

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 18, 1980, pp. 615–619

## Der Einfluß von Hämolyse auf Dichtemessungen an Kapillarblutplasma mittels der Biegeschwingermethode<sup>1)</sup>

Von *H. Hinghofer-Szalkay* und *H. Wurm*  
Unter technischer Mitarbeit von *V. Bauer* und *E. Zierler*

Aus dem Physiologischen Institut (Vorstand: Prof. Dr. Th. Kenner) der Universität Graz

(Eingegangen am 26. November 1979/2. Juni 1980)

**Zusammenfassung:** Ausgehend von dem Problem allfälliger Hämolyse bei der Gewinnung von Kapillarblut, untersuchen wir den Einfluß der Hämoglobinkonzentration auf die Dichte des Plasmas. Zur Dichtemessung bedienten wir uns der Biegeschwingermethode.

Eine Steigerung des Hämoglobingehaltes um 0,5 g/l führt im Mittel zu einem Dichteanstieg um 0,1 g/l. In über 70% der von uns geprüften Kapillarblutplasmen wurden diese Werte nicht überschritten.

Insgesamt ergibt sich, daß der Hämolyseeffekt berücksichtigt werden muß, wenn die Anforderungen an die Absolutgenauigkeit der Plasmadichtemessungen über eine Grenze von etwa 0,5 g/l in der Dichte, entsprechend 2–3% der Plasmaeiweißkonzentration, hinausgehen.

*The influence of hemolysis on capillary blood plasma density measurements using the mechanical oscillator technique*

**Summary:** Sampling of capillary blood often yields slightly hemolytic plasma. We investigated the influence of hemolysis on plasma density using the mechanical oscillator technique.

Plasma density rose by approximately 0.1 g/l when the hemoglobin content increased by 0.5 g/l. These values correspond to 0.3% hemolysis and were not exceeded in more than 70% of the investigated capillary plasma samples.

In general, hemolysis must be taken into account if plasma density measurements are to be made with an accuracy better than 0.5 g/l, which corresponds to 2–3% of the plasma protein content.

### Einführung

In den letzten Jahren wurde die Möglichkeit untersucht, die Dichte biologischer Flüssigkeiten mit Geräten zu bestimmen, welche auf der Grundlage des Biegeschwingerprinzips arbeiten (4–11). Es könnte gezeigt werden, daß die mittels dieser Methode gewonnenen Dichtewerte von Blutserum bzw. Plasma eng mit der entsprechenden Proteinkonzentration (7) und dem kolloidosmotischen Druck (11) korreliert sind.

Die Verfügbarkeit einer Miniaturversion des erwähnten Meßsystems erlaubt uns nun Messungen an Probenvolumina von 80 µl. Das legte die Anwendung zu Dichtebestimmungen an Kapillarblutplasma nahe.

Bedingt durch die Technik der Gewinnung von Kapillarblut ist allerdings eine, wenn auch nur geringgradige,

Hämolyse und dadurch hervorgerufene Verfälschung der Plasmadichte nicht auszuschließen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, folgende Fragen zu überprüfen:

1. Wie verhält sich der Hämoglobingehalt in hämolytischem Plasma zu dessen Dichte?
2. Wie hoch ist der Hämolysegrad, welcher bei gegebener Abnahmetechnik zu erwarten ist? und
3. Wie groß ist der Fehler, der sich dadurch in der Plasmadichtemessung ergibt?

### Material und Methoden

#### Blutabnahme

10 Probanden (Alter: 18 bis 23 Jahre, 7 Männer, 3 Frauen, vgl. Tabelle 1) wurden im Sitzen aus einer Kubitalvene insgesamt 30 ml Blut zu gleichen Teilen in 2 heparinisierte, sterile Kunststoffprouvetten abgenommen, während auf den Oberarm mittels Blutdruckmanschette ein Staudruck von 40 mm Hg einwirkte. Die Blutabnahmen erfolgten vormittags zwischen 9 und 10 Uhr, die Probanden waren nüchtern oder hatten ein leichtes Frühstück

<sup>1)</sup> Unterstützt durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

Tab. 1. Daten zur Untersuchung der Beziehung zwischen Dichte und spektrophotometrisch bestimmtem Hämoglobingehalt unter Verwendung von Venenblut. Der Korrelationskoeffizient zwischen Dichte und Hämoglobinkonzentration ist in allen 10 Fällen praktisch 1. Näheres siehe unter Ergebnisse.

| Proband              | Geschlecht | Zahl der Proben | Blut-Hb (g/l) | Plasma-Hb (g/l) | Dichteanstieg (g/l) pro g/l Hämoglobin | Plasmadichte (g/l) | Blutdichte (g/l) | Hämatokrit |
|----------------------|------------|-----------------|---------------|-----------------|--|--------------------|------------------|------------|
| 1                    | ♂          | 7               | 143,5         | 0,31            | 0,215                                  | 1021,04            | 1051,84          | 0,453      |
| 2                    | ♀          | 7               | 160,5         | 0,43            | 0,172                                  | 1019,64            | 1047,18          | 0,410      |
| 3                    | ♂          | 11              | 139,9         | 0,35            | 0,210                                  | 1020,94            | 1048,71          | 0,467      |
| 4                    | ♀          | 12              | 122,2         | 0,31            | 0,213                                  | 1019,52            | 1045,24          | 0,394      |
| 5                    | ♂          | 12              | 168,2         | 0,13            | 0,168                                  | 1021,54            | 1049,92          | 0,414      |
| 6                    | ♀          | 12              | 133,6         | 0,40            | 0,210                                  | 1020,69            | 1048,69          | 0,410      |
| 7                    | ♂          | 12              | 144,3         | 0,39            | 0,210                                  | 1020,89            | 1051,27          | 0,460      |
| 8                    | ♂          | 13              | 123,8         | 0,42            | 0,237                                  | 1022,07            | 1051,39          | 0,438      |
| 9                    | ♂          | 12              | 158,1         | 0,41            | 0,196                                  | 1021,51            | 1052,40          | 0,478      |
| 10                   | ♂          | 12              | 142,1         | 0,42            | 0,213                                  | 1020,23            | 1050,27          | 0,435      |
| Mittelwerte          |            |                 | 143,6         | 0,36            | 0,204                                  | 1020,81            | 1049,69          | 0,436      |
| Standardabweichungen |            |                 | 15,2          | 0,09            | 0,021                                  | 0,82               | 2,26             | 0,028      |

zu sich genommen. Jedes der beiden Kunststoffröhrchen enthielt 150 USP E Heparin, so daß die Heparinkonzentration im Blut 10 Einheiten pro Milliliter betrug.

Während das Blut anschließend nach untenstehender Vorgangsweise verarbeitet wurde, unterzogen sich die Probanden Kreislaufuntersuchungen am Kipptisch. Dabei wurde mehrmals Blut aus dem Ohrläppchen entnommen, um den Einfluß orthostatischer Reize auf das Blutplasma, insbesondere dessen Dichte, zu bestimmen.

#### Meßproben

Die Kapillarblutproben aus dem Ohrläppchen wurden in Kunststoffröhrchen von 70 µl Inhalt und 95 mm Länge aufgesaugt, welche jeweils 10 USP E Heparinlösung der Dichte 1020 g/l (37 °C) enthielten. Pro Abnahmezeitpunkt wurden zwei Röhrchen gefüllt. Die an einem Ende verschlossenen Röhrchen wurden anschließend für 50 Minuten bei 20 °C und 5000 U/min zentrifugiert (Sigma-K 2, Fa. Christ). Dann wurden sie an der Zell-Plasma-Grenze aufgeschnitten, die Plasmaproben aus jeweils zwei entsprechenden Röhrchen mittels Tuberkulinspritzen in Kunststoffansätze aufgesaugt und der Dichtemessung sowie der kolorimetrischen Abschätzung des Hämoglobingehaltes zugeführt.

Für diesen Zweck wurde das zuvor gewonnene venöse Vollblut in der folgenden Weise verwendet: Ein Anteil des heparinisierten Blutes wurde zur Bestimmung von Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration entnommen. Die Hämatokritbestimmung erfolgte jeweils sechsfach mittels einer Adams-Readacrit Mikrozentrifuge unter Verwendung von Pre-Cal Hämatokritröhrchen. Die Werte in Tabelle 1 (letzte Spalte) entsprechen dem jeweiligen Mittelwert aus den einzelnen Ablesewerten.

Ein weiterer Anteil des Blutes wurde mittels Ultraschall (100 Watt Leistung, Beschallungsdauer 1 Minute) mittels eines Gerätes der Type Labsonic 1510 (Fa. Braun/Melsungen) vollständig hämolytisch.

Das restliche Blut wurde zwecks Gewinnung von Plasma zentrifugiert. Ein Anteil des Plasmas diente zur Herstellung hämolytischer Plasmaproben. Dazu wurden einer Reihe von Plasmen steigende Mengen mit Plasma verdünnten hämolytischen Blutes zugefügt. Dann wurden jeweils sowohl Dichte- als auch Hämoglobingehalt gemessen. Zusätzlich zu einigen Proben mit geringgradigem Hämoglobingehalt (bis 4 g/l) wurden Mischungen von hämolytisiertem Blut und Plasma im Verhältnis 1:9 sowie 1:1 hergestellt, um die Linearität der Beziehung zwischen Dichte und Hämoglobinkonzentration genauer überprüfen zu können.

#### Messung der Dichte

Alle Dichtemessungen erfolgten unter Verwendung einer Meßzelle DMA 602 MW (Fa. Paar KG, Graz/Österreich) bei 37,0 °C.

Die Bestimmung der Dichte erfolgt nach dem Biegeschwingerprinzip, wobei die Probe in einen Glasrohrschwinger eingebracht und ihre Dichte aus der Oszillationsfrequenz des Schwingkörpers mit einer Genauigkeit von 10<sup>-2</sup> g/l ermittelt wird. Genauere Beschreibungen von Apparatur und Meßvorgang finden sich in vorangegangenen Publikationen (5, 7-10).

Die gefundenen Werte waren bei Wiederholung der Messung an denselben Proben für einen Zeitraum bis zu 12 Stunden auf 10<sup>-2</sup> g/l reproduzierbar. Ein für die Messung ausreichendes Probenvolumen beträgt knapp 0,1 ml.

#### Messung der Hämoglobinkonzentration

Diese erfolgte mittels eines Zeiss-Spektralphotometers PMQ II nach dem von *Drabkin & Austin* (2) angegebenen Verfahren unter Verwendung des Reagens von Hoffmann-La Roche (Art. Nr. 1015). Der Hämoglobingehalt im Vollblut wurde bestimmt, indem 5 Minuten nach Einblasen von 20 µl Blut in 5 ml Reagens die Absorption bei 540 nm gegen das Reagens abgelesen wurde. Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration in (reinem und hämolytisch gemachtem) Plasma wurden 0,5 ml Probe mit 2 ml Reagens durchmischt und die Absorption bei 540 und 680 nm gemessen. Die Berechnung der Hämoglobinwerte erfolgte in beiden Fällen unter Berücksichtigung von Molekulargewicht und Absorptionskoeffizienten nach den in (12) angegebenen Formeln.

Zur Abschätzung des Hämolysegrades in den Kapillarplasma-proben wurden zum Vergleich die hämolytischen Plasmen aus Venenblut herangezogen, deren Hämoglobingehalt nach der eben beschriebenen Vermessung bekannt war. Die Kapillarplasmen wurden kolorimetrisch gegen einen weißen Hintergrund untersucht. Sie befanden sich dabei wie die Vergleichsplasmen derselben Versuchsperson in Kunststoffansätzen gleichen Innen- und Außendurchmessers. Eine direkte spektralphotometrische Messung an Kapillarblutplasma konnte auf Grund des zu geringen Plasmavolumens nicht vorgenommen werden. Die Abstufung der (spektrophotometrisch bestimmten) Hämoglobinwerte in der Vergleichsreihe betrug, je nach Ansatz, 0,1 bis 0,3 g/l. Bezogen auf die Erfassung veränderter Hämoglobinkonzentrationen als einzige Variable kann die Auflösung der beiden Methoden (Biegeschwingermethode bzw. Photometrie) als etwa gleich groß betrachtet werden (vgl. Ergebnisse).

#### Ergebnisse

##### Venenblut

In Tabelle 1 finden sich die wesentlichsten Zahlen zum Vergleich der Dichte mit den Hämoglobinwerten. Die Zahl der Proben (dritte Spalte) bedeutet die Anzahl der

pro Versuchsperson aus deren Venenblut hergestellten und untersuchten Plasma-Hämolyse-Gemische und schließt natives Plasma und Vollblut ein. Konzentrations- und Dichtewerte sind in g/l angegeben, letztere gelten für 37 °C Meßtemperatur. Man erkennt, daß eine Zunahme der Hämoglobinkonzentration im Plasma um 1 g/l im Mittel eine Dichtezunahme von  $0,204 \pm 0,021$  (SD) g/l bewirkte. Die linearen Korrelationskoeffizienten der Beziehungen Dichte gegen Hämoglobinkonzentration lagen ausnahmslos über 0,99. Zur Berechnung wurden jeweils alle aus dem Blut eines Probanden gewonnenen Wertepaare (Zahl der Proben in Tabelle 1) herangezogen.

An Hand eines Beispiels (Nr. 9) ist in Abbildung 1 der Zusammenhang zwischen gemessener Dichte und Hämoglobinkonzentration gezeigt. Der Bereich der niedrigen Hb-Konzentrationen ist als Inset vergrößert dargestellt.

Die Hämoglobinkonzentrationen im Plasma des Venenblutes betragen im Mittel 0,36 g/l. In einigen Fällen wurde die obere Grenze des Normalbereiches von 0,4 g/l (12) geringfügig überschritten (Tabelle 1, Spalte 5).

Die Plasmadichtewerte lassen auf Eiweißkonzentrationen zwischen 71,2 g/l (Nr. 4) und 80,4 g/l (Nr. 8), im Mittel 75,9 g/l, schließen (7), wobei beachtet werden muß, daß es sich dabei nicht um Liegewerte handelt und die Proteinkonzentration im Stehen bzw. Sitzen erhöht ist (3, 6).

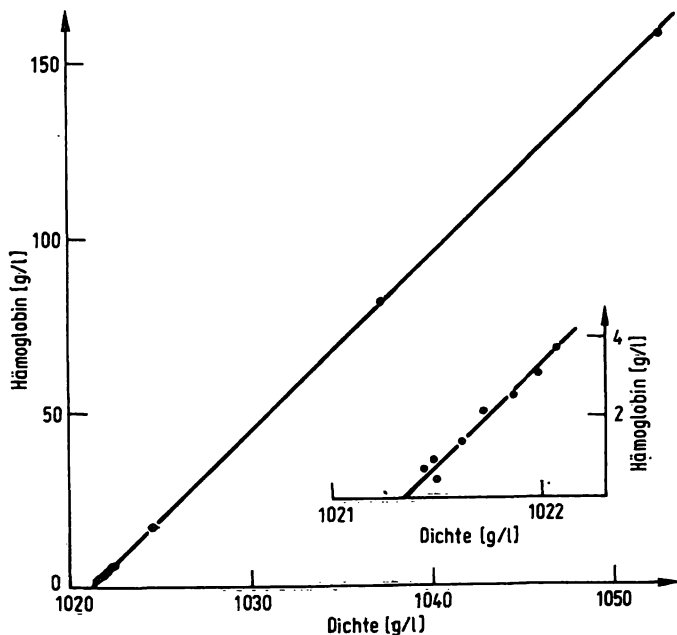


Abb. 1. Zusammenhang zwischen Hämoglobinkonzentration (Hb, in g/l) und Dichte bei 37 °C (Dichte, in g/l) in Vollblut (Meßpunkt mit der höchsten Hämoglobinkonzentration, rechts oben), dazugehörigem Plasma (Meßpunkt mit der niedrigsten Hämoglobinkonzentration, links unten) und dazugehörigen Plasmaproben, die durch Beimengung verschiedener Volumina hämolysierten Vollblutes künstlich hämolytisch gemacht wurden.  $N = 12$ ,  $r = 1$ . Rechts im Bild ist der Bereich kleiner Hämoglobinkonzentrationen um den Faktor 10 vergrößert dargestellt. Man erkennt, daß auch hier die Beziehung zwischen den beiden Zustandsvariablen als linear betrachtet werden kann. (Proband Nr. 9).

Die Blut-Hämoglobingehalte umschlossen einen Bereich zwischen 122 und 168 g/l; die Hämatokritwerte sind zu den Blutdichtewerten signifikant linear korreliert, wie zu erwarten (5), und lagen zwischen 0,39 und 0,48.

### Kapillarblut

Es wurden insgesamt 66 Kapillarblutplasmen, 4 bis 12 pro Versuchsperson, nach dem in der Methodik beschriebenen Verfahren auf ihren Hämolysegrad hin untersucht. In 7 Fällen (ca. 10%) konnte keine Hämolyse festgestellt werden; im Mittel jedoch zeigte sich eine Steigerung der Hb-Konzentration über den Nativplasmawert um 0,38 g/l, das entspricht ziemlich genau einer Verdopplung des durchschnittlichen Plasma-Leerwertes von 0,36 g/l (vgl. Tabelle 1) oder einem Hämolysegrad von 0,26%, bezogen auf den Gesamt-Hämoglobingehalt des Blutes. Die statistische Verteilung des Hämolysegrades der 66 untersuchten Kapillarblutplasmen zeigt Abbildung 2. Ein Hämoglobingehalt von mehr als 1 g/l über dem Plasmawert (Hämolysegrad über 0,7%) lag bei 6 Proben vor; der höchste betrug 1,5 g/l über dem Plasma-Grundwert und rief dementsprechend eine Erhöhung der Plasmadichte um 0,3 g/l hervor.

Entsprechend der Relation zur Dichte bedeuten diese Befunde eine im Schnitt um 0,076 g/l erhöhte Dichteanzeige, das sind 7–8 digits des auf  $10^{-2}$  g/l ausgelegten displays der von uns verwendeten Auswerteeinheit. Die Unsicherheit bei der geschilderten kolorimetrischen Vergleichsmessung beträgt dabei 0,1–0,2 g/l Hb, entsprechend 0,02–0,04 g/l Dichte.

Bei Parallelmessungen an Kapillarblutplasma von Proben, welche zur gleichen Zeit von beiden Ohrläppchen abgenommen wurden, konnte keine Beziehung zwischen Abnahmezeitpunkt und Hämolysegrad festgestellt werden. Darüber hinaus zeigte sich, daß — nach Abzug des hämolysebedingten Fehlbetrags der Dichte — der verbleibende mittlere Unterschied in der Dichte zwischen den von links und rechts stammenden Proben 0,07 g/l

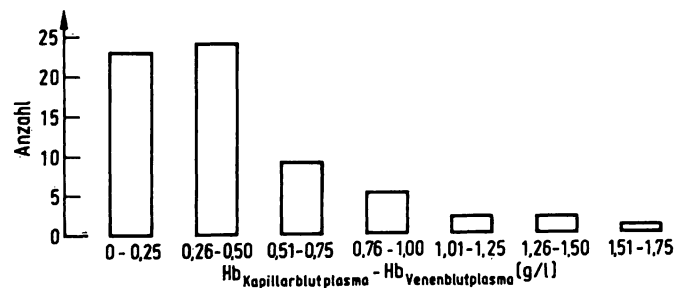


Abb. 2. Steigerung des Hämoglobingehaltes, bezogen auf den Kontrollwert, in 66 aus Kapillarblut genommenen Plasmaproben. Aufgezeichnet ist die Differenz aus Hämoglobinkonzentration in der Probe und Hämoglobinkonzentration im nichthämolytischen, aus Venenblut gewonnen Plasma derselben Versuchsperson. In über 70% der Proben wurde ein Hämoglobingehalt von 0,5 g/l über dem Leerwert nicht überschritten. Der höchste Betrag war 1,55 g/l über dem Leerwert (vgl. Text). Ordinate: Zahl der beobachteten Fälle.

beträgt und 0,1 g/l nur in 20% der Fälle überschreitet. Im Fall unterschiedlicher Dichte zeigte sich keine Seitenpräferenz, d.h. in 50% der Fälle waren die rechtsseitigen, in 50% die linksseitigen Plasmaproben dichter, und zwar durchschnittlich um denselben Betrag, nämlich 0,07 g/l. Diese Parallelmessungen wurden bei 3 Versuchspersonen durchgeführt.

### Diskussion

Die Eignung der Biegeschwingermethode (10) zur Dichtemessung an Körperflüssigkeiten wurde von unserer Arbeitsgruppe bereits eingehend untersucht und mehrfach publiziert (4–9, 11). Im speziellen Fall von Messungen an Kapillarblutplasma stellte sich die Frage nach dem Einfluß von Hämolyse, die auf Grund der hohen Dichte des Erythrocyteninhalts von 1090 bis 1100 g/l (4) das Meßergebnis verfälscht. Als Indikator für den Hämolysegrad diente uns die Hämoglobinkonzentration der jeweiligen Probe.

Wie zu erwarten, zeigte sich eine streng lineare Beziehung zwischen Dichte und Hämoglobinkonzentration im Plasma. Ihr Betrag, etwa 0,2 g/l in der Dichte pro Gramm Hämoglobin im Liter, war aus der Differenz von Blut- und Plasmadichte von etwa 30 g/l, bei einem Hämoglobingehalt im Blut von rund 150 g/l, im vorhinein abschätzbar. Es war aber noch nicht untersucht worden, ob diese lineare Relation auch im Fall der sehr niedrigen Hämoglobinkonzentrationen gilt, wie sie in Kapillarblutplasma vorkommen. Einflüsse der komplexen Vorgänge bei der Hämoglobinbindung an Plasmaeiweiß auf das spezifische Volumen der Probe und somit auf deren Dichteverhalten konnten nicht ausgeschlossen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen bei der gegebenen Auflösung unserer Dichtemessungen von  $10^{-2}$  g/l keinen solchen Einfluß auf die Linearität der Beziehung zwischen Dichte und Hämoglobinkonzentration erkennen.

Daher kann bei bekanntem Hämoglobingehalt einer hämolytischen Plasmaprobe in einfacher Weise auf den Dichtewert rückgerechnet werden, der ohne Hämolyse zu finden wäre.

Dabei ist noch die Hämoglobinkonzentration des nicht-hämolytischen Plasmas zu berücksichtigen. Sie liegt in den meisten Fällen zwischen 0,3 und 0,4 g/l (siehe Tabelle 1). Bei willkürlicher Annahme eines Wertes von 0,35 g/l Hämoglobin im (nicht-hämolytischen) Plasma ergibt sich ein möglicher Fehler der Dichteberechnung, der nur selten über 0,02 g/l hinausgeht und damit praktisch vernachlässigbar ist.

Findet man also beispielsweise in einer Plasmaprobe eine Hämoglobinkonzentration von 0,7 g/l, was etwa dem Mittelwert unserer 66 Kapillarplasmen entspricht, so kann man rechnen, daß die Hämolyse eine Steigerung

der Dichte um 0,14–0,07, also um 0,07 g/l bewirkt hat (0,1 g/l Hb . . . 0,02 g/l Dichte).

In unseren Untersuchungen zur Wirkung von Orthostase auf die Blutzusammensetzung (6) fanden wir Dichteänderungen im Plasma bis über 3 g/l. Das entspricht Eiweißkonzentrationsänderungen von etwa 10 g/l oder 15% des Absolutwertes. Der durchschnittliche Dichteanstieg der Plasmaproben durch Hämolyse betrug 0,07 bis 0,08 g/l, das sind weniger als 3% des Ausmaßes der Orthostaseeinflüsse auf die Plasmadichte. Als Extrembeispiel sei die Probe mit 1,5 g/l Hb-Konzentration über dem Plasma-Leerwert (siehe Ergebnisse) herangezogen. Ihre Dichte war durch Hämolyse um 0,3 g/l erhöht, entsprechend 10% des Gesamteffekts der Umlagerung des Körpers auf die Dichte des Plasmas.

Die seitenvergleichenden Parallelmessungen (vgl. Ergebnisse) zeigen erstens, daß die hämolysebedingten Fehler bei Dichtemessungen unter Verwendung von Kapillarblutplasma etwa gleich groß sind wie die nicht hämolysebedingten, und zweitens, daß ihr Absolutbetrag in der Mehrzahl der Fälle im Bereich von unter 0,1 g/l, entsprechend etwa 0,4 g/l Eiweißkonzentration (7) oder rund 0,6% des Meßwerts, liegen.

Zusammenfassend resultiert aus unseren Befunden, daß der Einfluß von Hämolyse auf die Dichte von Kapillarplasmaproben bei der üblichen Blutabnahmetechnik aus dem Ohr läppchen nur dann berücksichtigt zu werden braucht, wenn es auf Plasmadichtemessungen hoher Genauigkeit ankommt. Eine Abschätzung des Plasmaeiweißgehaltes aus der Dichte (7), die nach unserer Methode auch aus Kapillarblutplasma möglich ist, ohne Berücksichtigung der Hämoglobinkonzentration hätte im diskutierten Extremfall (1,5 g/l Hb) einen Fehler von nur 1 g Protein pro Liter Plasma, also etwa 1,4% des Meßwertes, bedingt, da einer Änderung der Dichte um 1 g/l eine solche der Eiweißkonzentration um etwa 3,6 g/l entspricht. Der mittlere hämolysebedingte Fehler in unseren 66 Proben würde die Berechnung der Eiweißkonzentration im Plasma um weniger als 0,3 g/l, d.h. um etwa 0,4% des Meßwertes, stören und kann damit als unerheblich für die routinemäßige Plasmaeiweißbestimmung aus der Dichte betrachtet werden. Viel gravierender sind in diesem Zusammenhang Einflüsse der Körperlage auf den Meßwert (3, 6). Anders ist es bei der Erfassung des Zeitverlaufs relativ geringgradiger transkapillärer Flüssigkeitsverschiebungen der Plasmadichte, die in der Größenordnung von wenigen Zehnteln g/l liegen. In solchen Fällen würde verschieden stark ausgeprägte Hämolyse in den einzelnen Meßproben die resultierenden Plasmadichtekurven bereits merklich stören, weshalb hier die in der Methodik beschriebenen Korrekturen der Meßwerte vorzunehmen sind.

## Literatur

1. Dill, D. B. & Costill, D. L. (1974), *J. Appl. Physiol.* **37**, 247–248.
2. Drabkin, D. L. & Austin, J. H. (1935), *J. Bio.Chem.* **112**, 51–65.
3. Hagan, R. D., Diaz, F. J. & Horvath, S. M. (1978), *J. Appl. Physiol.* **45**, 414–418.
4. Hinghofer-Szalkay, H. & Holzer, H. (1979), *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **17**, 613–618.
5. Hinghofer-Szalkay, H., Kenner, Th., Leopold, H. & Holzer, H. (1979), *Klin. Wochenschr.* **57**, 1163–1167.
6. Hinghofer-Szalkay, H., Kenner, Th. & Moser, M. (1979), *Pflügers Arch.* **382** S, R 34.
7. Holzer, H., Leopold, H., Hinghofer-Szalkay, H., Stübchen-Kirchner, H. & Maurer, E. (1978), *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **16**, 391–395.
8. Kenner, Th., Leopold, H. & Hinghofer-Szalkay, H. (1977), *Pflügers Arch.* **370**, 25–29.
9. Kenner, Th., Hinghofer-Szalkay, H. & Leopold, H. (1978), *Cardiovasc. Pulm. Dyn.* **71**, 283–290.
10. Kratky, O., Leopold, H. & Stabinger, H. (1969), *Z. Angew. Physik* **27**, 273–277.
11. Moser, M., Hinghofer-Szalkay, H., Kenner, Th. & Holzer, H. (1979), *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **18**, 233–236.
12. Richterich, R. (1971), *Klinische Chemie, Theorie und Praxis*, 3. Aufl. S. Karger, Zürich.

Dr. Helmut Hinghofer-Szalkay  
Dr. Helmut Wurm  
Physiologisches Institut  
der Universität  
A-8010 Graz  
Harrachgasse 21

