

Bilimsel Taramalar

Tiyamin

Nilgün SÜMER (*)
Gülberk YILDIRIM (*)

Özet: Tiyamin (B₁) vitamini) karbohidrat, protein, lipid ve nükleotid metabolizmasında görev yapan birçok enzimin kofaktörü olan esaslı bir vitamindir. Eksikliğinde kas zayıflığı ve kas yorgunluğu, koordinasyon bozukluğu, periferik nörit, mental konfüzyon, apati, kalp hızında düşme, kalp yetmezliği, kalp büyümesi ve ödem ile karakterize bir nörolojik hastalık olan «beriberi» ortaya çıkar. Bu makalede tiyaminin biyokimyası, fizyolojik işlevleri, yetmezlik belirtileri ve tiyamin eksikliğinin biyokimyasal olarak tesbitinde kullanılan yöntemler tartışılmıştır.

THIAMINE

Summary : Thiamine (vitamin B₁) is an essential vitamin in human nutrition which has a major role as the co-factor of a number of enzymes involved in carbohydrate, protein, lipid and nucleotide metabolism. Thiamine deficiency generally resulted in «beriberi», a neurological disease which has symptoms as muscle weakness and wasting, lack of coordination, peripheral neuritis, mental confusion, apathy low heart rate, cardiac failure, heart enlargement and edema. In this review, the biochemistry of thiamine, its physiological functions, deficiency syndromes and the methods for the biochemical determination of thiamine deficiency are discussed.

Key words : Thiamine, thiamine pyrophosphate, thiamine deficiency.

(*) H. Ü. Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hacettepe — ANKARA.

GİRİŞ :

B kompleks vitaminlerinden biri olan tiyamin (B₁ vitamini) hemen hemen bütün canlı organizmalarda bulunabilen, omurgalıların birçoğu ve bazı mikroorganizmalar için esansiyel olan bir bileşiktir (1).

İlk kez 1897 yılında Eijkman, kabukları çıkartılmış pirinçle beslenen tavuklarda denge kaybı ve felç gibi sinir sistemi bozuklukları olduğunu fark etmiş; 1901'de Grijns bu hastalığın besin kaynaklı olduğunu bulmuştur. 1912 yılında Funk bundan sorumlu olan bileşiği pirinç kabuklarından izole etmiş ve 1927 yıllarında Jansen ve Donath tiyamini tam olarak izole etmeyi başarmışlardır (1-3). Williams'ın vi-

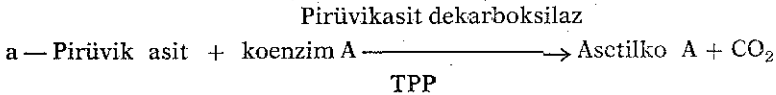
taminin kimyasal yapısını açıklamasından sonra (1936 yılında) tiyaminin beslenmeadaki rolü ve biyokimyasal fonksiyonları zamanla açıklığa kavuşmuştur (4).

BIYOKİMYASI :

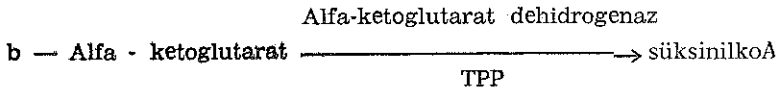
Pirimidin ve tiyazol halkalarını içeren tiyamin, insan dokularında aktif formu olan tiyamin pirofosfat (TPP) şeklinde bulunur (3,5).

Tiyamin pirofosfat, karbohidrat metabolizmasında rol oynayan karboksilaz, pirüvik dehidrogenaz, alfa-ketoglutarik dehidrogenaz, transketolaz, fosfoketolaz gibi birçok önemli enzimin koenzimidir (1). Kofaktör olarak görev aldığı başlıca biyokimyasal tepkimeleri şöyle özetleyebiliriz (4,6):

1 — Alfa - ketoasitlerin oksida tif dekarboksilasyonları



TPP bu tepkimede pirüvatın aldehit grubunu üzerine alır ve asetilko A'ya transfer eder.

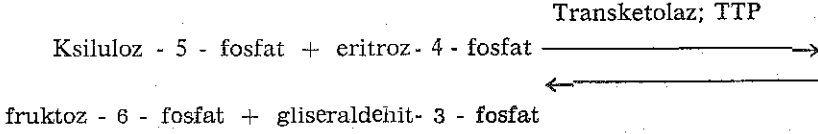
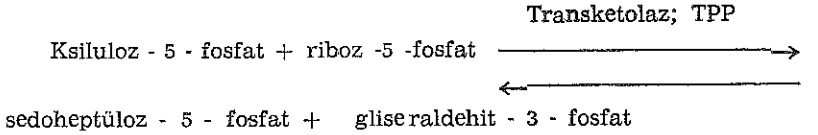


Bu reaksiyonda da tiyamin, aldehit grubunu transfer eder.

c — Dallı zincirli aminoasitlerin katabolizması: valin, izolösin ve lösin gibi dallı zincirli aminoasitlerin yıkımındaki oksidatif dekarboksilasyon basamağında görev yapan kompleks enzim sisteminin tiyamin pirofosfata gereksinimi vardır.

2 — Transketolaz reaksiyonu

Başlıca eritrositlerde bulunan transketolaz enzimi TPP'ye bağımlı bir enzimdir ve heksozmonofosfat şantının aşağıdaki tepkimelerini katalizler:



Tiyamin eksikliğinde eritrosit transketolaz aktivitesinin düştüğü gözlenmiştir.

3 — Oksidatif olmayan dekarboksilasyonlar

Genellikle bira mayasında ve *E. coli* gibi mikroorganizmalarda piruvatın asetaldehite dönüştüğü reaksiyonlardır ve TPP gerektirirler. Sonuçta aldehit veya aldehitin oksidatif formları (açiloinler) meydana gelir.

4 — Fosfoketolaz reaksiyonları (fosforoklastik parçalanma)

Bu reaksiyonlarda ketozların açıl grupları açil fosfatlara dönüşür, TPP gereklidir.

Tiyamin, önemli biyokimyasal tepkimelerdeki etkin rolü nedeniyle karbohidrat metabolizması, nükleotid sentezi ve redükte NADP yapımında (7), lipid ve protein sentezinde görev yapar (8-10).

Tiyamin başlıca duodenum ve proksimal jejunumdan emilir (11). Emiliminde hem aktif hem de pasif difüzyon rol oynar. Absorpsiyon hız sınırlayıcı bir yöntemle kontrol edilmektedir. Serum tiyamin

düzeyi de diğer B grubu vitaminlerinde olduğu gibi oral yükleme dozundan etkilenmez. Absorpsiyonu etkileyen faktörler henüz bilinmemekle birlikte kortikosteroidlerin tiyamin absorpsiyonunu kontrol ettikleri sanılmaktadır (3). Tiyamin kan dolaşımında büyük oranda albumine bağlı halde taşınır (3). Hücre zarlarından özgül zarsal fosfatazlar yardımı ile geçtiği saptanmıştır (12). Vücutta en fazla kalp, böbrek, karaciğer ve beyin dokularında bulunur. Kanda 9 µg/100 ml oranında; plazma, serebrospinal sıvı ve tükürükte 0-1,5 µg/100 ml oranında bulunur (2). Normal kişilerde 24 saatte idrarla atılan tiyamin miktarı 100 µg kadardır (13).

Tiyamin, özellikle glukoz metabolizmasında önemli bir rol oynadığından günlük tiyamin gereksinimi vücudun enerji ihtiyacı ile bağlantılıdır. Her 4400 kj enerji ihtiyacı için 0.33 mg tiyamine gerek vardır. Normal bir yetişkinin günlük tiyamin gereksinimi yaklaşık 9 mg'dır (3).

Tiyamin bakımından zengin besinler arasında kuru fasulye, be-

zelye, ceviz, fındık, buğdaygillerin tümü, sebzelerin çiçek, meyva ve kökleri, domuzeti, hayvanların karaciğer, kalp, böbrek, beyin gibi organları, yumurta sarısı sayılabilir (2,5,6).

TIYAMİN EKSİKLİĞİ :

1897 yılında Eijkman, kabukları çıkarılmış pirinçle beslenen tavuklarda denge kaybı, felç ve ani vücut ısısı düşüşü ile karakterize bir hastalık keşfetmiş; yaptığı mikroskobik incelemede periferik sinir sisteminde dejenerasyonlar olduğunu görmüştür. Bu duruma «polinöritis gallinarum» adını veren Eijkman, hastalığa nişastalı besinlerde bulunan bir zehirin neden olduğunu, antidotunun ise pirinç kabuklarında bulunduğunu öne sürmüştür (1).

1896 yılında Vonderman, hayvanlarda gözlenen bu hastalık ile insanlarda gözlenen «beriberi» nin benzer yanları olduğunu farketmiş. Grijns ise 1912'de sözedilen belirtilere yolaçan anti-nöritik faktörü pirinç kabuklarından izole ederek kabukları çıkartılmış pirinçle beslenenlerde tiyamin eksikliği gözlemlendiğini bildirmiştir (1). 1922 yılında Peters, tiyamin yetersizliğinin yalnızca periferik sinirleri değil, merkezi sinir sistemini de etkilediğini göstermiştir (2).

Beriberi terimi besin kaynaklı tiyamin eksikliğini ifade etmek için kullanılmaktadır (14). Asya'da 1800'lerde ve 1900'lerin başında binlerce insanın ölümüne yolaçan beriberi

hastalığı, diyetlerinin ana maddesi pirinç olan Güneydoğu Asya ülkelerinde halen sıklıkla görülen bir hastalıktır. Kabukları çıkartılmış pirinçle beslenmenin yaygın olduğu Tayland, Filipinler, Endonezya ve bazı Afrika ülkeleri gibi birçok ülkede beriberi ciddi problemler yaratmaya devam etmektedir (3,13).

Tiyamin eksikliğinin başlıca belirtileri genel olarak halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, baş ağrısı, kas ağrıları, yorgunluk, periferik nörit, mental konfüzyon, irritabilite, depresyon, ani korkular kalp hızında düşme, kalp büyümesi, kondisyon düşüklüğü, kol ve bacaklarda ödemdir. Kronik beriberide kalple ilgili belirtiler hastayı sonuçta ölüme götürebilir (4). Genel olarak iki tip beriberi vardır (4,6).

1 — Kuru beriberi: Periferik nörit ile karakterizedir.

2 — Yaş beriberi: Konjestif kalp yetmezliği ve ödem ile karakterizedir.

Günlük tiyamin alımı 0.4 mg'dan az olduğunda ortaya çıkan beriberinin yalnızca B₁ vitamini yetersizliği ile ilgili olmayıp bazı risk faktörleri ve diğer bazı bileşiklerin yetersizlikleri eşliğinde ortaya çıktığı bildirilmektedir (3,4). Beriberi ayrıca yaşlılarda ve alkoliklerde de sıklıkla rastlanan bir durumdur (3,15-20). Alkoliklerde gözlenen kalp ve beyin dokusu hasarları, nörolojik bazı belirtiler büyük oranda tiyamin eksikliğine bağlıdır. Alkoliklerde rastlanan «Wernicke's ensefalopatis» mental bozukluklar, felç, göz hare-

ketlerinde zayıflık, ataksi ile karakterize bir hastalıktır ve tiyamin eksikliğinden kaynaklanır (4).

Alkolik tiyamin yetersizliğinin çeşitli nedenleri vardır:

1 — Beslenmeye bağlı yetmezlik: Alkolikler normal kişilere oranla daha düzensiz ve yetersiz beslendiklerinden bu kişilerde vitamin eksiklikleri söz konusudur (3,21).

2 — İntestinal malabsorpsiyon: Etanolün, tiyaminin barsak mukozasından taşınımı ve emilimini engellediği gösterilmiştir (3,22).

3 — Karaciğer fonksiyonlarındaki bozukluk: Alkoliklerde karaciğer fonksiyonları bozulduğundan tiyamin, aktif şekli olan tiyamin pirofosfata dönüşemez, bu da yetmezliğe yolaçar (23). Ayrıca bu kişilerdeki karaciğer yağlanması ve siroza bağlı olarak tiyaminin depolanmasında da bozukluklar ortaya çıkmaktadır (3,23).

4 — Alkolün kendi metabolik yolunda kofaktör olarak tiyamin kullanması da uzun süre alkol alanlarda ciddi tiyamin eksikliğine neden olmaktadır. Ayrıca alkolün metabolik yolunda bir ara ürün olarak ortaya çıkan asetaldehit, transketolaz apoenzimini denatüre ederek tiyamin eksikliğine yolaçmaktadır (3,24).

Tiyamin eksikliği olan annelerin bebeklerinde de beriberiye rastlanmıştır (3,4). Bebeklerdeki beriberi ödem, dispnea, anoreksi, kusma, kalp yetmezliği, oligüri, karaciğer ve kalp büyümesi, büyüme geriliği ile karakterizedir (25).

TIYAMİN EKSİKLİĞİNİN BİYOKİMYASAL TESBİTİ :

Tiyaminin esansiyel bir besinsel faktör olduğunun ve beriberi ile ilişkisinin bulunduğu anlaşılmasından itibaren tiyamin eksikliğinin tesbiti için birçok biyokimyasal metot geliştirilmiştir (2,4). Bunları şöyle özetleyebiliriz:

1 — Tiyamin düzeyinin direk ölçümü :

1.1. Biyolojik tayin yöntemleri : Tiyamin tayininde kullanılan ilk metotlar biyolojik esasa dayananlardır. Bunların bir kısmı mikrobiyolojiktir. Ancak bu testler oldukça duyarsız ve zordurlar (3). 1939 yılında Icke serum ve eritrositlerdeki tiyaminin tayini için otomatize bir mikrobiyolojik yöntem geliştirmiştir (3).

1.2. Kimyasal yöntemler : İlk kez Hennessy ve Cerecedo tarafından geliştirilen ve tiyamin ferrisiyanür ile tiyokrom'a oksitleyerek verdiği mavi fluoresansı ölçmek esasına dayanan «tiyokrom metodu», daha sonra birçok araştırmacı tarafından modifiye edilmiştir (3, 26-29). Kolay ve kullanışlı bir yöntem olmasına karşın çok düşük miktardaki tiyamin için yeterli duyarlılıkta değildir.

Diğer bir yöntem ise tiyaminin p-aminoasetofenon ile oluşturduğu çözünmez mor-kırmızı kompleksin ölçümüne dayanan kolorimetrik yöntemdir, ancak ortamda bulunan ürikasit, askorbikasit gibi bileşikler yöntemi enterfere edebilirler (3).

Ayrıca formaldehit-diazolanmış sülfanilik metodu ve bromotimol mavisi metodu gibi metotlar da vardır (3,30).

1.3. İdrar yükleme testleri : Tiyamin yükleme testleri çok çeşitli olmakla birlikte (3,31), en sık kullanılanlar, belli miktarda vitamin yüklemesini takiben tiyaminin idrarla atılımının ölçülmesine dayanan testlerdir. Ancak bunların tiyamin eksikliğini belirleme açısından fazla önemi yoktur.

1.4. Kromatografik tayin yöntemleri : İnce tabaka kromatografisi ve klasik iyon değiştirici kromatografi gibi teknikler tiyaminin ayırımı ve tayini için uzun süredir kullanılmaktadır, ancak bunlardan yalnızca bir ikisi rutin kan düzeyini ölçmeye uygundur (3,32). Son yıllarda bu konuda önerilen yöntemlerden biri de sephadex iyon değiştirici kolon ile tiyamin fosforik esterlerinin ayırımı esasına dayanan bir testtir (33).

1.5. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tayini : Bu sistem ile 10-15 dakika gibi kısa sürede ölçüm yapılabilmektedir ve mg düzeyindeki tiyaminin doğru ve hassas olarak tayin etmek mümkündür (3). Roser (34), HPLC ve tiyokrom yöntemlerini kombine olarak kullanarak idrar tiyamin düzeyini ölçmek için duyarlı ve özgül bir yöntem geliştirmiştir. Diğer bir yöntemle ise pmol düzeyindeki tiyamin ve onun fosfat esterlerinin tayini yapılabilmekte (35), ayrıca başka bir metotla 0.05 pmol'lük duyarlılıkta olmak üzere serum ti-

yamin düzeyinin ölçümü mümkün olmaktadır (36).

1.6 Yüksek voltaj kağıt elektroforezi: Tiyokrom metodunun enterferans yapan maddelerden etkilenmesi nedeniyle birçok araştırmacı tiyamin ayırımı için elektroforetik yöntemleri önermektedirler. Biyolojik materyalde çalışırken önce deproteinizasyon yapılmakta daha sonra numune liyofilize edilip elektroforez uygulanmaktadır (37).

2 — Tiyamin düzeyinin indirek ölçümü :

2.1. Kan laktat, pirüvat ve alfa-ketoglutarat düzeylerinin ölçümü : Tiyamin, pirüvat ve laktatın enzimatik yıkımlarında, alfa-ketoglutaratın da dekarboksilasyonunda rol oynadığından bunların kan düzeylerinin ölçümünün tiyamin eksikliğini saptamakta kullanılabilenleri sürülmüş, ancak bu yöntemin tanı açısından fazla önemi olmadığı bildirilmiştir (34).

2.2. Glikolik ve oksalik asti düzeylerinin ölçümü: Tiyamin pirofosfat, gliksilatın karbondioksit ve formata dönüşümünde kofaktör olarak görev yaptığından tiyamin eksikliğinde dokularda gliksalat birimi olabileceği ve idrarla gliksalat ve oksalat atılımının artacağı öne sürülmüştür. Ancak bu konu henüz kesinlik kazanmamıştır (4).

2.3. Eritrosit transketolaz aktivitesinin ölçümü: Transketolaz enzimi (EC 2.2.1.1) eritrositlerde, karaciğer, böbrek, adrenal korteks, beyin, iskelet kası ve diğer dokularda bulunan TPP'ye bağımlı bir enzimdir. Transketolaz reaksiyo-

nunda ketoşekerlerin keto grupları TPP ile glikoaldehit-enzim arabileşigi oluşturur ve bir alıcı aldehite transfer edilir. Memeli hücrelerinde transketolazın başlıca işlevi ribuloz-5-fosfat metabolizması ile ilgilidir (3,4).

Yapılan çalışmalar tiyamin eksikliğinde eritrosit transketolaz aktivitesinin (ETK) düştüğünü ve bu durumun son derece spesifik olduğunu göstermiştir (13).

ETK'nin ölçümü için birçok metot geliştirilmiştir. Ençok kullanılan kolorimetrik tayinde hemoliz edilmiş kan numunesi 38°C de tamponlu ortamda riboz-5-fosfat'ın aşırı miktarı ile inkübe edilir, sonra ya kaybolan riboz-5-fosfat ya da oluşan sedoheptuloz-7-fosfat veya heksoz ölçülür. TPP eklenmesini takiben enzim aktivitesinde meydana gelen artışa «tiyamin pirofosfat etkisi (TPPE)» adı verilir (2,3,13,33-40). TPPE esas alınarak tiyamin eksikliğinin derecelendirilmesi yoluna gidilmiştir. Bu derecelendirmeye göre % TPPE 0-15 olanlar normal; 15-20 olanlar sınırda yetmezlik gösterenler ve 25 olanlar ise ciddi yetmezlik gösterenler olarak kabul edilmektedir (38).

(G.T. 1.7.1985)

KAYNAKLAR

1. Florkin, M., Stotz, E. H., «Thiamin», «Steyn-Parve, E.P., (ed), **Comprehensive Biochemistry**, Amsterdam, London, N.Y., Elsevier Publishing Company, vol. 11, s. 3-21, 1963.

2. Sebrell, W.H. Jr. Harris, «Thiamin», **The Vitamins**, New York, London, Academic Press, vol. 5, s. 97-164, 1972.
3. Davis, R.E., Loke, G.C., «Clinical Chemistry of Thiamin», **Adv. Clin. Chem.**, 23, 93-130, 1983.
4. Sauberlich, H.E., «Biochemical alterations in thiamine deficiency and their interpretation», **Am. J. Clin. Nutr.**, 29 (6), 528-42, 1967.
5. Lehninger, A.L., «Principles of Biochemistry», New York, Worth Publishers, Inc., s. 252-54, 1982.
6. Bhagavan, N.V., «Biochemistry», Philadelphia, Toronto, J. B. Lippincott Company, s. 723, 1973.
7. Dancy, M., Evans, G., «Blood thiamine and thiamine phosphate ester concentrations in alcoholic and non-alcoholic liver diseases», **Br. Med. J. (Clin. Res.)** 289 (6437). 79-82, 1984.
8. Volpe, J.J., Marasa, J.C., «A role for thiamine in the regulation of fatty acid and cholesterol biosynthesis in cultured cell of neural origin», **J. Neurochem.**, 3, 975-81, 1978.
9. Chakrabarti, C.H., Pandit, V. I., «Influence of thiamine on protein biosynthesis», **J. Vitaminol.**, 15, 211-14, 1969.
10. Baba, A., Matsuda, T., «Possible regulation of thiamin triphosphatase activity in rat brain microsomes by lipid», **Bioc-**

- him, *Biophys. Acta*, 482, 71-73, 1977.
11. Sklan, D., Trostler, N., «Site and extent of thiamin absorption in the rat», *J. Nutr.*, 107, 353-56, 1977.
 12. Barchi, R.L., Braun, P.E., «A membrane-associated thiamin triphosphatase from rat brain», *J. Biol. Chem.*, 247, 7333-7337, 1972.
 13. Briggs, M.H., «Vitamins in Human Biology and Medicine». Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc., s. 8-11, 1981.
 14. Tanphaichitr, V., Vimokesant, S.L., «Clinical and biochemical studies of adult beriberi», *Am. J. Clin. Nutr.*, 23, 1017-27, 1970.
 15. Keatinge, A.M., «Vitamin B₁, B₂, B₆ and C status in the elderly», *Ir. Med. J.*, 76 (12), 483-90, 1983.
 16. Wood, B.,'Brien K.J., «Thiamine status in alcoholism», *Aust. N. Z. J. Med.*, 7, 475-81, 1977.
 17. Victor, M., Adams, R.D., «On the etiology of the alcoholic neurological diseases with special reference to the role of nutrition», *Am. J. Clin. Nutr.*, 9, 379, 1961.
 18. Bitsch, R., «Thiamin metabolism in the rat during long-term alcohol administration I. Communication: ethanol induced changes at optimal thiamin supply», *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 52 (2), 126-33, 1982.
 19. Irle, E., «Widespread neuro-anatomical damage and learning deficits following chronic alcohol consumption or vitamin B₁ (thiamin) deficiency in rats», *Behav. Brain. Res.*, 9 (3), 277-94, 1983.
 20. Bitsch, R., «Thiamin metabolism in the rat during long-term alcohol administration», *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 52 (3), 253-59, 1982.
 21. Victor, M., «Deficiency diseases of the nervous system secondary to alcoholism», *Postgrad. Med.*, 50, 75-79, 1971.
 22. Thomson, A., Baker, H., «Thiamine absorption in alcoholism», *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 537-38, 1968.
 23. Tomasula, P.A., Kater, R.M.H., Iber, F.L., «Impairment of thiamin absorption in alcoholism», *Am. J. Clin. Nutr.*, 21 (11), 1340-44, 1968.
 24. Abe, T., Hokawa, Y., «Effect of ethanol administration on thiamine metabolism and transketolase activity in rats», *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 47, 397-14, 1977.
 25. Read, D.J.C., «The aetiology of the sudden infant death syndrome: current ideas on breathing and sleep and possible links to deranged thiamin neurochemistry», *Aust. N. Z. J. Med.*, 8, 322-36, 1978.
 26. Munson, P.L., Diczfalusy, E., Glover, J., Olson, R.E., «Vitamins and Hormones», San Francisco, London, Academic Press, vol. 33, 1975.
 27. Hangen, H. N., «The determi-

- nation of thiamine in the urine by the thiochrome method», *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 12, 384, 1960.
28. Dong, M.H., Green, M.D., «Determination of urinary thiamine by the thiochrome method», *Clin. Biochem.*, 14, 16-18, 1931.
 29. Shultz, A.L., Natelson, S., «Studies on the distribution and concentration of thiamine in blood and urine», *Microchem. J.*, 17, 109-118, 1972.
 30. Gupta, V.D., Cadwallader, D. E., «Acid dye method for the analysis of thiamine», *J. Pharm. Sci.*, 57, 112-16, 1938.
 31. Pearson, W.N., «Biochemical appraisal of vitamin nutritional status in man», *JAMA*, 189, 49-55, 1962.
 32. Bican-Fister, T., Drazin, V., «Quantitative analysis of water soluble vitamins in multi-component pharmaceutical forms», *J. Chromatogr.*, 77, 380-95, 1973.
 33. Parkhomenko, J.M., Rybina A. A., «Separation of thiamine phosphoric esters on sephadex cation exchanger», Mc Cormick, D.B., Wright, L.D. (Ed) *Methods in Enzymology*, New York, Academic Press, vol 62, s. 59, 1979.
 34. Roser, R.L., Andrist, A.H., «Determination of urinary thiamine by high pressure liquid chromatography utilizing the thiochrome fluorescent method», *J. Chromatogr.*, 146, 43-53, 1978.
 35. Ishi, K., Sarai, K., «Analysis of thiamine and its phosphate esters by high performance liquid chromatography», *Anal. Biochem.* 97, 191-95, 1979.
 36. Kimura, M., Fujita, T., «Differential fluorometric determination of picogram levels of thiamine monophosphate, diphosphate and triphosphate using high performance liquid chromatography», *J. Chromatogr.*, 188, 417-19, 1980.
 37. Panjipan, B., Detkriangkai-kun, P., «High voltage paper electrophoresis as an alternative method for thiamin determination in the presence of substances capable of interfering with thiochrome formation», *Am. J. Clin. Nutr.*, 32, 723-25, 1979.
 38. Mc Cormick, D.B., Wright, D. S., «Thiamine phosphates and analogs 23: Transketolase and the TPP effect in assessing thiamin adequacy», *Methods in Enzymology*, N.Y. London, Academic Press, vol. 18, 1970.
 39. Knight, M.K., Waring, P.P., Skala, J. H., «Assessment of thiamin status of rats using erythrocyte transketolase activity», *Fed. Proc.*, 35, 443, 1976.
 40. Kuriyama, M., «Blood vit B₁ transketolase and thiamine pyrophosphate (TPP) effect in beriberi patients with studies employing discriminant analysis», *Clin. Chim. Acta.*, 108 (2), 159-68, 1980.