

Tamm-Horsfall-Protein Ausscheidung in Abhängigkeit von der Sammelperiode und Zusammenhang mit etablierten Parametern der tubulären oder glomerulären Nierenschädigung

Tamm-Horsfall Protein excretion: dependence on the urine collection period and relation to established markers of tubular or glomerular kidney damage

E. Werle¹, T. Martin², H. P. Kempe², W. Fiehn¹, Ch. Hasslacher²

Zentrallabor¹, Abt. für Endokrinologie und Stoffwechsel², Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität Heidelberg

Zusammenfassung:

Das Tamm-Horsfall-Protein (THP) ist ein sehr spezifisch im dicken Teil des aufsteigenden Schenkels der Henleschen Schleife synthetisiertes Glykoprotein. Es stellt den Hauptanteil der physiologischen Proteinurie dar. Die vorliegende Untersuchung beschäftigte sich mit dem Zusammenhang der THP-Ausscheidung mit der Tageszeit und mit anderen renalen Markerproteinen. 36 hospitalisierte, nicht immobilisierte Patienten der Medizinischen Klinik mit im Normbereich liegendem Serumkreatinin sammelten ihren Urin von 20–8 Uhr (Nachurin) und von 8–20 Uhr (Tagesurin). Der Vergleich der mittels eines Enzymimmunoassays (ELISA) bestimmten THP-Werte ergab, daß eine aufwendige und oftmals fehlerhafte 24 h-Urinsammlung nicht erforderlich ist, da man mit hoher Zuverlässigkeit von der Nachurinsammlung auf die 24 h-Exkretion schließen kann. Es bestand kein Zusammenhang zwischen der THP-Exkretion und den Markerproteinen α_1 -Mikroglobulin (α_1 -M), Immunglobulin G (IgG), Albumin und N-acetyl- β -D-Glucosaminidase (β -NAG) im Urin. Eine positive Korrelation (Spearman $r = 0,78$; $P < 0,0001$) war zwischen der THP- und der Kreatininausscheidung festzustellen. Eine Nierenmarkfunktionsstörung führt sowohl zu einer verminderten renalen Synthese der Guanidinoessigsäure, dem Precursor der hepatischen Kreatinbildung als auch zu einer eingeschränkten Synthese und Sekretion von THP im distalen Tubulus. THP könnte als Marker des Energiestoffwechsels und der Syntheseleistung des Nierenmarks bei bestimmten Indikationen die etablierte Urindiagnostik ergänzen.

Schlüsselwörter:

Tamm-Horsfall Protein – Proteinurie – ELISA – β -NAG – α_1 -Mikroglobulin – Albuminurie

Summary:

The Tamm-Horsfall-protein (THP) is a specific renal glycoprotein which is synthesized in the thick ascending limb (TAL) of the loop of Henle. THP is the most abundant protein in normal human urine. The present investigation was focused on the diurnal variation of THP excretion and its relation to other urinary markers. 36 patients of the medical clinic who had normal serum creatinine levels were asked to collect their urine from 8 p.m. to 8 a.m. and from 8 a.m. to 8 p.m. The measurement of the THP values in these specimens by an enzyme immunoassay (ELISA) suggests that the cumbersome and often faulty urine collection over 24 hrs is not necessary. We found no correlation between the excretion of THP and α_1 -microglobulin (α_1 -M), immunoglobulin G (IgG), albumin, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (β -NAG) in the urine. A positive correlation (Spearman $r = 0,78$; $P < 0,0001$) existed between the excretion of THP and creatinine in the urine. An impairment of the renal medulla causes a reduced renal synthesis of guanidinoacetic acid, a precursor of the hepatic creatine formation as well as a lowered synthesis and secretion of THP, in the TAL. THP which is considered to reflect the capacity of synthesis in the renal medulla may complete the established diagnostics of kidney diseases in certain cases.

Keywords:

Tamm-Horsfall Protein – Proteinuria – ELISA – β -NAG – α_1 -Microglobulin – Albuminuria

Einleitung

Igor Tamm und Frank L. Horsfall isolierten 1950 mittels wiederholter Präzipitations- und Dialyse schritte ein später nach ihnen benanntes Glykoprotein, das sie als Inhibitor der Myxovirus bedingten Hämagglutination im Urin charakterisierten [1].

1985 wurde mit Hilfe der Lektinaffinitätschromatographie ein Glykoprotein aus dem Urin von Schwangeren isoliert [2]. Dieses als Uromodulin bezeichnete Glykoprotein erwies sich als spezifischer Ligand für Zytokine wie z.B. Interleukin (L) 1 und 2 und Tumornekrosefaktor (TNF) und scheint eine entscheidende Rolle für die schnelle Elimination dieser Zytokine zu spielen [3].

Mittlerweile ist bekannt, daß das aus 616 Aminosäuren bestehende Proteingerüst von THP und Uromodulin identisch ist. Jedoch ist eine unterschiedliche posttranskriptionale Glykosylierung für die 10fach stärkere immunsuppressive Wirkung des Uromodulins im Vergleich zum THP verantwortlich [4].

Das THP weist ungewöhnliche physikochemische Eigenschaften auf. Eine zunehmende Ionenstärke führt zur Bildung hochmolekularer Aggregate, einer Viskositätserhöhung bis hin zur Gelbildung und Entstehung von hyalinen Harnzylin dern. Aus seiner polymeren Form ($7 \cdot 10^7$ D) wird THP durch Harnstoff, Essigsäure, Guanidin-Hydrochlorid oder durch Sodium dodecyl sulfate (SDS) in seine Monomeren (80–95 kD) überführt.

THP wird (fast) nur in der Niere im aufsteigenden dicken Ast der Henleschen Schleife synthetisiert und sezerniert. THP-spezifische mRNA läßt sich nicht im übrigen Nierengewebe nachweisen [4]. Dieses Glykoprotein weist zwar keine klassische hydrophobe Transmembranregion auf, ist jedoch über eine Phosphatidylinositol-Bindung auch an der Plasmamembran verankert.

Aufgrund der spezifisch renalen Lokalisation wurde dem THP eine physiologische Funktion im Wasser-Elektrolyttransport der Niere zugeschrieben. Die molekulare Identität von THP und dem Na-K-Cl-Symporter gilt jedoch als widerlegt. Wahrscheinlicher spielt THP eine bedeutende Rolle bei der Abwehr von urothelialen Infektionen [5] und bei der Clearance und Bioverfügbarkeit von Zytokinen in der Niere [4, 5].

Unter pathophysiologischen Bedingungen wie bei obstruktiven Harnwegserkrankungen, bei Nephrolithiasis und bei der Nierentransplantatabstoßung lassen sich interstitielle Ablagerungen von THP feststellen. Die ätiopathogenetische Bedeutung von THP für die Nierensteinbildung ist umstritten. Die Koaggregation von THP mit Bence-Jones-Protein stellt jedoch eine pathophysiologische Ursache für das akute Nierenversagen von insbesondere hypovolämischen Patienten mit multiplen Myelom bei einer Kontrastmitteluntersuchung dar [6].

Die Bedeutung von THP für die Differentialdiagnostik von Nierenerkrankungen ist bisher wenig untersucht [7]. In

Spontanurinproben von Diabetikern wurde eine im Vergleich zu Kontrollpersonen verminderde Sekretion von THP gemessen [8]. Bei Typ I-Diabetikern wurde eine erhöhte THP-Ausscheidung berichtet [9]. Nach Zimmerhackl und Kautoren wird nach einer Dauer des Typ I-Diabetes von 10 Jahren, im Stadium der Hyperfiltration, vermehrt THP sezerniert, wohingegen nach 15 Jahren Diabetesdauer die THP-Ausscheidung absinkt [10]. Dies wurde als Hinweis auf eine distaltubuläre Funktionseinschränkung bei noch normaler Albuminurie interpretiert. Bei Diabetikern verringert sich die THP-Ausscheidung mit zunehmendem Nephropathiestadium, ohne daß ein statistischer Zusammenhang mit dem Ausmaß der Albuminurie nachweisbar wäre [11]. Erste Untersuchungen weisen auf eine frühzeitige Abnahme der THP Exkretion bei einer Eklampsie hin. Die Erholung des Energiestoffwechsels des Nierenmarks nach einer Nierentransplantation soll durch sich normalisierende THP-Ausscheidungen angekündigt werden.

Bisher fehlten Angaben über die Abhängigkeit der THP-Ausscheidung von der Tageszeit. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Frage nachgegangen, ob eine aufwendige und oftmals fehlerhafte 24 h-Urinsammlung notwendig ist oder ob man mit hoher Zuverlässigkeit von der Nachturinsammlung auf die 24 h-Exkretion schließen kann. Des weiteren sollte der Zusammenhang der THP-Exkretion mit den Markerproteinen α_1 -Mikroglobulin (α_1 -M), Immunglobulin G (IgG), Albumin, und N-acetyl- β -D-Glucosaminidase (β -NAG) untersucht werden.

Material und Methoden

36 hospitalisierte, nicht immobilisierte Patienten der Medizinischen Klinik mit normalen Serumkreatininwerten nahmen an der Untersuchung teil. Die Urinproben wurden von 20–8 Uhr (Nachturin) und von 8–20 Uhr (Tagesurin) gesammelt. Die THP-Bestimmung wurde mittels eines heterogenen Festphasen-Enzymimmunoassays (Synelisa® Tamm Horsfall, ELIAS, Freiburg) durchgeführt. Die Urinproben wurden 1:100 mit Probenpuffer verdünnt und innerhalb von 14 Tagen untersucht. Die Auswertung erfolgte nach nicht-linearer 6 Punktkalibration mit der Synelisa®-Software. Als vorläufiger Normalbereich werden vom Hersteller THP-Ausscheidungen von >15 mg/24 h Sammelurin angegeben. α_1 -M, IgG und Albumin wurden nephelometrisch (Behring Werke, Marburg) und β -NAG mit der CPR-Methode (Boehringer, Mannheim) am Analysegerät RA1000 (Bayer, Technicon) gemessen.

Statistik: Die Berechnungen wurden mit dem Statistical Analysis Software System durchgeführt (SAS, SAS Institute Inc., Release 6.04, Cary, NC, USA).

Ergebnisse

In Abb. 1 ist die Ausscheidung von THP in der Nacht- und in der Tagsammelperiode in Bezug auf die Gesamtausscheidung dargestellt. Die mittlere prozentuale Ausscheidung beträgt nachts $45 \pm 10\%$ und tagsüber $55 \pm 10\%$ der Ausscheidung in 24 Stunden, wobei keine Abhängigkeit

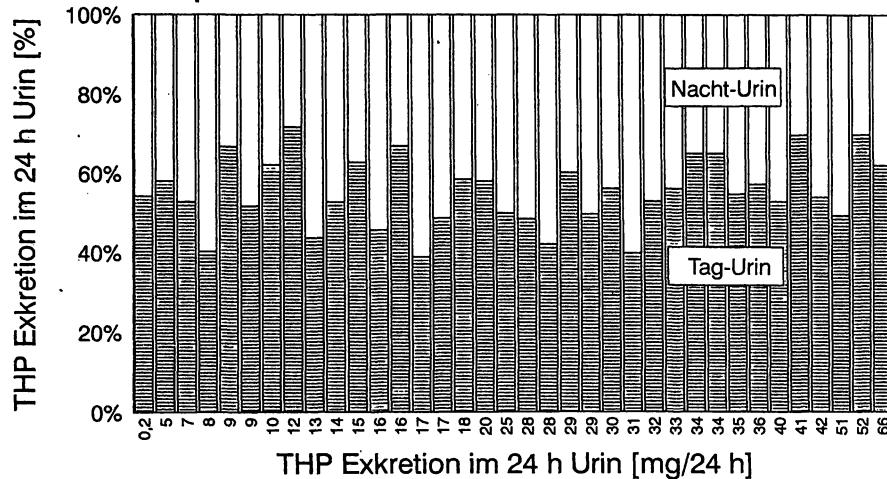


Abb. 1: Prozentualer Anteil von Tamm-Horsfall Protein im Nachturin (20-8 Uhr) im Vergleich zum Tagurin (8-20 Uhr) in Abhängigkeit von der Gesamtausscheidung von THP [mg/24 h].

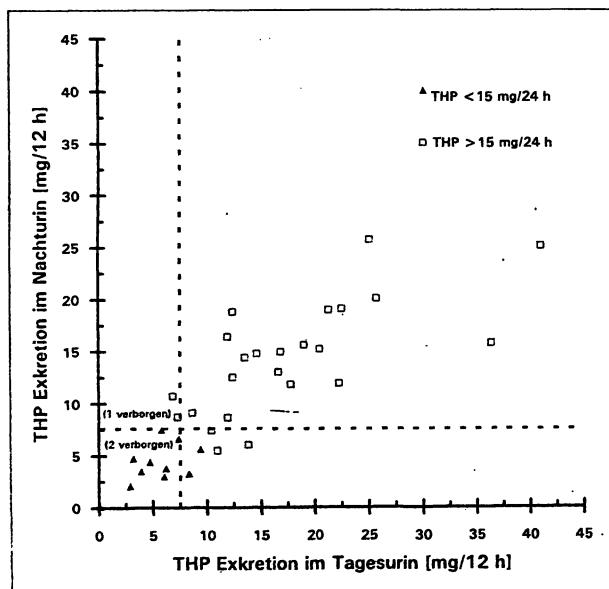


Abb. 2: Zusammenhang der Tamm-Horsfall Protein (THP) Exkretion im Nacht- und Tagurin in Abhängigkeit von der Ausscheidung in 24 Stunden. Die gestrichelte Linie markiert den vorläufigen Normbereich einer THP Ausscheidung von 7,5 mg/12 h.

dieser prozentualen Werte von der Gesamtexkretion von THP in 24 h erkennbar ist.

Die Prüfung der untersuchten Parameter ergab keine Normalverteilung, so daß als Maß für den Zusammenhang zweier Variablen der Spearman Rangkorrelationskoeffizient (r_s) verwendet wurde. Abb. 2 zeigt die Korrelation der THP-Exkretion während des Tages mit der während der Nacht ($r_s = 0,86$; $P < 0,0001$). Bei der Annahme eines

Normbereiches von $>7,5$ mg/12 h werden in dem untersuchten Kollektiv alle Patienten mit einer pathologischen THP-Ausscheidung von ≥ 15 mg/24 h auch im Nachturin als auffällig beurteilt.

Die Korrelationsberechnungen in Tabelle 1 ergaben keinen Zusammenhang zwischen der Exkretion von THP und etablierten Nierenfunktionsparametern wie Albumin, IgG, α_1 -M und β -NAG. Ebenfalls ist THP nicht mit dem Urinvolumen korreliert. Bei Bezug der THP Ausscheidung auf das Urinkreatinin errechnen sich schwache negative Korrelationen mit niedriger statistischer Signifikanz mit der Konzentration von Albumin ($r = -0,33$, $P = 0,05$) und α_1 -M ($r = -0,34$; $P = 0,04$).

Die Kreatininausscheidung in 24 Stunden ist mit der THP Exkretion korreliert ($r = 0,78$, $P = 0,0001$), ebenso die Konzentration von THP mit der von Kreatinin ($r = 0,88$; $P = 0,0001$). Weder die Konzentrationen noch die Ausscheidungen von Albumin, IgG, α_1 -M und β -NAG stehen mit der Kreatininkonzentration oder -ausscheidung in einer statistischen Beziehung.

Diskussion

Mit der Entwicklung zuverlässiger und in Routine-laboratorien anwendbarer Nachweismethoden hat die quantitative Diagnostik verschiedener Urinproteine einen bedeutenden Stellenwert in der nicht-invasiven Beurteilung renaler Erkrankungen erlangt [12]. Eine selektive glomeruläre Proteinurie wird durch den Nachweis einer erhöhten Albuminausscheidung im Urin geführt, wobei der Albuminriegelgrad einen Rückschluß auf eine gestörte Ladungs-(Mikroalbuminurie) oder Größenselektivität (Makroalbuminurie) des glomerulären Basalmembranfilters zuläßt [13]. Der vermehrte IgG Nachweis im Urin spricht für eine nicht-selektive glomeruläre Proteinurie. Die gesteigerte

Tab. 1: Korrelationen der Ausscheidung von Tamm-Horsfall-Protein (THP) mit α_2 -Mikroglobulin (α_2 -M), Albumin, Immunglobulin G (IgG) und β -NAG bei 36 hospitalisierten Patienten im 24 h Urin. Angegeben ist der Spearman Rangkorrelationskoeffizient (r_s) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P).

	Albumin [mg/die]	IgG [mg/die]	α_2 -M [mg/die]	β -NAG [U/die]
THP [mg/die]	$r = -0,12$ $P = 0,50$	$r = 0,02$ $P = 0,90$	$r = 0,08$ $P = 0,65$	$r = -0,10$ $P = 0,54$
β -NAG [U/die]	$r = -0,47$ $P < 0,005$	$r = 0,34$ $P < 0,05$	$r = 0,58$ $P < 0,001$	
α_2 -M [mg/die]	$r = -0,46$ $P < 0,005$	$r = 0,58$ $P < 0,001$		
IgG [mg/die]	$r = -0,21$ $P = 0,21$			

Ausscheidung von quantitativ glomerulär filtrierten Serumproteinen niederen Molekulargewichts wie z.B. α_1 -M (MW 31 kD), tritt bei einer Störung der katabol-reabsorptiven Leistung des proximalen Tubulus auf. Der vermehrte Nachweis des im proximalen Tubulus lysosomal lokalisierten Enzyms β -NAG kann bei akuten tubulotoxischen Einflüssen im Urin geführt werden [14]. In seltenen Fällen wird die Messung von Hämoglobin oder Myoglobin für die Differenzierung einer prärenalen Proteinurie benötigt und der alpha2-Makroglobulin/IgG-Quotient eine postrenale Proteinurie sichern helfen [15].

Das THP ist ein sehr spezifisch im dicken aszendierenden Teil der Henleschen Schleife und im frühdistalen Tubulus im Bereich der Macula densa sezerniertes Glykoprotein, das mit einer Ausscheidung von ca. 50 mg/die (20–200 mg/die) den quantitativ bedeutendsten Anteil der physiologischen Proteinurie darstellt [4]. Über die labordiagnostische Wertigkeit des THP ist bisher wenig bekannt.

Die vorliegenden Untersuchungen an hospitalisierten Patienten haben ergeben, daß keine erhebliche diurnale Variabilität der THP-Exkretion besteht (Abb. 1). In diesem Kollektiv wurden alle Patienten mit THP-Ausscheidungen ≥ 15 mg/24 h auch in der Nachtsammelperiode als pathologisch eingestuft (Abb. 2). Somit kann für klinische Studien die wesentlich praktikablere und exaktere Nachtsammlung eingesetzt werden, zumal die intraindividuelle Schwankung der THP-Ausscheidung [9] erheblich mehr Einfluß auf die THP-Ausscheidung hat als die Tageszeit.

Die Urinausscheidungen von Albumin, β -NAG und α_2 -M sind im untersuchten Kollektiv miteinander hochsignifikant, jedoch erwartungsgemäß schwach korreliert. Dies ist ein Hinweis, daß in diesem Klinikpatientenkollektiv eine akute Noxe oder chronische Nierenerkrankung in der Regel zu einer Beeinträchtigung von Tubuli und Glomerula geführt hat. Zwischen dem Urinvolumen und der Kreatinin Konzentration ($r = -0,45$; $P = 0,005$) bzw. -ausscheidung ($r = 0,22$; $P = 0,19$) ließen sich die bekannten Zusammenhänge zeigen.

Es bestehen keine Korrelationen zwischen der Ausscheidung des im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife synthetisierten THP und den Harnproteinen Albumin, IgG und α_2 -M, die auf eine glomeruläre bzw. proximaltubuläre Schädigung hinweisen. Auch mit dem im proximalen Tubulus lokalisierten lysosomalen Enzym

β -NAG ist keine statistische Beziehung nachweisbar (Tab. 1).

Eine unerwartet enge positive Korrelation von hoher statistischer Signifikanz besteht zwischen der distaltubulären Exkretion von THP und der Kreatininausscheidung im 24 h Sammelurin. Ebenfalls ist eine sehr enge Beziehung zwischen der Konzentration von THP und Kreatinin im Urin nachweisbar. Hochsignifikante Korrelationen ($P < 0,0005$) zwischen Urinkreatinin und Urin-THP bestehen auch bei Typ I ($r = 0,49$; $n = 44$) und Typ II ($r = 0,69$; $n = 68$) Diabetikern und bei gesunden Kontrollpersonen ($r = 0,65$; $n = 45$; unpublizierte Daten). Die Kreatininausscheidung selbst ist abhängig von der renalen Elimination und der Biosynthese, die wiederum von der Muskelmasse beeinflußt wird.

Der enge Zusammenhang zwischen THP und Kreatinin dürfte nicht auf einer parallel zur distaltubulären Sekretion von THP vermehrten tubulären Sekretion von Kreatinin beruhen, da Kreatinin erst bei erhöhten Serumkreatininwerten in einem bedeutenden Ausmaß tubulär sezerniert wird. Das untersuchte Patientenkollektiv hatte jedoch keine erhöhten Serumkreatininwerte. Vielmehr könnte eine Störung im Energietstoffwechsel des Nierenmarkes zu einer verminderten Biosynthese des Kreatin-Prekursors Guanidinoessigsäure (GAA) aus Glycin und Arginin (und/oder Canavanin) im proximalen Tubulus (S1- und S2-Segment) führen [16]. Die verminderte hepatische Methylierung von GAA zu Kreatin hat eine Abnahme des Muskelkreatins und somit eine reduzierte Kreatininbildung und -ausscheidung zur Folge [17]. Diese Hypothese dient auch als Erklärung dafür, daß erst eine Verminderung der intakten Glomerula um 50% zu einem Anstieg des Serumkreatinins führt. Diese pathophysiologischen Überlegungen lassen uns annehmen, eine Nierenmarkfunktionsstörung führt sowohl zu einer eingeschränkten Synthese und Sekretion von THP im distalen Tubulus als auch zu einer verminderten renalen Synthese des Kreatin-Prekursors GAA und somit letztendlich zu einer reduzierten Ausscheidung des muskulär gebildeten Kreatinins.

Diese Beobachtung, die unseres Wissens bisher nicht beschrieben wurde, unterstreicht die Bedeutung von THP als Marker des Energietstoffwechsels und somit der Syntheseleistung des Nierenmarks, die mit der etablierten Urindia- gnostik bisher nicht beurteilt werden kann.

Das von Tamm und Horsfall 1950 [1] beschriebene Glykoprotein könnte dann eine differentialdiagnostische und

prognostische Bedeutung erlangen, wenn es Nierenfunktionsstörungen besser als die etablierten Proteinurie- und Enzymuriemärker erkennen lässt. Eine schnellere Diagnostik könnte durch eine rechtzeitige adäquate therapeutische Intervention klinisch entscheidend sein. Ob die Bestimmung von THP für bestimmte Indikationen eine Bereicherung der nicht-invasiven Nierendiagnostik bedeutet, müssen die zur Zeit durchgeführten Untersuchungen an Diabetikern, Nierentransplantierten, Schwangeren und an Patienten mit Nephrolithiasis und Harnwegsinfekten erweisen.

Schrifttum:

1. Tamm, I., Horsfall, F. L. (1950) Characterisation and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74, 108–114.
2. Muchmore, A., Decker, J. M. (1985) Uromodulin: A unique 85 kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science* 239, 479–481.
3. Hession, C., Decker, J. M., Sherblom, A. P. (1987) Uromodulin (Tamm-Horsfall Glycoprotein): a renal ligand for lymphokines. *Science* 237, 1479–1484.
4. Kumar, S., Muchmore, A. (1990) Tamm-Horsfall protein – uromodulin (1950–1990). *Kidney Int.* 37, 1395–1401.
5. Yu, C. L., Lin, W. M., Liao, T. S., Tsai, C. Y., Sun, K. H., Chen, K. H. (1992) Tamm-Horsfall glycoprotein (THG) purified from normal human pregnancy urine increases phagocytosis, complement receptor expressions and arachidonic acid metabolism of polymorphonuclear neutrophils. *Immunopharmacology* 24 (3), 181–190.
6. Sanders, P. W., Booker, B. B. (1992) Pathobiology of cast nephropathy from human Bence Jones proteins. *J. Clin. Invest.* 89 (2), 630–639.
7. Janssens, P. M., Kornaat, N., Tielemans, R., Monnens, L. A., Willems, J. L. (1992) Localizing the site of hematuria by immunocytochemical staining of erythrocytes in urine. *Clin. Chem.* 38 (2), 216–222.
8. Bernard, A. M., Ouled, A. A., Lauwerys, R. R., Lambert, A., Vandeleene, B. (1987) Pronounced decrease of Tamm-Horsfall proteinuria in diabetics. *Clin. Chem.* 33 (7), 1264.
9. Torffvit, O., Agardh, C. D., Kjellson, B., Wieslander, J. (1992) Tubular secretion of Tamm-Horsfall protein in type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus using a simplified enzyme linked immunoassay. *Clin. Chem.* 38 (1–2), 31–41.
10. Zimmerhackl, L. B., Pfleiderer, S., Kinne, R., Manz, F., Schuler, G., Brandis, M. (1991) Tamm-Horsfall-Protein excretion as a marker of ascending limb transport indicates early renal tubular damage in diabetes mellitus type I. *J. Diabet. Compl.* 5 (2–3), 112–114.
11. Martin, T., Hasslacher, Ch., Kempe, H. P., Wahl, P., Ziegler, R. (1993) Tamm-Horsfall-Protein-Ausscheidung im Urin als Marker distal tubulärer Dysfunktion bei Diabetes mellitus. *Diabetes und Stoffwechsel* 2 (Sonderheft 2), 162 (Abs.).
12. Boege, F., Schmidt-Rotte, H., Scherberich, J. E. (1993) Harnwegsdiagnostik in der ärztlichen Praxis. *Dtsch. Ärzteblatt* 90 (22), 1185–1192.
13. Hasslacher, Ch., Müller, E. (1989) Frühdiagnose der diabetischen Nephropathie. *Lab. Med.* 13, 231–234.
14. Werle, E., Bostedt, A., Fiehn, W., Hasslacher, Ch. (1991) Excretion of beta-N-acetylglucosaminidase in urine in type I and type II diabetic patients with and without nephropathy. *Wien. Klin. Wochenschr.* 109, 59–62.
15. Hofmann W., Rossmueller B., Guder W. G., Edel H. H. (1992) A new strategy for characterizing proteinuria and haematuria from a single pattern of defined proteins in urine. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 30, 707–712.
16. Takeda, M., Koide, H., Jung, Y., Endon, H. (1992) Intranephron distribution of glycine-aminotransferase activity in rats. *Renal Physiol. Biochem.* 15 (3–4), 113–118.
17. Narayanan, S., Appleton, H. D. (1980) Creatinine: a review. *Clin. Chem.* 26, 1119–1126.

Danksagung:

Die Autoren danken Frau Mechthild Henkels und Frau Marion Künstler für die ausgezeichnete technische Assistenz.

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. Egon Werle, Prof. Dr. med. Walter Fiehn,
Zentrallabor, Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik,
Bergheimerstr. 58, 69115 Heidelberg

Prof. Dr. med. Christoph Hasslacher,
Dr. med. Hans Peter Kempe, Thomas Martin,
Abt. für Endokrinologie und Stoffwechsel,
Medizinische Universitätsklinik, Bergheimerstr. 58,
69115 Heidelberg