biochem.* 29, 103-128 (1980).
4. MOSESSON, M. W. und AMRANI, D. L.: The Structure and Biologic Activities of Plasma Fibronectin. *Blood* 56, 145-158 (1980).
5. YAMADA, K. M. und OLDEN, K.: Fibronectins - adhesive glycoproteins of cell surface and blood. *Nature* 275, 179-184 (1978).
6. RUOSLAHTI, E. und VAHERI, A.: Interaction of soluble fibroblast surface antigen with fibrinogen and fibrin. Identity with cold insoluble globulin of human plasma. *J. Exp. Med.* 141, 497-501 (1975).
7. HAYMAN, E. G. und RUOSLAHTI, E.: Distribution of Fetal Bovine Serum Fibronectin and Endogenous Rat Cell Fibronectin in Extracellular Matrix. *J. Cell Biol.* 83, 255-259 (1979).
8. BLUMENSTOCK, F. A., SABA, T. M., WEBER, P. und LAFFIN, R.: Biochemical and immunological characterization of human opsonic α_5 SB glycoprotein: its identity with cold-insoluble globulin. *J. Biol. Chem.* 253, 4287-4291 (1978).
9. MOLNAR, J., GELDER, F. B., MING ZONG LAI, SIEFRING, G. E., CREDO, R. B. und LORAND, L.: Purification of Opsonically Active Human and Rat Cold-Insoluble Globulin (Plasma Fibronectin). *Biochemistry* 18, 3909-3916 (1979).
10. MOSHER, D. F. und WILLIAMS, E. M.: Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation. *J. Lab. Clin. Med.* 91, 729-735 (1978).
11. TODD, H. D., COFFEE, M. S., WAALKES, T. P., ABELOFF, M. D. und PARSONS, R. G.: Serum Levels of Fibronectin and a Fibronectin-Like *BNA*-Binding Protein in Patients with Various Diseases. *J. Natl. Canc. Inst.* 65, 901-904 (1980).
12. GRESSNER, A. M. und WALLRAFF, P.: Der Einsatz der Lasernephelometrie zur Bestimmung und rechnerunterstützten Auswertung der Fibronectinkonzentration in verschiedenen Körperflüssigkeiten. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 797-805 (1980).
13. HÄLLEN, J. und LAURELL, C.-B.: Plasma Protein Pattern in Cirrhosis of the Liver. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29, Suppl. 124, 97-103 (1972).
14. POTT, G., MEYERING, M., VOSS, B., KARGES, H. E. und SIEBER, A.: Rapid Determination of Fibronectin by Laser Nephelometry. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 893-895 (1980).
15. GRESSNER, A. M. und WALLRAFF, P.: Ein lasernephelometrisches Verfahren zur Bestimmung der Fibronectin-Konzentration im Plasma. *Git Labor-Medizin* 3, 218-221 (1980).
16. GRESSNER, A. M.: Klinisch-biochemische Parameter der hepatischen Fibrogenese. *Lab. Med.* 3, 201-208 (1979).
17. HÄLLGREN, R.: Serum β_2 -Mikroglobulin in Liver Disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 39, 441-447 (1979).
18. BEORCHIA, S., VINCENT, C., REVILLARD, J. P. und TREPO, C.: Elevation of Serum β_2 -Microglobulin in Liver Diseases. *Clin. Chim. Acta*, 109, 245-255 (1981).
19. POULIK, M. D., GOLD, P. und SHUSTER, J.: β_2 -Mikroglobulin: Methods and Clinical Applications. *Crit. Rev. Clin. Chem.* 10, 225-245 (1979).
20. SCHUSTER, J., GOLD, P. und POULIK, M. D.: β_2 -microglobulin levels in cancerous and other disease states. *Clin. Chim. Acta* 67, 307-313 (1976).
21. EVRIN, P. E. und WIBELL, L.: Serum β_2 -microglobulin in various disorders. *Clin. Chim. Acta* 43, 183-187 (1973).
22. TEASDALE, C., MANDER, A. M., FIFIELD, R., KEYSER, J. W., NEWCOMBE, R. G. und HUGES, L. E.: Serum β_2 -microglobulin in controls and cancer patients. *Clin. Chim. Acta* 78, 135-143 (1977).
23. ONO, T., ETO, K., SAKATA, Y. und TAKEDA, M.: A new colorimetric assay for monoamine oxidase in serum and its clinical application. *J. Lab. Clin. Med.* 85, 1022-1031 (1975).
24. GRESSNER, A. M.: Evaluation of the Assay for Serum Monoamine Oxidase - an Index of Hepatic Fibrosis. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 921-927 (1980).
25. FINDLAY, J., LEVY, G. A. und MARSH, C. A.: Inhibitors of β -N-Acetyl-glucosaminidase. *Biochem. J.* 69, 467-476 (1958).
26. SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden, 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin.
27. GRESSNER, A. M.: Zur Pathobiochemie und klinisch-chemischen Diagnostik der Leberfibrose. *Med. Welt* 31, 11-16 (1980).
28. VOSS, B., ALLAM, S., RANTERBERG, J., ULLRICH, K., GIESELMANN, V. und VON FIGURA, K.: Primary Cultures of Rat Hepatocytes Synthesize Fibronectin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 90, 1348-1354 (1979).
29. BLAAUBOER, B. J. und PAINE, A. J.: Attachment of Rat Hepatocytes to Plastic Substrata in the Absence of Serum Requires Protein Synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 90, 368-374 (1979).
30. TAKASAKI, S., YAMASHITA, K., SUZUKI, K., IWANAGA, S. und KOBATA, A.: The Sugar Chains of Cold-insoluble Globulin. *J. Biol. Chem.* 254, 8548-8553 (1979).
31. GOVERNA, M. und BIOUZZI, S.: β_2 -Microglobulin distribution in human normal tissues. *Eur. J. Immunol.* 6, 830-832 (1976).
32. KARLSSON, F. A., GROTH, T., SEGE, K., WIBELL, L. und PETERSON, P. A.: Turnover in humans of β_2 -microglobulin: the constant chain of HLA-antigens. *Eur. J. Clin. Invest.* 10, 293-300 (1980).

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. A. M. Gressner
Abteilung Klinische Chemie und Pathobiochemie
der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen
Goethestraße 27-29
D-5100 Aachen

