Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 12 (1956)

Heft: 3-4

Artikel: Papierelektrophoretische und papierchromatographische Untersuchungen über das Verhalten der Eiweissstoffe und Aminosäuren in Serum und Leber bei der akuten Methanolvergiftung (Experimente an Ratten)

Autor: Läuppi, E. / Schmidlin-Mézaros, J.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307261

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 21.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D.K.: 612.124 : 615.711.11.099

Aus dem gerichtlich-medizinischen Institut der Universität Zürich
Leitung: Prof. F. Schwarz

Papierelektrophoretische und papierchromatographische Untersuchungen über das Verhalten der Eiweißstoffe und Aminosäuren in Serum und Leber bei der akuten Methanolvergiftung

(Experimente an Ratten)

Von **E. Läuppi** und **J. Schmidlin-Mézaros**

Daß Formaldehyd – wenigstens in alkalischem Milieu – durch Aminogruppen gebunden wird, ist bekannt (1). Nach *Gustavson* (2) und *Theis* (3) kommt es bei der Einwirkung von Formol auf Proteine nicht zur Bildung von Schiffschen Basen nach dem Prinzip $R-N=CH_2$, sondern zur Entstehung von Brücken nach dem Schema $-NH-CH_2NH-$. Ausgehend von der Hypothese, daß bei der akuten Methanolvergiftung nicht der Methylalkohol als solcher, sondern der im Körper durch Oxydation entstehende Formaldehyd die entscheidende Noxe darstelle (4–12), führten wir eine Anzahl von Tierexperimenten durch, mit dem Ziel, eventuell auftretende Veränderungen der Eiweißkörper und des Aminosäurenbildes in Serum und Leber nach Methanolapplikation papierelektrophoretisch bzw. papierchromatographisch zu erfassen.

Versuchsanordnung

Wir verwendeten ca. 180–250 g schwere weiße Ratten, die über mindestens mehrere Wochen gleiche Normalkost erhalten hatten. Die Experimente umfaßten 4 Serien mit je 3–4 willkürlich gruppierten Versuchs- und einer entsprechenden Zahl von Kontrolltieren. Einige Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme verabreichten wir den Versuchstieren mittels einer Schlundsonde 6 g Methanol pro kg Körpergewicht intrastomachal als Einzeldosis. Da sich gezeigt hatte, daß die spontane Futteraufnahme nach einem solchen Stoß innerhalb kurzer Zeit erheblich geringer wurde, mußten gleiche Ernährungsbedingungen dadurch geschaffen werden, daß sämtliche Ratten, also auch die Kontrolltiere, während der Versuche unter völliger Nahrungskarenz gehalten

wurden. Sie bekamen lediglich physiologische NaCl-Lösung (ca. 20 cm^3 pro Tag und kg Körpergewicht) intraperitonäal in mehreren Einzelportionen zur Deckung des Flüssigkeitsbedarfes. Wir töteten die Ratten durch Dekapitation, und zwar

Serie I nach 14 Stunden
Serie II nach 20 Stunden,
Serie III nach 30 Stunden,
Serie IV nach 42 Stunden.

Abgänge durch spontanen Tod traten nicht ein.

Methoden

Zur Untersuchung gelangten Serum und 25%iges Leberhomogenat, die beide unmittelbar nach der Tötung zubereitet und in grundsätzlich gleicher Weise weiterverarbeitet wurden. Für die Herstellung des Homogenates in eisgekühltem Wasser verwendeten wir den Glaskolben nach *Potter-Elvehjem* und filtrierten zur Elimination von bindegewebigen Faseranteilen durch Gaze. Die Untersuchungen umfaßten:

1. Bestimmung des Gesamt- sowie des Nichtproteinstickstoffes nach dem Verfahren von *Kjeldahl*, modifiziert für Einwagen von 0,5 g.

2. Papierelektrophorese zur Trennung der Eiweißfraktionen.

a) *Serum:* Selbstgebautes Gerät in Anlehnung an die Angaben von *Wuhrmann* und *Wunderly* (13), Prinzip der feuchten Kammer, Whatmann-Filterpapier Nr. 1, Streifengröße 36 × 7 cm, Veronal-Veronalnatrium-Puffer pH 8,6, Potentialgefälle 6 V/cm, Raumtemperatur 14° C, Laufzeit 8–9 Stunden, Färbung mit Amidoschwarz 10 B (Bayer) und Differenzierung in Methanol-Eisessig unter konstanten Bedingungen, photometrische Ausmessung im Elphor-Gerät, Planimetrie.

b) *Leberhomogenat:* Vorgehen nach der von *Adjutantis* (14) angegebenen Methode im selbstgebauten Gerät, ebenfalls Whatman-Filterpapier Nr. 1, Streifen 25 × 4 cm, Boratpuffer pH 8,6 und Ionenstärke 0,18, Potentialgefälle 15 V/cm, Laufzeit 14–15 Stunden, Auswertung wie oben.

3. Papierchromatographische Trennung von Aminosäuren.

Es kamen die eindimensional absteigende und die zweidimensional aufsteigende Anordnung zur Anwendung. Als Träger benützen wir auch hier Whatman-Filterpapier Nr. 1. Bei der eindimensionalen Chromatographie war die Größe der Blätter so bemessen (57 × 32 cm), daß Proben von Serum und Homogenat

a) nativ;
b) hydrolysiert;
c) nach Fällung der Proteine (direkt lösliche Phase);
d) als Hydrolysat der rehomogenisierten Fällungsrückstände

von Versuchs- und Kontrolltieren gleichzeitig neben einer 0,2%igen Standardmischung von 15 käuflichen Aminosäuren aufgetragen werden konnten, womit innerhalb der Chargen gleiche analytische Bedingungen gewährleistet waren. – Die Entproteinisierung erfolgte mittels 96%igen Alkohols. Nach scharfem Zentrifugieren wurde der alkoholisch-wäßrige Überstand, der die freien Aminosäuren und niedermolekularen Peptide enthält, im Vakuum eingeengt und dann teils mit Aq. dest., teils mit 1%igem

Äthylmaleinimid (15) auf ein bestimmtes Totalvolumen aufgefüllt. – Die Hydrolyse führten wir – bei den Fällungsrückständen nach der Rehomogenisierung in Aq. dest. bzw. in einer 0,3%igen Glykocellonlösung – zum Teil mit 7 n Ammoniak, zum Teil mit 6 n HCl in zugeschmolzenen Glasampullen bei 110–115° C (also unter leichtem Überdruck) während 24 Stunden durch. Die Hydrolysate wurden anschließend im Vakuum zur Trockene eingeengt und die Trockensubstanz mit einer bestimmten Menge Aq. dest. quantitativ aufgenommen. – Als Lösungsmittel dienten uns bei der eindimensionalen Anordnung Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1), bei der zweidimensionalen als erste Phase die gleiche Mischung, als zweite Phase entweder Phenol-Wasser oder – für die Paulische Diazoreaktion – Butanol-Methyläthylketon-Wasser (2:2:1). Laufzeiten von 23–24 Stunden gestatteten eine Charakterisierung der Aminosäuren durch die absoluten R_f-Werte. Zur besseren Trennung der Komponenten mit niedrigen R_f-Werten stellten wir daneben Durchlaufchromatogramme mit Laufzeiten von 93 bis 97 Stunden her und ließen dabei zusätzlich Lösungen einzelner Aminosäuren als Markierungen zur Ermittlung der relativen R_f-Werte mitlaufen. – Die Papiere wurden ausschließlich bei Zimmertemperatur getrocknet. – Als Entwickler verwendeten wir Ninhydrin, daneben auf parallel angefertigten Blättern auch p-Dimethylaminobenzaldehyd und diazotierte Sulfanilsäure.

Methodische und technische Einzelheiten mit Literaturhinweisen finden sich bei *Turba* (16), *Cramer* (17) sowie *Wuhrmann* und *Wunderly* (13).

In Anbetracht des großen Anfalles an Chromatogrammen mußten wir auf exakte kolorimetrische Meßmethoden verzichten und uns mit einer approximativen mengenmäßigen Schätzung der einzelnen Komponenten oder Gruppen durch Vergleich der Fleckengröße und Farbintensität mit Kontrollproben von bekanntem Gehalt bzw. unter sich begnügen. Dieses Verfahren, welches unter anderm von *Brimley* (18), *Fisher*, *Parson* und *Morrison* (19) sowie von *Polson* (20) erprobt und empfohlen wurde, vermag bei einiger Übung und Erfahrung in der Beurteilung recht zuverlässige «semiquantitative» Auskünfte zu geben.

Ergebnisse

Die im Rahmen von 14–42 Stunden variierte Überlebenszeit modifizierte die Untersuchungsergebnisse kaum, jedenfalls nicht in einem Ausmaß, daß sich Unterschiede bemerkbar gemacht hätten, die erheblich außerhalb der sonst beobachteten Streuungen gelegen wären. Unter diesen Umständen dürfen wir die Serien I–IV im folgenden als praktisch einheitliche Gruppe gemeinsam besprechen.

Abgesehen von einer meist beträchtlichen Erhöhung des Nichtproteinstickstoffes war der *Gesamtstickstoff* bei den durch Methanol geschädigten Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren durchwegs mehr oder weniger stark erniedrigt. Die Methanolintoxikation hatte demnach zu einer Reduktion der Serum- und Leberproteine geführt. Im Serum betrug die Verminderung durchschnittlich etwa 20%, im Leberhomogenat 10–12% (Kontrolltiere = 100% ± 5% [Serum] bzw. ± 6% [Homogenat]).

Bei der Auswertung der *papierelektrophoretischen* Ergebnisse schenkten wir unsere besondere Aufmerksamkeit der Frage, ob sich hier ähnliche Verschiebungen in den Serumfraktionen objektivieren ließen wie seinerzeit bei Versuchen in vitro (21), wo wir nach Formolzusatz zu menschlichem Serum in der Größenordnung von 35–70 mg% eine Bandverbrei-

terung im Bereich der α_2- und β-Globuline sowie eine eklatante Verminderung der γ-Globuline feststellen konnten. Tatsächlich schienen sich entsprechende Tendenzen nun auch in den Tierexperimenten geltend zu machen. Allerdings zeigten hier die mengenmäßigen Relationen der Eiweißfraktionen von Ratte zu Ratte eine gewisse biologische Streuung, wodurch sich auch die Streubereiche der bei den Kontrolltieren einerseits und bei den Versuchstieren andrerseits ermittelten Resultate teilweise überlagerten. Deshalb hätten aus Einzelergebnissen nicht ohne weiteres bindende Schlüsse auf Verschiebungen in der prozentualen Verteilung der Fraktionen gezogen werden können. Die statistische Reihenauswertung ergab dann aber doch einigermaßen signifikante Unterschiede, indem im Serum der methanolvergifteten Ratten – verglichen mit den Kontrollen – der Durchschnittswert der γ-Globuline um etwa 15% und derjenige der β-Globuline um rund 18% niedriger war, während die α_1- und α_2-Globuline sowie andeutungsweise auch die Albumine eine relative Vermehrung zeigten.

Eine saubere Darstellung der Proteinfraktionen im Leberhomogenat nach der von *Adjutantis* vorgeschlagenen Methode gelang uns nicht. Selbst bei Normaltieren erhielten wir kaum je 5, sondern meistens nur 3 oder 4 unscharf getrennte Bänder. Wir mußten deshalb auf eine Auswertung verzichten.

Was die *papierchromatographischen* Untersuchungen betrifft, war sowohl auf quantitative wie auf qualitative Kriterien zu achten.

a) quantitativ:

Die *nativ* aufgetragenen Seren und Leberhomogenate gestatteten mengenmäßige Schätzungen nur sehr bedingt. Die Flecken der einzelnen Aminosäuren waren hier zerflossen und nur unscharf begrenzt. Diese Verwaschenheit, die sich bei allen Proben mehr oder weniger stark manifestierte, dürfte am ehesten auf eine Elektrolytwirkung zurückzuführen sein. Da wir aber im Hinblick auf die qualitative Beurteilung besonderen Wert auf eine möglichst schonende Präparation legten, verzichteten wir dennoch auf eine Entsalzung.

In den *hydrolysierten* Gesamtseren und -homogenaten der durch Methanol geschädigten Ratten trat eine gewisse Verminderung der Aminosäuren in Erscheinung, die besonders bei den Komponenten mit niedrigerem R_f-Wert als Methionin zur Geltung kam. Eine andere Bedeutung als die eines Analogons zur bereits besprochenen Reduktion des Gesamteiweißes wird diesem Befund nicht beigemessen werden können.

In den Konzentraten der alkoholisch-wässerigen *Überstände*, welche

die freien Aminosäuren und niederen Peptide enthielten, waren bei den Versuchstieren die meisten Aminosäuren im Vergleich zu den Kontrolltieren eklatant vermehrt, und zwar im Serum in erster Linie Lysin, die Gruppen Histidin/Histamin, Arginin/Asparagin sowie Glutaminsäure und Prolin, dann im Leberhomogenat vor allem Glutathion, Cystin, Histidin/Histamin, Taurin(?), Asparaginsäure, Glutaminsäure und Threonin. Die Unterschiede traten im Leberhomogenat im allgemeinen deutlicher hervor als im Serum.

Die Aufarbeitung der *Fällungsrückstände* zeitigte Ergebnisse, die sich an diejenigen der hydrolysierten Vollseren und Homogenate anlehnten, weshalb wir uns mit dem technischen Hinweis begnügen können, daß die Herstellung dauerhafter Suspensionen durch Rehomogenisierung öfters Schwierigkeiten bereiten und eine Fehlerquelle darstellen kann.

Soweit die zur Anwendung gelangte Methodik eine Aussage zuläßt, fielen weder im Serum noch im Homogenat von Versuchstieren eine oder mehrere Aminosäuren in den verschiedenen Fraktionen mengenmäßig derart aus dem Rahmen, daß von einer auffälligen Besonderheit hätte gesprochen werden können.

b) qualitativ:

Die Möglichkeiten einer Identifikation beschränken sich bei der Papierchromatographie auf die Ermittlung des R_f-Wertes und des färberischen Verhaltens gegenüber bestimmten Entwicklern. Qualitative Veränderungen des Aminosäurenbildes können also zum vornherein nur in diesen beiden Merkmalen zum Ausdruck kommen. Daß kleine Verschiebungen in den R_f-Werten wegen der technisch bedingten Streubreite nicht schlüssig sind, ist einleuchtend. Bei größeren Abweichungen von der Norm wäre anderseits selbst nach relativ langen Laufzeiten mit Überlagerungen zu rechnen. Es kommt hinzu, daß einzelne Aminosäuren unter sich gleiche oder fast gleiche R_f-Werte besitzen und deshalb nicht präzis differenziert werden können. Gesamthaft betrachtet wird deshalb eine qualitative Auswertung auf der quantitativen basieren müssen. In diesem Sinne konnten wir nun Ausfälle oder ein Auftreten abnormer Komponenten mit aberrantem R_f bzw. veränderter Färbbarkeit in den von Versuchstieren herrührenden Proben nicht feststellen. Nach ammoniakalischer Hydrolyse und Entwicklung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd traten zwar gelegentlich Phenolkörper mit der Wanderungsgeschwindigkeit von Phenylalanin und der Farbnuance von Histidin in Erscheinung, doch handelte es sich dabei mit aller Wahrscheinlichkeit um Denaturierungsprodukte, die beim Spaltungsprozeß entstanden sind.

Diskussion

Die Verabreichung von 6 g/kg Methanol als Einzelgabe hatte bei weißen Ratten innerhalb von 14–42 Stunden eine erhebliche Verminderung des Gesamtproteingehaltes sowie eine Erhöhung des Nichtproteinstickstoffes bei beträchtlicher Vermehrung der freien Aminosäuren im Serum und in der Leber zur Folge. Da sich an Kontrolltieren, die unter gleichem Fütterungsregime gestanden hatten, keine entsprechenden Abweichungen von den an normal ernährten Ratten erhobenen Befunden objektivieren ließen, entfällt der nur kurzfristige Nahrungsentzug während der Versuche als Ursache der betreffenden Veränderungen. Diese dürfen vielmehr als Effekte der Methanolvergiftung qualifiziert werden.

Die Ergebnisse der Papierelektrophorese scheinen darauf hinzudeuten, daß im Serum vor allem die gröber dispersen Eiweißfraktionen, nämlich die β- und γ-Globuline alteriert worden seien. Diese ließen im statistisch ermittelten Durchschnitt eine Tendenz zur Verminderung bei einer relativen Vermehrung der α_1- und α_2-Globuline sowie weniger ausgeprägt auch der Albumine erkennen. In Analogie zum Begriff der «Linksverschiebung» (13) könnte also hier von einer angedeuteten «Rechtsverschiebung» gesprochen werden. Die betreffenden Befunde stimmen im Prinzip mit denjenigen überein, die wir nach Formolzusatz zu menschlichem Serum in vitro erheben konnten und erhalten dadurch eine gewisse Stütze. Immerhin bedürfen sie der Verifizierung durch ein wesentlich erweitertes Beobachtungsgut und durch eine Verschärfung der methodischen Kautelen (z. B. freie Elektrophorese). Erst wenn sie sich bestätigen sollten, würden sich Erörterungen über physikochemische Grundlagen rechtfertigen.

Zur papierchromatographischen Darstellung des Aminosäurenbildes entschlossen wir uns deshalb, weil diese Methode trotz ihrer relativen Einfachheit am ehesten einen annähernd vollständigen Überblick über die Proteinbausteine zu geben vermag und weil uns in erster Linie die Frage interessierte, ob gewisse Aminosäuren eine besonders auffällige Vermehrung oder Verminderung zeigen würden, aus welcher unter Umständen Rückschlüsse auf eine spezielle Bedeutung einzelner Komponenten bei der Formaldehydentgiftung hätten gezogen werden können. Die Durchsicht der Chromatogramme unter diesem Aspekt ergab nun aber keine konkreten Hinweise auf eine Sonderstellung bestimmter Aminosäuren im Entgiftungsmechanismus. Vielmehr waren die faßbaren Komponenten bei den methanolgeschädigten Ratten sozusagen generell vermehrt, während Ausfälle oder ein Auftreten aberranter Körper nicht beobachtet werden konnten. Wenn dabei die Vermehrung einiger Aminosäuren etwas auffälliger war als diejenige anderer, so dürfte dies teilweise

in einem relativ hohen prozentualen Anteil an den Eiweißkörpern, teilweise in einer für vergleichende Schätzungen günstigen Konzentration bzw. Farbnuance begründet gewesen sein.

Es steht uns nicht zu, aus Tierexperimenten therapeutische Rückschlüsse zu ziehen. Die bei unseren Untersuchungen beobachtete Eiweißverarmung in Serum und Leber vermag aber vielleicht die Durchführung einer Plasmabehandlung von Methanolvergifteten (22) insofern zu rechtfertigen, als durch eine solche Maßnahme nicht nur die Acidose bekämpft, sondern möglicherweise – im Sinne einer Substitution – auch einer Störung des Gleichgewichtes im Eiweißhaushalt entgegengewirkt werden könnte. In Anbetracht der großen Bedeutung, welche den Proteinen im Wasser- und Elektrolythaushalt des Körpers zukommt, halten wir es nicht ohne weiteres für ausgeschlossen, daß die Hypoproteinämie einen pathogenetischen Teilfaktor für die bei der Methanolvergiftung zu beobachtende Wasseranreicherung im Gewebe darstelle, womit jedoch keineswegs ein Einwand gegen die Hypothese einer Permeabilitätsstörung als Folge einer primären Endothel- und Membranschädigung (23, 24) erhoben sein soll.

Zusammenfassung

Wir verabfolgten weißen Ratten 6 g Methanol pro kg Körpergewicht als Einzeldosis intrastomachal. Nach 14–42 Stunden zeigte sich bei ihnen im Vergleich zu Kontrolltieren, die unter gleichem Ernährungsregime gehalten worden waren, eine Erhöhung des Nichtproteinstickstoffes, eine Vermehrung der freien Aminosäuren und eine Verminderung der Proteine im Serum und in der Leber. Nach den papierelektrophoretischen Untersuchungsergebnissen zu schließen, scheinen vor allem die β- und γ-Globuline alteriert worden zu sein. Die betreffenden Befunde bedürfen noch der Verifizierung an einem größeren Beobachtungsgut. Hinweise auf eine Sonderstellung einzelner Aminosäuren bei der Entgiftung ergaben sich bei der papierchromatographischen Darstellung nicht.

Résumé

L'on administre à des rats blancs, en une fois et par sonde intrastomacale, une dose de méthanol de 6 g/kg de poids corporel. Après 14–42 heures, par rapport à d'autres rats témoins et soumis à un régime alimentaire identique, l'on constate une augmentation de l'azote non protéinique, une augmentation des acides aminés libres, et une diminution des protéines sériques et hépatiques. En se basant sur les examens d'électrophorèse sur papier, il semble que ce sont surtout les β- et γ-globulines qui sont altérées. Ces résultats doivent encore être confirmés par de plus grands nombres d'expériences semblables. Il ne semble toutefois pas que certains acides aminés jouent un rôle particu-

lier dans les phénomènes de désintoxication, du moins en ce qui concerne les résultats obtenus par la chromatographie sur papier.

Riassunto

Vennero somministrati a topi bianchi, per introduzione diretta nello stomaco, 6 g di Metanolo per kg di peso corporeo, in dosi singole. Dopo 14–42 ore gli animali presentarono, in confronto con animali di controllo tenuti alla stessa dieta, un aumento dell'azoto non proteico e degli aminoacidi liberi ed una diminuzione delle proteine del siero e del fegato. In base a risultati di ricerche di elettroforesi su carta pare trattarsi prevalentemente di una alterazione della globuline β e γ. I reperti rispettivi attendono da un più ricco materiale statistico una ulteriore conferma. Il procedimento di cromatografia su carta non permisse di trarre conclusioni positive circa un'attività speciale dei singoli aminoacidi nella disintossicazione.

Summary

We administered to white rats 6 g. of methanol/kg. body weight intra-gastrically as a singel dose. After 14–42 hours, an increase of non-protein nitrogen and free amino acids, and a decrease of protein in serum and liver, was found in comparison with control animals kept under the same conditions of diet. According to the results of paper electro-phoretic tests, it appears to be mainly the β- and γ-globulin which was altered. These findings require further confirmation from a larger material. There was no sign from the paper chromatographic tests of a particular role for any individual amino acid in the de-poisoning.

1. *Nitschmann, H.*, und *Hadorn, H.:* Helv. chim. Acta **26,** 1075 (1943). – 2. *Gustavson, K.:* Koll. Z. **103,** 43 (1943). – 3. *Theis, E.:* J. biol. Chem. **157,** 7 (1945). – 4. *Rabinowitch, M.:* Arch. intern. Med. **29,** 821 (1922). – 5. *Brückner, H.:* Zbl. GewHyg. **1,** 17 (1924). – 6. *Zamkowsky, J. G.:* Z. Augenheilk. **65,** 237 (1928). – 7. *Keeser, E.:* Arch. exp. Path. Pharmak. **160,** 687 (1931). – 8. *Flury, F.*, und *Wirth, W.:* Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. **7,** 221 (1936). – 9. *Keeser, E.*, und *Vincke, E.:* Klin. Wschr. **19,** 583 (1940). – 10. *Hellwig, H.:* Diss. Hamburg 1940. – 11. *Haile, H.:* Z. ger. Med. **39,** 296 (1949). – 12. *Mackenzie, C. G., Johnston, J. M.*, und *Frisell, W. R.:* J. biol. Chem. **203,** 743 (1953). – 13. *Wuhrmann, F.*, und *Wunderly, Ch.:* Die Bluteiweißkörper des Menschen. Benno Schwabe & Co., Basel 1952. – 14. *Adjutantis, G.:* Nature (Lond.) **173,** 539 (1954). – 15. *Hanes, C. S., Hird, F. J. R.*, und *Icherwood, F. A.:* Nature (Lond.) **166,** 288 (1950). – 16. *Turba, F.:* Chromatographische Methoden in der Protein-Chemie. Springer, Berlin 1954. – 17. *Cramer, F.:* Papierchromatographie, 3. Aufl. Verlag Chemie, 1954. – 18. *Brimley, R. C.:* Nature (Lond.) **163,** 215 (1949). – 19. *Fisher, R., Parson, D.*, und *Morrison, G.:* Nature (Lond.) **161,** 764 (1948). – 20. *Polson, A.:* Biochim. biophys. Acta **2,** 575 (1948). – 21. *Läuppi, E.*, und *Schmidlin-Meszaros, J.:* Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. (im Druck). – 22. *Moeschlin, S.:* Klinik und Therapie der Vergiftungen, 2. Aufl. Georg Thieme, Leipzig 1956. – 23. *Orthner, H.:* Monogr. Gesamtgebiet Neurol. u. Psych., Heft 74, Springer, Berlin 1950. – 24. *Eppinger, H.:* zit. nach *Orthner* (23), persönl. Mitteilung; Die Permeabilitätspathologie als die Lehre vom Krankheitsbeginn. Springer, Berlin 1949.