

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

63. Jahrgang · Nr. 5 · Seite 105-132 · 7. März 1951

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Chemie, biologische Bedeutung und klinische Anwendung der Hyaluronidase

Von Dr. H. GIBIAN. Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.G. Berlin-West*)

Vor knapp 10 Jahren erschien an gleicher Stelle ein Überblick über mucinspaltende Fermente⁵⁶⁴). Inzwischen wurden speziell über den Fermentkomplex Hyaluronidase vor allem im Ausland zahlreiche chemische, biologische und medizinische Arbeiten publiziert. Nachdem nun die sehr allgemeine biologische und physiologische Bedeutung der Hyaluronidase erkannt worden ist, nachdem sich ferner in neuerer Zeit auch zunehmend klinische Anwendungsmöglichkeiten eröffnet haben, soll über dieses in Deutschland bisher immer noch ziemlich unbekannte Thema zusammenfassend berichtet werden.

I. Die Substrate	II. Die Fermente	Befruchtung	Antikörper
Vorkommen	Vorkommen	Darstellung und Eigenschaften	Unspezifische Inhibitoren
Biologische Bedeutung	Biologische Bedeutung	Chemische Wirkung	Physiologische Bedeutung
Eigenschaften	für Stoffwechsel	Auswertungsmethoden	Medizinische Bedeutung
Darstellung	Invasionen	Aktivatoren und Inhibitoren	Klinische Anwendung

I. Die Substrate

Vorkommen

Mucine sind an vielen Stellen tierischer Organe und Sekrete vorkommende Schleimsubstanzen, die teils Proteine enthalten; ihre charakteristische hohe Viscosität beruht jedoch auf ihrem Gehalt an mucoiden (schleimigen) Polysacchariden. Man kann sie in embryologischer Hinsicht einteilen in solche epithelialer und solche mesodermaler Herkunft⁵⁹⁰). Nur die letzteren haben in vorliegendem Zusammenhang Interesse, da nur die ihnen zu Grunde liegenden sauren Mucopolysaccharide von der Hyaluronidase gespalten werden¹⁴⁸).

Während der Entwicklung eines befruchteten Eies bilden sich drei sogenannte Keimblätter, das innere (Entoderm), das äußere (Ektoderm) und das mittlere (Mesoderm). Aus diesem letzteren entstammt das Mesenchym, der Masse nach der weitaus größte Teil des Körpers: 1) Die unstrukturierte Grundsubstanz, die die Zwischenräume der Zellen ausfüllt und diese miteinander verbindet; 2) das schon strukturierte, aber noch wenig differenzierte Bindegewebe; 3) höher differenzierte, aber noch unselfständige Gewebe, nämlich an Organe anderer Herkunft anschließende Grundmembranen (unter der Haut, in den Wänden der Verdauungs-, Harn- und Geschlechtswege (Uterus), in den Synovia der Gelenke und die Hirn- und Rückenmarkshäute); 4) selbständige Organe wie Knorpel, Knochen, Sehnen, die quergestreifte Muskulatur, Blut- und Lymphgefäße.

Wichtigste Bestandteile dieser mesodermalen Gewebe sind, an basische Proteine salzartig gebunden, die Hyaluronsäure und die Chondroitinschwefelsäure^{53, 224}); beide kommen meist nebeneinander vor⁵⁹¹), erstere vielleicht vorwiegend in unstrukturierten, letztere mehr in den strukturierten Geweben (Knorpel! Name!).

Extrem reich an Hyaluronsäure sind Augengläskörper (hyalin = glasig)^{573, 434} mit je nach Tierart schwankender Konzentration⁵⁸⁸), die Whartonsche Sulze der Nabelschnur, die Sehnen, der Nucleus pulposus der Zwischenwirbelscheiben und die Synovialflüssigkeit der Gelenke^{62, 444, 581, 590}. Sie kommt ferner vor im Lungengewebe⁴⁴⁷, in verschiedenen Tumoren^{180, 586, 380, 862, 433, 588}; dann reichlich in der Geschlechtshaut des Affen^{118, 587} und im Hahnenkamm^{39, 278} und vor allem in der menschlichen und tierischen Haut, hier zusammen mit Chondroitinschwefelsäure^{586, 384, 419, 571, 572}). Letztere wurde im Gegensatz zu Hyaluronsäure⁵⁸⁶ auch in den Wänden von Arterien, Arteriolen und Venen nachgewiesen⁵⁸⁰; hier und bei^{20, 44, 169, 210, 235, 248, 297, 306, 459, 487}) eingehende histochemische Untersuchungen.

Die „Mucitinschwefelsäure“ der Cornea (Hornhaut) hat sich inzwischen als der Schwefelsäureester der Hyaluronsäure erwiesen^{561, 583}. Daß die Mucinsubstanzen der Prostatasekrete Hyaluronsäure enthalten, wurde nur histologisch wahrscheinlich gemacht⁶⁸¹) und erscheint ebenso fragwürdig wie ein Vorkommen in Follikelflüssigkeit⁴¹⁴).

*) Nach einem Vortrag vor dem GDCh-Ortsverband Berlin am 8. 5. 1950.

Haemolytische Streptokokken der Gruppe A^{234, 426, 428}) wie auch der Gruppe C bilden Hyaluronsäure, zum Teil in der Kulturlösung, zum Teil zum Aufbau ihrer Kapseln während der mucoiden Phase; zwischen mucoidem Zustand (Kapselgröße), Polysaccharid-Gehalt und Virulenz besteht gelegentlich eine gewisse Korrelation^{38, 234, 259, 424, 427, 475, 490, 491, 591}).

Hyaluronidase-Zusätze zu Kulturen von *Cl. butyricum* hemmten dessen Wachstum und verhinderten die Bildung viscoser Substanzen⁵⁰⁴.

Es sei noch einmal betont, daß Mucine epithelialer Herkunft, also aus dem Ekto- oder Entoderm stammender Organe, kein Substrat für die Hyaluronidase liefern; es werden also z. B. weder Speichelmucin noch die Mucitinschwefelsäure des Magenschleims (trotz ähnlichen Baues!)^{249, 381, 585, 582} noch das verwandte Heparin^{249, 257, 589, 581}) angegriffen. Andere hier oder in Bakterien vorkommende (neutrale) Polysaccharide⁵¹⁹), auch Glycoproteide wie die gonadotropen Hormone^{53, 146, 582} stellen keine Substrate für die Hyaluronidase dar. — Dagegen scheinen gewisse Blasensteine von Hyaluronidase angreifbare Mucopolysaccharide zu enthalten⁴⁰²). Ebenso wie wurden neuerdings in Kulturen eines *Aerobacter aerogenes*⁵⁸⁸) und in den Kapseln einer wilden Hefe (*Torula histolytica*) gefunden¹⁰¹.

Biologische Bedeutung

Die Hyaluron- und Chondroitinschwefelsäure spielen im tierischen und menschlichen Organismus als Hauptbestandteile der Bindegewebsgrundsubstanz eine wichtige Rolle: sie sind von jungen Fibroblasten (Bildungsstelle faserigen Bindegewebes) gebildete⁵⁸⁶ Kittsubstanzen für die kollagenen Fibrillen^{44, 418, 434, 528, 527, 590}) bzw. verbindende Füllung der Zwischenzellräume. Durch Änderung ihres physikalischen Zustandes wird der Wasserhaushalt des Gewebes sowohl wie auch der Augen- und Gelenkflüssigkeiten geregelt. Gleichzeitig haben sie Bedeutung für den Austausch der Stoffwechselprodukte, auch indem sie Permeabilitätsänderungen von Membranen, z. B. Kapillarmembranen, ermöglichen. Schließlich bilden sie eine schützende Barriere gegen Infektionen^{117, 221, 356, 386, 379}).

Eigenschaften

Die Zusammensetzung der beiden, charakteristisch viscose Lösungen gebenden, als Substrat der Hyaluronidase dienenden optisch aktiven Polysaccharidsäuren geht aus folgendem Schema hervor:

Hyaluronsäure	Chondroitinschwefelsäure
= Glucuronsäure	= Glucuronsäure
+ Acetylaminoglucose	+ Acetylaminogalactose (Chondrosamin)
(± H ₂ SO ₄)	+ H ₂ SO ₄

Die Hyaluronsäure kann, aber muß nicht mit H_2SO_4 verestert sein.

Beide Säuren liegen in polymerer Form als langketige Moleküle (bis über 10000 Å) mit säurelabilen glukosidischen Eindringungen vor und besitzen eine alkalilabile, auf Anhydrid-Eindringungen beruhende Überstruktur^{33, 126, 128, 261, 357, 358}. Die sich vielfach wiederholenden kleinsten Einheiten bestehen in Glucuronosido-N-acetylhexosaminen, deren Raumstruktur durch Permethylierung und Perjodat-Abbau sichergestellt werden konnte^{357, 358}.

Der Polymerisationsgrad ist abhängig von pH , Jonenumgebung³¹⁷, oxydierenden Agentien⁵⁰⁷ und spezifischen Depolymerasen³⁶ und kann in Präparaten sehr wechseln (Molekulargewicht von 200000 bis zu mehreren Millionen⁶⁹⁰). Auch nicht mehr viscose Präparate können noch hochpolymer sein²⁰⁶. Zwischen der von Elektrolyten stark beeinflußten³⁹¹ Viscosität und der Konzentration einerseits^{36, 203} und dem Polymerisationsgrad andererseits^{444, 447} lassen sich nur begrenzt Beziehungen aufstellen. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von gereinigten Na-hyaluronaten ergaben mit obigen Vorstellungen übereinstimmende Bilder^{192, 193}. Ein Maß für den Hyaluronsäure-Gehalt einer Lösung gewinnt man auf Grund ihrer Eigenschaft im sauren Bereich mit Pferdeserum (-albumin) photoelektrisch auswertbare Trübungen zu geben^{375, 490, 568}.

Hyaluronsäure-Proteinkomplexe sind in verdünnten, neutralen Salzlösungen leicht zu lösen, während hierfür bei Chondroitin- und Hyaluronschweifelsäure-Proteinverbindungen schon konzentrierte, alkalische Salzlösungen evtl. mit Harnstoff als peptisierendem Reagenz nötig sind⁶⁸³.

Elektrophoretische Untersuchungen sind bei^{34, 233, 360, 418, 582} beschrieben; wegen histochemischer Färbbarkeit siehe^{281, 525}. Röntgenbestrahlung mindert die Viscosität reiner Hyaluronat-Lösung anders als bei nativer Synovialflüssigkeit nicht⁴⁴⁸.

Hyaluronsäure ist im Gegensatz zu vielen neutralen Bakterienpolysacchariden oder auch Glucoproteinen, wie der Blutgruppensubstanz A, kein Antigen. Sie ruft also bei Injektionen keine Bildung von Antikörpern hervor und wirkt auch nicht als Haptene^{247, 384, 490}.

Als hochmolekulare Substanz erhöht Hyaluronsäure in vitro und in vivo die Blutkörperchenkennungsgeschwindigkeit beträchtlich^{60, 80, 370}.

Darstellung

Hyaluronsäure wird aus Augengläskörpern^{3, 316}, aus Synovialflüssigkeit (Kniegelenk)^{87, 383} oder üblicherweise aus menschlicher^{66, 174, 573} oder tierischer Nabelschnur^{3, 157, 260} dargestellt, evtl. auch aus Rousschen Kükensarkom⁵⁸⁸.

Aus dem u. U. unter kurzem Erhitzen hergestellten Extrakt wird im sauren Bereich mit Aceton oder Alkohol die Hauptmenge als Protein-Verbindung oder im alkalischen Bereich als Kaliumhyaluronat gefällt^{216, 344, 426, 474, 509}. Aus der Rückstandslösung der sauren Fällung, die kaum noch Protein enthält, kann unter Pyridin-Zusatz mit Ammoniumsulfat besonders hoch viscose Hyaluronsäure gefällt werden²⁰³. Ohne Pyridin oder Eiweißanwesenheit kann Hyaluronsäure mit Ammoniumsulfat nicht ausgesalzen werden²⁰³. Eine Abtrennung von verunreinigenden Begleitproteinen gelingt auch fermentativ mit Pepsin und Trypsin^{49, 203}. Um der nativen möglichst ähnlichen Hyaluronsäure zu erhalten, muß auf Vermeidung eines pH über 7,5 geachtet werden³⁶⁷. Auch Adsorbentien sind zur Reinigung benutzt worden⁵⁵⁰.

Mittels Ultrafiltration kann aus Synovialflüssigkeit ein offenbar nativer Hyaluronsäure-Protein-Komplex gewonnen werden⁴⁰⁶; ein solcher scheint auch in Nabelschnur vorzuliegen²⁶¹, sog. Hyaluronidin.

Die Chondroitinschweifelsäure wird dargestellt durch Extraktion von Knorpel mit $CaCl_2$ - oder $NaOH$ -Lösung und nachträgliche Ausfällung eiweißartiger Begleitsubstanzen mit Chloroform/Amylalkohol^{380, 388}.

Nitrierte und acetylierte Derivate der Hyaluronsäure geben je nach Ausgangsmaterial und Herstellungsart selbst noch mehr oder minder viscose Lösungen. Nur noch manche Acetate sind teilweise von Hyaluronidase angreifbar, die anderen Präparate hemmen den fermentativen Abbau der Hyaluronsäure teilweise stark^{167, 202}.

II. Die Fermente

Bisher ist es noch nicht gelungen, ein einheitliches Ferment rein zu gewinnen, das die im vorhergehenden Abschnitt besprochenen Substrate definiert abbaut. Meist handelt es sich um Fermentkomplexe, deren Wirkungen beschrieben werden. Trotzdem, und auch obgleich das Substrat — ob Hyaluronsäure oder Chondroitinschweifelsäure — oft durchaus nicht festliegt, wird besonders in der neueren Literatur fast ausschließlich von der Hyaluronidase gesprochen, einem Sprachgebrauch, dem wir uns hier meist anschließen werden.

Vorkommen

Die Hyaluronidasen wurden einerseits auf Grund ihrer mucolytischen Wirkungen gefunden: als „Mucinasen“ bewirken sie Hydrolyse der hyaluronsäure-haltigen Mucine unter Viscositätsabnahme und Auftreten reduzierender Substanzen. Andererseits können sie an ihrer Eigenschaft als „Spreadingfaktoren“ erkannt werden; intradermal injiziert beschleunigen sie die Ausbreitung von Farbstoffen oder von Bakterien, Viren und Toxinen in der Haut und bewirken damit verstärkte Laesionen¹⁰² (erste Publikation),²⁸² (Namengebung),^{64, 103, 142, 238, 239, 564}.

Entsprechend der Verbreitung und Bedeutung der Substrate kommt die Hyaluronidase überall dort vor, wo eine Zustandsänderung dieser Substrate aufgetreten ist oder erreicht werden soll: in Bakterien (s. u.) und in Giften von Insekten oder gewissen Schlangen^{61a, 110, 112, 128, 337, 586} (der Faktor im Bienen-Gift soll thermostabil und daher anderer Art sein⁵⁷⁷)). Ferner kommen Hyaluronidasen vor bei malignen menschlichen und tierischen Tumoren^{82, 124, 170, 347, 433, 498, 530}, allerdings ohne generelle Beziehung zum histologischen Typ oder dem Entwicklungsstadium^{124, 433}.

Das Vorkommen im Ciliarmuskel (Akkomodationsmuskel des Auges) und der Iris³⁸⁶, ferner im Kammerwasser^{180, 356} erscheint fraglich, nachdem im Auge Ascorbinsäure vorkommt, die ebenfalls Hyaluronsäure abbaut (s. u.).

In tierischen Organen sind Spreadingfaktoren sehr weit verbreitet²³: in gesunder^{77, 365, 368, dagegen 177} und entzündeter Haut^{121, 325, 326, 392}, in geringen Mengen in den Wänden des Verdauungs- und Harntraktes⁶⁴, in pathologischen Gallenblasen⁴²⁸, in Milz^{78, 365, 366}, Lungen, Ovar, Placenta, Hirn, auch Niere und Leber^{78, 111, 278, 330}, in Schilddrüsenextrakten^{292, 330, 511}, in Hypophysenpräparaten (stärker in denen von Hinterlappen⁴⁷¹), im Harn⁷¹, im Rachengewebe¹⁸; im Blutserum^{70, 78, 278} ist wegen der Anwesenheit von Inhibitoren (s. u.) ein Hyaluronidase-Vorkommen nicht sehr wahrscheinlich. Im Synovial- und Periarticulargewebe konnte keine Hyaluronidase nachgewiesen werden⁴⁷³. Die Verteilung in den Organen von fetalen und erwachsenen Meerschweinchen war nicht sehr unterschiedlich¹⁵⁴.

Es ist nicht sicher, daß die im letzten Abschnitt berichteten Beobachtungen sich alle auf Hyaluronidase beziehen; es gibt auch Spreadingfaktoren, die keine mucoolytische Wirksamkeit besitzen, also keine Hyaluronidasen sind (s. unten).

Das an Hyaluronidase reichste Organ sind die Hoden von Säugetieren und Menschen (Fehlen bei Vögeln, Reptilien und Amphibien!)^{18, 111, 286, 423, 454, 521, 535, dagegen 457, 560}. In engstem Zusammenhang damit steht das Vorkommen im Sperma^{25, 129, 256, 286, 299a, 458}: Die Hyaluronidase stammt hier nicht^{25, 149, 225, 519} aus irgendwelchen Begleitdrüsen, sondern aus dem Keimepithel des Hodens (s. allerdings⁴¹³)). Dies ergibt sich^{65, 255} aus der Abhängigkeit von dessen Entwicklungsstadium^{272, 513, 519}, der positiven Beeinflussbarkeit durch Testosteronpropionat⁴⁵¹ und der Unterdrückung bei künstlichem Kryptorchismus (Fehlen d. Hoden) oder Hypophysektomie^{285, 289}. Der Höchstgehalt des Hodens wird schon beim Auftreten der Spermatocyten, der Vorstufe der Spermatozoen, erreicht^{450, 452}. Alloxandianthias ist ohne Einfluß auf den Hyaluronidase-Spiegel bei Ratten³⁹⁴.

Der Gesamthyaluronidase-Gehalt des Samens ist im allgemeinen unabhängig von der Morphologie und Beweglichkeit der Spermatozoen und geht parallel mit deren Zahl^{25, 129, 131, 256, 453, 481, 483, 499, 557, 558, 578}. Die Spermatozoen enthalten die Hyaluronidase offenbar in, von der Spermiogenese her, vorgebildetem Zustand; sie produzieren sie also nicht selbst⁵²⁰. Ein Teil diffundiert in das umgebende Samenplasma^{191, 458, 559}. Eine im Seeigelsperma gefundene Mucinase dürfte doch wohl keine Hyaluronidase sein³⁹³.

Meist schwächer wirksam³⁶⁵ als Testeshyaluronidasen und auch solche aus Blutgefäßen⁷⁷ sind die Hyaluronidasen bakterieller Herkunft^{18, 389, 579}. Dies ist das letzte Gebiet verbreiteten Vorkommens^{85, 111}). Ihre häufige Labilität oder ihre geringen Quantitäten erschweren die Auffindung hier manchmal sehr^{366, 420}. Sie treten intra- und auch extrazellulär auf³⁶⁸. Letzteres besonders, wenn es sich um mucoide, kapselbildende Stämme (z. B. verschiedene A-Streptokokken) handelt^{366, 429, dagegen 85}. Die in vitro-Hyaluronidase-Bildung steht bei den Bakterien

nicht in direkter Beziehung zu ihrem Typ oder ihrer Gruppenzugehörigkeit (oft bei ein und demselben Stamm variierend!)⁴⁸⁰). Es besteht im allgemeinen keine Korrelation zur Pathogenität⁸, Virulenz^{40, 111, 248, 532}, dagegen⁴⁸² und Wuchsform (mucoid oder nicht, mit oder ohne Kapsel).

Durch Hyaluronsäure-Zusatz zu den Kulturen z. B. von einigen Erysipelstümmlen³²², konnten die Hyaluronidase-Produktion erhöht^{49, 534, 535, 466} bzw. Hyaluronidase bildende Mutanten gezüchtet werden, ebenso durch Zusatz von (inhibitorhaltigem!) (s. u.) Serum⁴²⁸.

Über das Vorkommen bei verschiedenen Pneumokokken, Staphylokokken, Streptokokken und *Clostridium*-Arten wird bei^{185, 227, 366, 403, 428, 437} berichtet.

Durch Hyaluronat-Gaben konnten auch die Cercarien (Jugendformen) gewisser Saugwürmer zur Hyaluronidase-Bildung veranlaßt werden²⁹³.

Biologische Bedeutung

Stoffwechsel

Der Flüssigkeitsaustausch und die Diffusion der Stoffwechselprodukte^{115, 117, 356, 366} zwischen den Zellen und durch die Gefäßwände sind abhängig von dem Zustand des Körpergewebes. Sie werden also reguliert von dem wechselnden Polymerisationsgrad und damit der Viscosität der zwischen den Zellen liegenden und diese vermittelnden, an Hyaluronsäure reichen, Grundsubstanz. Diese bildet zugleich einen Wasserspeicher, so daß auch der Wasserhaushalt des Gewebes und hyaluronsäure-reicher Körperflüssigkeiten durch die Hyaluronidase beeinflußt wird.

Wenn auch über synthetische Leistungen der Hyaluronidasen bisher noch nichts bekannt geworden ist (im Prinzip kann jedes Ferment als Biokatalysator einen Vorgang in beiden Richtungen beschleunigen), so spricht das sehr verbreitete Vorkommen der Hyaluronidase im Gewebe doch für eine Beteiligung am Ab- wie auch Aufbau der Grundsubstanz. Gesteuert wird dies auch hormonell²⁷⁸): unter dem Einfluß der Keimdrüsenhormone steigt nicht nur die Hyaluronidase-Produktion der Testikeln (s. u.) an, sondern auch sehr hyaluronsäure-reiche Organe der sekundären Geschlechtsmerkmale, wie z. B. Hahnennkamm^{39, 278} und die Geschlechtshaut der Affen^{118, 121, 587}, vergrößern sich. Andererseits stehen die übrigen Gewebshyaluronidasen auch unter dem Einfluß der Schilddrüse²⁷⁸). Bei deren Mißfunktion entsteht das Krankheitsbild des Myxödems oder z. B. ein Prätibialödem (Ödem vor dem Schienbein) nach Basedow^{121, 278, 553, 569-571}. Übergeordnet dürfte jedesmal die Hypophyse sein.

Auch Vitamine greifen vielleicht in den Mucopolysaccharid-Stoffwechsel ein; rachitische Knochen sollen erhöhte Glucosamin-Gehalt wegen vermehrter Chondroitinschwefelsäure besitzen⁵⁵². Schließlich kommen auch nervöse Steuerungsmöglichkeiten in Betracht²⁷⁰.

Invasionen

Das Eindringen von Bakterien, bakteriellen und tierischen Giften in den Körper begünstigen Hyaluronidasen, die diese begleiten, entscheidend. Entsprechend tritt nach intradermaler bzw. subkutaner oder intramuskulärer Injektion von Hyaluronidasen ein verstärkter Spreadingeffekt auf^{116, 185, 320, 340, 341, 366, 407, 529, 542, 556, 590}. An verbrannten Hautstellen ist dieser Effekt gehemmt⁵⁵⁵). Diese durch Hyaluronidase beschleunigte und vermehrte Verbreitung (Diffusion)^{4, 21, 89, 108, 123, 148, 269, 489, 563} von Toxinen, Viren, Bakterien, Impfstoffen, Farbstoffen, gewissen Tumoren u. a.¹¹¹), wie auch die Verstärkung allergischer Reaktionen⁴⁷² in und unter der Haut beruht zweifellos zum großen Teil auf einem Abbau der die Gewebsschranke gegen Invasionen aller Art bildenden Mucopolysaccharidsäuren¹²¹). Doch handelt es sich bei dem „Spreading“ sicher um einen komplexeren Vorgang³⁷²): neben der Diffusion sind Änderungen der Kapillarpermeabilität^{1, 10, 29, 90, 114, 366, 379, 502} beteiligt. Auch die sogenannte Kapillarbrüchigkeit (Durchlässigkeit für größere Partikel) spielt eine Rolle¹¹⁶.

Eine Beeinflussung dieser letzteren „Fragilität“ durch Hyaluronidase⁴⁵ ist nicht wahrscheinlich: nach intravenöser Hyaluronidasegabe treten keine festen Blutbestandteile ins Gewebe aus¹³³.

Die Permeabilität von Membranen dagegen kann zweifellos unter dem Einfluß der Hyaluronidase verändert werden, wie sich aus in vivo- und in vitro-Versuchen an Frosch- und Kaninchengläsern, an getrockneten und überlebenden Harnblasenmembranen und an Synovialmembranen ergab^{493, 494}.

Intravenöse Hyaluronidase-Gaben führen zum Austritt von Blutflüssigkeit unter Ödembildung¹³³ an den Extremitäten; gleichzeitiger intravenös gegebener Farbstoff tritt an der Körperoberfläche auf^{10, 185}.

Daß es sich bei der Permeabilitätserhöhung nicht um einen obiger Diffusionsbeschleunigung im Gewebe analogen Vorgang eines Mucopolysaccharidabbaues zu handeln braucht, sondern daß Diffusions- und Permeabilitätswirkstoff evtl. unterschieden werden können^{349, 463, 522}), scheint möglich zu sein: manche gereinigte Testeshyaluronidasen rufen im Gegensatz zu rohen Präparaten⁴⁴⁹ und zu Schlangengifthyaluronidasen bei intradermaler (im Gegensatz zu intravenöser^{136, 449}) Injektion kein Durchtreten von intravenös gegebenem Farbstoff durch die Kapillaren in der Nähe der mit Hyaluronidase behandelten Hautstelle hervor^{90, 220, 463, 588}.

Die Erhöhung der Kapillar-Permeabilität hängt auch mit dem Auftreten histamin-artiger Substanzen zusammen¹³⁶, dagegen aber¹³⁵, bes. im Gefolge von Entzündungsscheinungen^{348, 351}). Jedenfalls verstärken Histamin-Zusätze zu gereinigter Hyaluronidase deren Spreadingwirkung^{50, 522}). Dieser Histamin-Effekt kann allerdings gerade auf einer Enthemmung oder Freilegung vorgegebener Hyaluronidase beruhen, wonach also doch wieder letzten Endes Permeabilitäts- und Diffusionswirkstoff identisch wären¹⁴¹).

Eine weitere Klärung liefert die starke Abhängigkeit der Hyaluronidase-Wirkung in der Haut von mechanischen Faktoren wie dem angewandten Druck und dem Flüssigkeitsvolumen^{219, 220, 223}). Unter einem gewissen Mindestdruck bleibt die Wirkung der Hyaluronidase in der Haut wegen ihrer nur geringen Eigendiffusion auf die engste Umgebung begrenzt. Hiernach wäre die enorm große Wirkung bakterieller und vieler in kleinsten Volumina wirksamen Schlangengift-Hyaluronidasen schwer verständlich, wenn nicht durch eine durch Begleitstoffe hervorgerufene lokale Entzündung (Histamin-Wirkung; nicht am toten Tier demonstrierbar!) indirekt der Druck zwischen den Zellen erhöht würde: hierdurch erst wird eine Weiterbeförderung der Hyaluronidase bewirkt. Damit wird dann der Weg geöffnet für nachkommende Giftstoffe oder Erreger²²⁰). Auf gleiche Weise wirken auch etliche „hyaluronat-inaktive“ Spreadingfaktoren²²³.

Hierzu paßt, daß bei experimenteller Infektion von Ratten mit *Cl. Welchii* die von diesem gebildete Hyaluronidase in den Muskeln erst etwa gleichzeitig mit der infektiösen Manifestation auftritt³⁴⁴). Ferner ist bemerkenswert, daß Hyaluronidase vor allem in den Schlangengiften mit zunächst örtlicher haemorrhagischer und nekrotischer Wirkung auftritt, weniger in solchen mit zentralem Angriffspunkt¹¹¹).

So öffnet die Hyaluronidase den Weg für zahlreiche tierische und Bakterientoxine sowie für die Erreger selbst^{37, 121, 214, 366}.

Daß die Spreadingfähigkeit vieler Bakterien nicht parallel der in vitro-Hyaluronidase-Bildung geht³⁶⁶), mag damit zusammenhängen, daß diese unter den in vivo-Bedingungen des „spreading“ eben anders verläuft⁴⁸⁰). Wichtig ist hier jedoch, daß an sich harmlose, aber hyaluronidase-bildende Bakterien die Wegbereiter werden können für pathogene nicht hyaluronidase-bildende Keime oder Viren²⁷⁹ (Mischinfektion), deren Wirkung sonst örtlich begrenzt bliebe^{27, 111, 342, 343}).

Die Hyaluronidase wirkt hier nicht auf den betreffenden Erreger, sondern auf den Wirtsorganismus ein^{237, 540}). Auch experimentelle Infektionen mit Viren und Bakterien lassen sich durch gleichzeitige Hyaluronidase-Applikation verstärken^{213, 237, 244, 428, 542}). Bei Bakterien (nicht Viren) darf hier allerdings keine zu geringe Keimzahl angewandt werden; infolge der durch die Hyaluronidase verstärkten Ausbreitung würde sonst die zur Erzielung eines manifesten Infektes nötige minimale Gewebskonzentration, die sog. „kritische Keimzahl“, unterschritten^{108, 109, 111}). Umgekehrt kann übrigens gerade eine durch irgendwelche Umstände verminderte Permeabilität des Gewebes zu einer sonst nicht üblichen Keimreicherung führen, wodurch normalerweise nicht pathogene Keime zu Infekten Anlaß geben können (Akne?)⁵¹².

Möglicherweise dient die Hyaluronidase den Bakterien auch dazu, durch Freilegung von Glucosamin aus dem Gewebe des Wirtes sich ein günstiges Nährsubstrat zu beschaffen^{533, 590}.

Das Vorkommen in autolytisierenden, kapseltragenden Bakterien^{426, 428}) spricht für sich selbst.

Schließlich ist zu bemerken, daß das Ausmaß der Spreadingwirkung wesentlich abhängig ist von Art und Zustand des

betreffenden Gewebes (Alter, Rasse, Geschlecht (!) und Gesundheitszustand des Individuums)^{16, 60, 111, 300, 302, 417, 501, 562}). In frischem Granulationsgewebe ist sie geringer⁸⁴).

Eine Herabsetzung der Blutkörperchenenseschwindigkeit durch einige Hyaluronidase-Präparate^{354, 356}) erwies sich als durch Pb-Spuren bedingt, die noch von der Reinigung herstammten³¹). Auch eine Hemmung der Blutgerinnung beruht noch auf Begleitstoffen und nicht auf Hyaluronidasewirkung⁵⁷⁶), ebenso wie eine Wirkung auf die Fragilität roter Blutkörperchen^{142, 152}).

Befruchtung

Daß das starke Hyaluronidase-Vorkommen in Säugertestes und -sperma eine Bedeutung für die Befruchtung haben dürfte, liegt eigentlich auf der Hand^{130, 160, 190, 254, 478, 518, 578}).

Ein im Sperma vorkommendes, den Schleimpfropf des Cervicalkanals²⁷⁶) auflösendes Enzym ist jedoch mit Hyaluronidase nicht identisch⁴²⁰).

Nach der Ovulation, dem Aufspringen des Follikels, bleibt das befruchtungsfähige Säugetiere noch mit einem Kranz Granulosazellen umhüllt. Diese „Corona radiata“ wird zusammengekittet durch eine wie Hyaluronsäure färbbare gelöse Masse⁶³), die unter dem Einfluß von Sperma⁴³⁰) und durch Hyaluronidasen verschiedenster Herkunft aufgelöst wird^{255, 345, 517, 618}).

Hierach kann die Rolle der Sperma-Hyaluronidase für die Befruchtung verständlich werden: damit nur ein Spermatozoon in das Ei eindringen kann, muß erst unter Einwirkung der von Millionen anderer Spermatozonen herstammenden Hyaluronidase diese Hülle abgelöst oder zumindest aufgelockert werden! Unter einer gewissen, für jede Tierart charakteristischen, Anzahl Spermien im Ejakulat tritt eine Befruchtung tatsächlich nicht mehr ein^{129, 253, 255, 477}).

Eine völlige Ablösung der Corona radiata findet in vivo allerdings nicht notwendigerweise statt: Auch in noch von Cumuluszellen umgebenen Ratteneiern wurden schon Spermatozonen aufgefunden^{7, 32, 68, 287, 399, 517, 618}). Spermienzahl und Hyaluronidasegehalt des Gesamtsperas müssen zueinander in innerhalb bestimmter Grenzen liegendem Verhältnis stehen^{160, 483}). Auch Trypsin bewirkt Denudifikation des Eis⁴³¹), jedoch infolge Angriffs auf die Eihaut selbst. Ein solcher tritt mit Hyaluronidase nicht ein³⁴⁶).

Da Eier anderer Tiergattungen nicht von solchen Cumuluszellen umgeben sind, wird das Fehlen von Hyaluronidase dort verständlich^{115, 153}).

Daß im übrigen, ähnlich wie das „Spreading“, auch die Befruchtung ein sehr komplexer Vorgang ist, ist selbstverständlich. Hierfür spricht, daß Zusatz auch hyaluronidase-freier Samenflüssigkeit bei Kaninchen die Befruchtungswahrscheinlichkeit erhöhen soll⁶⁷).

Darstellung und Eigenschaften

Zur Darstellung geht man fast ausschließlich von Hoden^{9, 162}) aus, zweckmäßig von Stieren. In speziellen Fällen wird Hyaluronidase aus Sperma⁴²¹) oder Bakterienkulturen^{145, 214, 216} gewonnen.

Beginnt wird die Freilegung der offenbar meist intrazellulär vorliegenden Hyaluronidase durch vorheriges Gefrieren oder Bebrüten der Testes bzw. des Spermias^{288, 421, 620}).

Auch bei Bakterienkulturen (Streptokokken¹⁶²), *Cl. Welchii*³¹²), *Cl. perfringens*⁴⁶⁷), zweckmäßig mit Hyaluronat-Zusatz^{49, 466}), *Welch-Fraenkelbazillus*⁵⁷⁵) läßt man es zur Autolyse kommen. Staphylokokken scheinen nur extrazelluläre Hyaluronidase zu produzieren⁸⁸).

Die Methoden der Reinigung sind die üblichen der Eiweiß- und Fermentchemie: wäßrige Extraktionen, fraktionierte Aussalzungen, Fällungen mit Schwermetallsalzen^{204, 205, 313, 398}), Fällungen mit organischen Lösungsmitteln^{79, 160}), Adsorption an Kohle oder dgl.^{204, 312, 323}), dazu (Elektro-)Dialyse⁹) und Elektrophorese²⁰⁴).

Zur Gewinnung eines Trockenpräparates wird zweckmäßig die Gefriertrocknung als schonendste Methode benutzt.

Inaktivierung tritt innerhalb einiger Stunden bei 57°, innerhalb 1 min bei 100° ein; ein starker saures (ca. 3) wie alkalisches (ca. 9) pH zerstört die Wirksamkeit ebenfalls, ja schon verhältnismäßig kleine pH-Änderungen durch Pufferzusätze können schädlich wirken. Abhängig sind diese Reaktionen natürlich stets vom Reinheitsgrad, der Konzentration und der Art der Begleitstoffe. Zweckmäßig werden Hyaluronidase-Lösungen bei einem pH von 4,5–5,0 bei weniger als 5° C oder eingefroren aufbewahrt^{79, 160, 346, 550}). Ebenso vom Reinheitsgrad ab-

hängig ist die Inaktivierung durch Röntgenstrahlen⁴⁹) und UV-Licht⁹). Formaldehyd inaktiviert^{16, 49}), ebenso kleine Mengen Jod, durch Arsenit reversibel³⁶⁶).

Trockenpräparate können durch Zusätze von einem aus Gelatine gewonnenen Polypeptid stabilisiert werden³⁴⁶). Wahrscheinlich beruht dies jedoch nur auf seinem Wasserbindungsvermögen. Durch sorgfältige Trocknung der schwach hygroskopischen Produkte wird völlige Stabilität erreicht (bei 120° über 30 min; 57° – wochenlang (eigene Beobachtung)).

Natürlich müssen die Lösungen bei der Herstellung vor Infektionen geschützt werden (evtl. Zephrolzusätze³⁴⁶)). Verständlicherweise inaktivieren etliche proteolytische Fermente⁷⁹).

Pharmakologisch ist zu sagen, daß Hyaluronidase-Präparate in den praktisch verwandten Dosen nicht toxisch und frei von fiebererregenden und sensibilisierenden Wirkungen sind^{251, 265, 492, 533, 548}). Als Eiweißkörper sind sie jedoch Antigene, auch nach Inaktivierung mittels Formaldehyd (s. u.).

Das Schicksal von intravenös gespritzter Hyaluronidase ist verschieden: bei schnellem Verschwinden aus dem Blut³⁵⁶) wird von Ratten^{137, 321}) nichts oder nur ein Bruchteil im Harn wieder ausgeschieden im Gegensatz zu Kaninchen und Hunden⁴⁹² jedoch 137).

Chemische Wirkung

Die chemische Wirkungsweise der Hyaluronidase besteht in einem stufenweisen hydrolytischen Abbau der Mucopolysaccharide^{93, 339, 359, 366, 560}).

- 1) Zunächst erfolgt Aufspaltung von Anhydrid-Bindungen^{207, 368, 590}); diese ist begleitet von einem ersten Viscositätsabfall und vor allem dem Verlust der Fähigkeit mit Serumalbumin beim Ansäuern ein Gerinnsel zu bilden^{336, 357}).
- 2) Die weitere Hydrolyse zu immer noch polymeren, noch nicht dialysablen Produkten ist vom Verschwinden der Viscosität begleitet²⁰⁶) und vom darnach folgenden Ausbleiben einer Trübung beim Ansäuern zusammen mit Albumin. (Die Viscositätsminderung der Synovialflüssigkeit ist auch in vivo nachweisbar nach Injektionen von Hyaluronidase in Gelenke⁴⁴⁶).
- 3) Die nächste Stufe ist die Aufspaltung zu niederen Oligosacchariden, wahrscheinlich aus je einer Molekeln Acetylhexosamin und Glucuronsäure bestehenden Disacchariden. Dies ist verbunden mit dem Auftreten reduzierender Substanzen, allerdings erst in ca. 60% der theoretisch möglichen Menge²⁰⁶).
- 4) Die letzte Stufe schließlich ist die Aufspaltung zu Monosacchariden.
- 5) Soweit Schwefelsäure in der Molekeln gebunden war (Hyaluronschweifelsäure der Cornea, Chondroitinschweifelsäure), kann auch diese zu irgendeinem Zeitpunkt noch abgespalten werden.

Am schnellsten verlaufen die Vorgänge 1 und 2 (Minuten bis wenige Stunden), 3 und 4 setzen erst darnach ein³³⁹). Im Prinzip hat man es also zu tun mit der Wirkung mindestens einer Depolymerase (1 und 2), einer Mucopolysaccharase (3), einer Mucooligosaccharase (4) und einer Sulfatase (5). Ob man es tatsächlich mit einem Gemisch aller dieser Einzelerne zu tun hat, oder ob einige prosthetische (Wirk-)Gruppen auf einem Träger (Apoferment) vereinigt sind, läßt sich nicht sagen. Eine Trennung in Co- und Apofermente ist bisher noch nicht beschrieben.

Im Zusammenhang mit dieser Wirkungsspezifität steht auch die Substratspezifität: nicht alle Hyaluronidasen verschiedener Herkunft haben den gleichen Wirksamkeitsbereich. Während rohe Testes-Hyaluronidase sowohl Hyaluronsäure und deren Schwefelsäureester wie Knorpel-Chondroitinschweifelsäure (nicht solche aus Haut, wenig die aus Nabelschnur⁵⁵⁸), abzubauen vermag^{206, 249, 319, 366, 492}), wirkt Pneumokokken-Hyaluronidase nur auf Hyaluronsäure und Hyaluronschweifelsäure^{364, 366, 383}). Streptokokken-Hyaluronidase schließlich kann nur noch Hyaluronsäure angreifen⁴⁴).

Offenbar sind in den Hyaluronidasen verschiedener Herkunft die einzelnen Wirkgruppen in verschiedenem Ausmaß vertreten^{467, 468}). Hiermit hängen auch die Unterschiede der pH-Wirkungsoptima zusammen: für Testes-Hyaluronidase ist es

ca. 4,5, für bakterielle Hyaluronidasen variierend 5,4–7,0⁴⁸⁹). (Wegen Abhängigkeit des optimalen p_H von der Salzkonzentration siehe³⁸⁸). Auch die Reaktionskinetik ist bei den verschiedenen Hyaluronidasen meist unterschiedlich²⁴⁹). Daß die Testes-hyaluronidase noch ein Nebenoptimum bei ca. p_H 6 hat, deutet schon darauf hin, daß es sich hier um einen Komplex von wenigstens zwei Fermenten handelt³⁸⁸). Tatsächlich wird die mucoligosaccharatische Wirkung beim gewöhnlichen Reinigungsverfahren völlig abgetrennt. Der Abbau der Hyaluronsäure bleibt dann mit solchen Fermentpräparaten auf der Disaccharidstufe stehen^{205, 207}). Aber auch hochgereinigte Testes-Hyaluronidase-Präparate waren elektrophoretisch bisher noch nicht einheitlich; sie wirkten auch stets noch viscositätssenkend und disaccharidbildend²⁰⁴).

Eine Auftrennung bakterieller Hyaluronidasen scheint noch nicht gelungen zu sein. Hiermit tritt stets völlige Spaltung bis zur Monosaccharidstufe ein^{388, 383}.

Ob es bei der Uneinheitlichkeit der Fermente zweckmäßig ist, die Hyaluronidasen einfach als „Mucopolysaccharasen“ zu bezeichnen⁵⁷⁷), scheint doch fraglich zu sein. Besser wäre es wohl zur Klassifizierung der ganzen Gruppe den alten Begriff „Mesomucinasen“¹⁴⁸) wieder aufzurufen. Es würde dadurch zum Ausdruck gebracht, daß nicht nur Hyaluronsäure das Substrat ist, andererseits aber die Abgrenzung gegen die nicht angreifbaren epithelialen Mucopolysaccharide gegeben.

Eine in Testespräparaten vorkommende β -Glucosaminase^{125, 126}) hat mit Hyaluronidase nichts zu tun²⁴⁹).

Wie für Fermente üblich, ist die Wirkung der Hyaluronidase stark von der Temperatur (Optimum 30–40°), dem p_H (s. o.) und dem Milieu abhängig^{22, 178, 314, 317, 391, 577}). Bei letzterem spielen die Salzkonzentration und die Anwesenheit von Aktivatoren und Inhibitoren (s. u.) eine große Rolle. Für rohe, nicht inhibitorfreie Hyaluronidase ist charakteristisch die Bindung ihrer Wirksamkeit an eine optimale Salzkonzentration, die nicht wesentlich über- oder unterschritten werden darf. Dies kann vielleicht Bedeutung für die physiologische Steuerung der Hyaluronidase im Organismus haben.

Auswertungsmethoden

Auf Grund der vorher beschriebenen biologischen und chemischen Wirkungen der Hyaluronidase ergeben sich nun folgende Bestimmungs(Test-)methoden:

- 1) **Chemische Teste**
 - a) Viscositätsminderungstest (viscosity reducing = v. r.)
 - b) Bestimmung der Zunahme reduzierender Substanzen, evtl. speziell des Glucosamins
 - c) Mucingerinnel-Verhinderungstest (mucin clot prevention = m.e.p.)
 - d) Ringtest (qualitativ)
 - e) Trübungsverminderungstest (turbidity reducing = t. r.)
- 2) **Biologische Teste**
 - a) Farbausbreitungstest (spreading)
 - b) Quaddeltest
 - c) Decapsulationstest
 - d) Ratteneitest
 - e) Haematokrittest
 - f) qualitativ histochemischer Nachweis.

Zu allen Testarten ist zu bemerken, daß sie natürlich nur unter genauestens festgelegten Bedingungen (Temperatur, Zeit, p_H , Salzkonzentration, Pufferart, absol. Konzentration und Art des Substrates) durchgeführt werden können.

Z. B. kann Streptokokken-Hyaluronidase wegen ihrer Unstabilität im sauren Bereich nur bei p_H 7 viscosimetrisch getestet werden²¹¹).

1a) Der v.r.-Test ist der einfachste. Man braucht nicht notwendigerweise ein Viscosimeter, sondern eine kapillar ausgezogene Pipette mit 2 Meßmarken und ein guter Thermostat genügen vollauf^{48, 88, 87, 204, 207, 211, 245, 299a, 577, 578}). Es wird meist die sog. „Halbwertszeit“ bestimmt: das ist die Zeit, die das Ferment wirken muß, damit die Auslaufzeit des Viscosimeters das Mittel zwischen Lösungsmittel- und Ausgangswert erreicht. Der reziproke Wert gibt dann ein Maß für die Fermentstärke^{174, 198, 315, 317}). In Grenzen besteht Unabhängigkeit von der Substratkonzentration; bei Enzymüberschuß bzw. niedriger Substratkonzentration wird die Reaktion abhängig von dieser⁵²⁴), also nullter Ordnung⁹³). Dies entspricht den üblichen Wirkungsmechanismen von Fermenten.

Zwei Hyaluronsäure-Lösungen gleicher Viscosität können völlig verschieden sein: die eine enthält verhältnismäßig wenige, aber hochpoly-

mere Moleküle, die andere umgekehrt viele niederpolymer. Der Verlauf der Viscositätsabnahme und der Proportionalitätsbereich^{202, 204}) werden daher bei beiden Lösungen völlig verschieden sein, so daß die Ergebnisse nicht zu vergleichen sind.

Man kann auch die relative Viscositätsänderung nach einer bestimmten Zeit messen, die in gewissen Grenzen dem Logarithmus der Enzymkonzentration proportional ist⁵²⁴).

1b) Man bestimmt wie üblich die reduzierenden Substanzen und berechnet sie als „Glucose“. Die Reaktion dauert lange und liefert nur an Hand von Standardkurven auswertbare Ergebnisse^{204, 207, 236, 469}).

Die mögliche Gesamtmenge zu bildender „Glucose“ ist für jedes Ferment, je nach seiner Zusammensetzung aus den verschiedenen Teilwirkgruppen, verschieden.

1c) Der sehr empfindliche m.c.p.-Test beruht auf der Eigenschaft der nativen Hyaluronsäure, mit angesäuertem Serum ein Gerinnel zu geben. Bei der Herstellung von hierfür geeignetem Natriumhyaluronat muß zur Vermeidung vorherigen Abbaues ein starker alkalisches p_H vermieden werden³⁵⁷).

Durch Reihenverdünnungen bestimmt man die zur Verhinderung eben nötige Hyaluronidasmenge^{162, 439}). Verbessert wird der Test durch Verwendung kristallisierten Serumalbumins³³⁶).

Eine Variation dieses Testes stellt die Beobachtung des Verschwindens der „Spinnbarkeit“ (Fadenbildungsvermögen) von Synovialflüssigkeit unter Hyaluronidase-Einwirkung dar¹⁹⁷), evtl. unter Kongo-Zusatz zur besseren Sichtbarmachung⁴⁷).

1d) und e) Auch nach Verschwinden des Gerinnelbildungsvermögens verbleibt noch das Auftreten einer Trübung auf Zusatz von saurem Pferdeserum zur Hyaluronsäure (Ringbildung im Reagenzglas²⁷⁵)). Die Trübungsverminderung nach Einwirkung von Hyaluronidase kann turbidimetrisch gemessen werden^{49, 88, 98, 216, 217, 259, 288, 390, 491, 550, 551, 567}). Als Substrat kann hier auch gereinigte Hyaluronsäure genommen werden, die nicht nur kein Gerinnel mehr gibt, sondern auch nur wenig viscos ist³⁶⁹).

2) Allen biologischen Testen gemeinsam ist natürlich der viel größere Unsicherheitsfaktor aller solchen Auswertungen. Dazu kommt noch, daß die jeweils zugrunde liegenden Vorgänge längst nicht so eindeutig wie bei 1) sind. Wegen der Komplexität der Vorgänge werden verunreinigende Begleitsubstanzen der Hyaluronidasen bzw. auch deren varierende Zusammensetzung selbst evtl. von großem Einfluß auf das Ergebnis sein (vgl. z. B. 152)). Dies gilt besonders für den

2a) Spreading-Test. Man injiziert unter genau festzulegenden Bedingungen Tusche-, Trypanblau- oder Haemoglobin-Lösungen mit und ohne Hyaluronidase in die Haut und stellt nach einer bestimmten nicht zu langen Zeit die Größendifferenz der beiden Farbflecke fest^{6, 11, 18, 246, 372}). Man kann auch die minimale, zur Erzielung eines Effektes nötige Hyaluronidase-Konzentration bestimmen³³⁹), oder man mißt die Zeit bis zum Verschwinden durch Fluorescein-Beigabe hervorgerufener Fluoreszenz⁵⁰¹).

Bei diesem Test besteht nur in begrenztem Gebiet eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der Dosis und der Wirkung¹⁴⁰). Der Einfluß rein mechanischer Faktoren wie des Druckes und des Injektionsvolumens macht sich stark bemerkbar.

Bei konstantem Volumen tritt bei Erreichung einer gewissen Grenze keine weitere Erhöhung der Wirkung ein. Die Hyaluronidase diffundiert nur bis zu einer durch den Druck bestimmten Entfernung von der Injektionsstelle. Auch weitere Steigerung der Enzymkonzentration bewirkt dann keine Änderung mehr²²⁰). Auf die Bedeutung entzündlicher Begleiterscheinungen wurde oben schon hingewiesen.

2b) Es wird die Zeit gemessen, die bis zum Verschwinden von Quaddeln vergeht, die durch intracutane Injektion von Lösungen mit und ohne Hyaluronidase entstanden sind¹⁶⁸). Wesentlich verbessert wird der Test durch Messung der Quaddelfläche an der Hautinnenseite der 20 min nach intradermaler Injektion getöteten und gehäuteten Tiere²⁴⁶), wobei die kurze Reaktionszeit sehr wesentlich ist²²³).

2c) Die Auflösung der hyaluronsäure-haltigen Kapseln von geeigneten Streptokokken-Kulturen (A oder C)⁴⁹⁰) durch Reihenverdünnungen von Hyaluronidase kann als Maß für diese genommen werden^{165, 166, 335}).

Dieser Test ist wegen seiner Unabhängigkeit trübenden oder viscosen Begleitsubstanzen gegenüber für die Testung von Serum- und Körper-

flüssigkeiten besonders geeignet, wenn auch zum t.r.-Test keine direkte Parallelität zu bestehen scheint¹⁶⁷.

2d) Ebenso kann die Zeit beobachtet bzw. die Hyaluronidase-Verdünnung bestimmt werden, die noch eben zur Ablösung der Cumuluszellen (Follikelzellen, Corona radiata) vom Rattenei („Denudification“) führt²⁸⁴.

2e) Intravenös gegebene Hyaluronidase führt zum Austritt von Blutflüssigkeit durch die Kapillaren und damit zur Bluteindickung. Diese wird an Hand des Haematokrits gemessen, der das Volumenverhältnis von Plasma zu roten Blutkörperchen angibt; sie liefert dadurch wieder ein Maß für die Hyaluronidase¹³⁴.

2f) Schließlich beruht ein qualitativer Nachweis von Hyaluronidase auf der Veränderung der Färbbarkeit von histologischen Schnitten nach Hyaluronidase-Einwirkung^{20, 44, 210, 278, 281, 581, 580}.

Wie schon aus dem Vorherigen hervorgeht, wird man eine strenge Parallelität der nach verschiedenen Methoden gewonnenen Testergebnisse nicht erwarten dürfen. Sowohl die Hyaluronidase-präparate selbst wie die Substrate sind dafür zu uneinheitlich wie auch die Grundlage der einzelnen Testmethoden zu verschieden (auch sind z. B. der m.c.p.- und der v.r.-Test wesentlich stärker salzabhängig als die reduktometrische Methode³³⁸).

Trotzdem dürfte die gemeinsame Basis aller Teste bzw. der dazugehörigen Vorgänge doch die Wirkung ein und derselben Fermentkomplexes sein^{84, 146, 204, 207}. Zweifel z. B. an der Identität des oder zumindest eines für das Zustandekommen des Spreadingeffektes wichtigen Faktors mit der den v.r., m.c.p.- und t.r.-Test gebenden Mucinase bestehen nicht mehr. Bei geeigneter Angleichung dieser letzteren Teste an die physiologischen Bedingungen des Spreading-Testes (p_H zwischen 6 und 7 bei der Einwirkung der Hyaluronidase!) tritt Übereinstimmung der Meßergebnisse auf³³⁸.

Zwischen Ratteneitest und t.r.-Test besteht gute Parallelität²⁸⁴, ebenso zwischen Trübungs- und Gerinnungstest²¹⁷), während zwischen m.c.p.- und v.r.-Test bei Hyaluronidasen verschiedener Herkunft oft große Diskrepanzen auftreten⁴⁶⁶. Betont muß jedoch noch werden, daß wohl alle hyaluronsäure-abbauenden Fermente spreading-Wirkung besitzen; umgekehrt brauchte ein Spreadingfaktor keine Hyaluronidase zu sein^{238, 338}.

Aus den verschiedenen chemischen Testverfahren werden sog. „Viscositäts-, Gerinnsel- und Trübungseinheiten“ (v.r., m.c.p. und t.r. units) abgeleitet. Untereinander kann man bei diesen keine feste Relation angeben: verwendet man z. B. einmal eine höchst viscose, unter Vermeidung von Alkali, hergestellte Hyaluronsäure und ein anderes Mal eine wie gewöhnlich gewonnene, etwa 10 mal geringer viscose Säure als Substrat, so ändert sich das Verhältnis von v.r.- zu t.r.-Einheit um das etwa 80-fache³³⁷! Solange es also keine internationalen Standardpräparate von Hyaluronsäure wie von Hyaluronidase zu Vergleichszwecken gibt, können die Angaben verschiedener Laboratorien nur begrenzt zueinander in Beziehung gesetzt werden⁹³. Zweckmäßig wird man bei jeder Auswertungsmethode stets irgend ein Kontrollpräparat als Standard mitlaufen lassen.

Aktivatoren und Inhibitoren

Die Hyaluronidase-Wirkung wird wesentlich vom Milieu beeinflußt; neben der Ionenkonzentration spielt die Anwesenheit von beschleunigenden oder hemmenden Faktoren eine ausschlaggebende Rolle.

Spezifische Aktivatoren sind noch nicht bekannt geworden, wenn man von einer gewissen günstigen Wirkung von Ca-Ionen⁵⁷⁷ absieht. Speziell im Spreading-Test günstig wirkende Agentien wie Lecithin, Pepton¹¹⁵), Glycerin, Triacetin, As_2O_3 dürften wohl meist über einen sekundären Histamin-Effekt wirken (s. o.).

Daß Stoffe, die selbst schon eine Viscositätsminderung der Hyaluronsäure hervorrufen, auch das Spreading begünstigen oder sogar ein solches schon allein bewirken können, ist verständlich.

Der Reaktionsmechanismus solcher „künstlichen“ Fermente ist allerdings ein völlig anderer: z. B. werden auch andere Substrate, wie epitheliale Schleime⁴⁶⁰ und Stärke⁵⁰⁷) angegriffen. Bei der Einwirkung von Vitamin C (bes. bei H_2O_2 - oder Cu-Zusatz)^{462, 470} treten keine reduzierenden Substanzen auf. Dies wurde inzwischen auch hinsichtlich des Einflusses der Diazosul-

fonate nachgewiesen³³⁹). In ähnlicher Weise wirken diazotierte Proteine⁷⁸) viscositätsmindernd und spreading-erhöhend, ferner etliche reduzierende Substanzen wie Phenylhydrazin/ H_2O_2 , Thioessigsäure und Bisulfit, Cystein und Glutathion¹⁷⁸) (vielleicht über Schwermetallkomplex-Bildung²⁶⁹), weiter Histamin^{141, 577}) und Adrenalin⁵⁷⁷). Das letztere wirkt allerdings nicht als Spreadingfaktor, sondern hemmt hier sogar^{72, 241}), stärker noch als das zugehörige Chinon Adrenochrom⁷²) bei parenteraler (unter Umgehung des Verdauungstraktus) Anwendung; möglicherweise geht die Wirkung über die Nebennierenrinde (NNR) (s. u.). Mit luteinisierendem Hormon vorbehandelte Kaninchen zeigten verstärkten Spreadingeffekt^{301, 503}.

Bei Permeabilitätsversuchen an Membranen wirkte Desoxycorticosteronacetat (Cortiron) besonders stark durchlässigkeitserhöhend^{493, 494}), ohne durch eine gleichzeitige Hyaluronidasegabe verstärkt zu werden. Bemerkenswert ist, daß an mit Toluol, Xylol u. ä. bepinselten Hautstellen intravenös gegebener Farbstoff durch die Kapillaren austritt⁹¹). Hg-haltige Diuretica (z. B. Salyrgan) besitzen interessanterweise ausgesprochene spreading-Wirkung und beschleunigen auch die Ab- und Resorption subkutan gespritzter Lösungen und Kolloide¹²⁷.

Bei den Inhibitoren unterscheidet man zweckmäßig 3 Gruppen: 1) definierte Verbindungen; 2) spezifische Antikörper und 3) unspezifische, thermolabile proteinähnliche Inhibitoren. 2) und 3) finden sich vor allem im Serum.

Die Auswertung der Inhibitoren erfolgt nach entspr. Variierung einer der üblichen Testmethoden^{216, 218, 284, 338, 439, 573}). Es wird entweder in Reihenverdünnungen die zur Erzielung eines Effektes nötige Minimaldosis bestimmt; oder es wird die prozentuale Wirksamkeitsminderung im Vergleich zu einem Kontrolltest angegeben¹⁷⁴); oder aber der Absolutwert des inaktivierten Ferments wird in Hyaluronidase-Einheiten ausgedrückt²¹⁵). Die Angaben sind natürlich abhängig von der absoluten Konzentration, bei der die Messung ausgeführt wird.

Bei der Verschiedenheit der Grundlagen, auf denen die Hyaluronidase-Testmethoden beruhen, ist ein Inhibitor in verschiedenen Testen nicht unbedingt gleich wirksam^{238, 372}): Vitamin C z. B. wirkt im Trübungstest hemmend¹⁷), im Viscositäts- und Spreading-Test dagegen selbst als künstliches Ferment (s. o.).

Als Inhibitoren bekannter Zusammensetzung wirken zahlreiche Phenole⁵⁸), abhängig von der Zahl der OH-Gruppen und der Länge der Seitenketten (z. B. 0,1% Hexylresorcin 300 mal so stark wie 10% Salicylat).

Die Hyaluronidase-Hemmung durch Salicylat wurde eingehender untersucht im Hinblick auf seine Verwendung bei rheumatischen Erkrankungen (s. u.). In vitro trat keine Hemmung auf bei Konzentrationen, wie sie bei therapeutischer Anwendung im Organismus zu erwarten wären^{100, 171, 297, 425, 523}). Auch in vivo wurde die Hyaluronidase-Wirkung auf durch Hyaluronsäure erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit durch Salizylat nicht gehemmt⁵⁸⁴).

Die spreading-Wirkung subkutan gegebener Hyaluronidase wird andererseits gestört durch intravenös oder per os verarbeitetes Salicylat^{57, 194, 195, 198, 500, 501}). Dies richtet sich allerdings nur gegen das durch Histamin verstärkte Spreading⁵²²), sei es, daß Histamin zu gereinigten Hyaluronidasen zugesetzt wurde, die frei von permeabilitätssteigernder Wirkung waren (s. o.), sei es bei rheumatischen Erkrankungen (s. u.)¹⁷¹), sei es, daß ungereinigte Hyaluronidase-Präparate bzw. speziell Schlangengift-Hyaluronidasen verwandt werden (s. o.). Ebenfalls hemmend wirkt Salicylat auf experimentelle Infektionen von Kükenembryonen mit Hyaluronidase-Bildnern⁴⁸²). Auch eine im Harn erscheinende Salicylsäure/Gentisinsäure-Verbindung wirkt hemmend^{378, 448}), ferner das Chinon der Gentisinsäure als mögliches Stoffwechselprodukt der Salicylsäure²⁸⁷.

Hier nach wird die Hemmwirkung von Antihistaminicis verständlich^{327, 408}), die auch im Haematokrit-Test¹²⁶), nicht jedoch in vitro auftritt^{400, 498, 508}.

Daß nitrierte oder acetylierte Hyaluronsäure-Derivate hemmend wirken^{157, 202, 432}), könnte mit einer Konkurrenzreaktion erklärt werden. Ob das gleiche für Heparin^{335, 467, 500, 523}) zu trifft, ist unsicher. Desulfonierte Heparin wirkt nicht mehr als Inhibitor, da anscheinend nur saure Polysaccharide Hemmstoffe darstellen können³⁵⁸). Bemerkenswert ist, daß das wie Heparin blutgerinnungshemmend wirkende synthetische Dicumarol

ebenfalls ein Hyaluronidase-Inhibitor ist¹⁷), ähnlich wie andere Anticoagulantia (Pclsulfonate u. a.)^{24, 25}.

Auf die Bedeutung der Kapillarfragilität für Diffusionsvorgänge wurde oben hingewiesen. Es war naheliegend⁴¹⁶), solche Substanzen auf Hyaluronidase-Hemmung zu prüfen, die die Fragilität herabsetzen: dies sind die Vitamin P-Substanzen, Glucoside von Flavon-Derivaten⁷³), die in Citrusfrüchten vorkommen. Von diesen war das Rutin in vitro und in vivo tatsächlich wirksam^{17, 284}), nicht jedoch im Haematokrittest¹⁸³). Hesperidin hemmte in vitro erst nach Vitamin C-Zusatz¹⁷), seine Derivate (Sulfat, Phosphat) jedoch schon allein¹⁸). In vivo hemmte Catechin, besonders zusammen mit Vitamin C⁴¹⁶.

Auch Haemin und Bilirubin wirken inhibierend; letzteres ist wahrscheinlich verantwortlich für die Hemmwirkung von Galle⁶⁷³). Weiterhin hemmt Germanin¹⁸). Zu beachten ist, daß als Lösungsmittel benutztes Propylenglykol im spreading-Test hemmt²⁹⁴). Über spreading-Hemmung durch Ca-Gluconat und Urethan liegt eine Reihe älterer Arbeiten vor⁴²³).

Von allgemeinerem Interesse sind die von Sterinen bewirkten Hemmungen⁵⁷³) im Hinblick auf eine mögliche hormonale Steuerung der Permeabilitätsvorgänge^{493, 494}). Im Viscositätstest sind Cholesterin, Progesteron, Oestron, Testosteron u. a. nahezu unterschiedslos, Cortiron etwas stärker, noch in extremen Verdünnungen wesentlich aktivitätsmindernd (eigene Beobachtung, dagegen²²³).

Im Permeabilitätsversuch an Harnblasen- und Synovial-Membranen^{493, 494}) waren Extrakte der Nebennierenrinde (NNR) stark hemmend gegen Hyaluronidase (übrigens auch im spreading-Test, s. u.). Gleiche Wirkungen wurden erzeugt durch das übergeordnete adrenocorticotrope Hormon. Als eine wirksame Komponente der NNR wurde das Cortisone (Compound E) (vgl. 230, 231) erkannt, während das ebenfalls NNR-aktive Cortiron hier die Hyaluronidase nicht hemmte, sondern im Gegen teil selbst permeabilitätsaktiv war (s. o.). Andererseits wirkte 21-Acetoxy pregnenolon noch stärker als Cortisone⁴⁹⁵.

Gemessen wurde beim in vivo-Versuch die Zeit, die ein gleichzeitig ins Kniegelenk gespritzter Farbstoff zum Durchtritt durch die Synovialmembran bis zur Ausscheidung im Urin benötigt.

Nicht nur hemmend in diesem Test, sondern sogar die Richtung der Permeabilität umkehrend wirkten Sterine mit weiblicher Hormonwirkung, wie Oestron, Equilin und Equilenin.

Dies wirft ein Licht auf Beobachtungen, nach denen sowohl die Infektionsbereitschaft wie die Ausbreitung von Farbstoffen in der Haut von Sexualhormonen beeinflußt wird (Cyclus, Schwangerschaft)^{301, 303, 514-516}). Umgekehrt ist vor der Pubertät die Infektionsbereitschaft größer (Kinderkrankheiten!)¹¹⁸). Ebenso ist die Farbstoffausbreitung in der Haut bei nebennierenlosen Tieren verstärkt^{408, 410}), beide Male wegen Fehlens der entsprechenden Sterine. Tatsächlich hemmt NNR-Extrakt den Durchtritt von intravenös gegebenem Farbstoff durch die Kapillaren^{66, 90, 360}). Entsprechend wird im spreading-Test die Hyaluronidase durch NNR-Extrakte gehemmt^{408, 412}), vielleicht auch durch Cortiron + Vitamin C⁵⁰¹). Gleichermaßen bewirkt Stimulierung der NNR durch Morphin⁵⁶⁻³²⁷) oder Adrenalingaben⁵⁰¹) und anscheinend auch durch Klimaänderungen (Temperaturerhöhung)^{56, 327, 409}). Temperaturerniedrigung (Eisbeutel!) verstärkt umgekehrt das Spreading (Erkältungen)⁴⁰¹.

Daß die hemmende Wirkung eines Schocks („Alarmreaktion“, z. B. nach Colchicin-Gaben⁴⁹³), nicht über die NNR zu gehen braucht, wurde an NN-losen Ratten wahrscheinlich gemacht, denen man Verletzungen beibrachte⁵⁸⁵). Hier trat trotz fehlender NN eine Hemmung des spreading-Testes auf. Nach Rückenmarksdurchtrennung ist die Gewebspermeabilität vermindert²⁴²), ähnlich nach Hypophysenvorderlappenextrakt- und Parathormongaben⁵⁷⁴).

Daß ein großer Überschuß Hyaluronsäure die Hyaluronidase inaktivieren kann³⁶⁷), dürfte mit einer Substratvergiftung erklärbar sein²⁰²). Sulfonamide und Penicillin hemmen nicht¹⁸⁸.

Antikörper

Da die Hyaluronidasen echte Eiweißverbindungen sind, stellen sie natürlich Antigene dar. Bei wiederholter Injektion können in üblicher Weise Antiseren erhalten werden, die spezifische Antikörper gegen die benutzte Hyaluronidase enthalten^{16, 61, 61a, 115, 405, dagegen 227}).

Diese sind nicht nur gegen Testes- und Bakterienhyaluronidasen, sondern bei Testeshyaluronidasen auch je nach Tierart verschieden und spezifisch¹⁰⁶). Die Testeshyaluronidaseproduktion ist bei immunisierten Tieren nicht verändert¹⁰⁶), ebensowenig ist der Ratteneitest mit Eiern immunisierter Tiere gestört²⁸⁸).

Bemerkenswert ist, daß menschliches Normalserum üblicherweise eine gewisse Menge Antikörper gegen Hyaluronidase haemolytischer A-Streptokokken^{163, 164, 546, 547}) und von Pneumokokken⁵⁴³) enthält. Es handelt sich offenbar um eine natürliche Immunität infolge des allgemeinen Vorkommens der betr. Bakterien.

Die Antikörper sind wie üblich „thermostabil“, d. h. sie werden bei halbstündigem Erwärmen auf 56° nicht zerstört. Beim Menschen sinkt im ersten Lebenshalbjahr ihre Konzentration (noch passive Immunität von der Mutter her); bis zum 20. Jahr steigt sie dann auf ihren Höchstwert an, der erst im hohen Alter abzusinken beginnt^{162, 217, 441, 442}). Diese Antikörper wandern bei der Elektrophorese mit der Globulin-Fraktion des Serums³⁶⁵). Sie finden sich daher auch in Trocken-γ-Globulin-Präparaten¹⁶².

Natürliche Antikörper gegen andere hyaluronidase-erzeugende Bakterien kommen anscheinend nicht vor. Zumindest sind sie nicht in meßbaren Mengen im Serum vorhanden, sei es wegen ihrer größeren Unstabilität oder wegen unzulänglicher Hyaluronidase-Produktion dieser Erreger.

Es wurde einmal eine „biologische“ zeitweilige Sterilisierung durch Injektion von Spermapräparaten untersucht⁵²⁴). Die dabei aufgetretene spermatoxische Wirkung des Cervicalsekretes hat natürlich nichts mit einer Hyaluronidase-Neutralisierung zu tun. Ebensowenig Beziehung dazu hat die spermaagglutinierende Wirkung von Sperma-Antiserum⁵⁶⁴).

Verständlicherweise ist der Serumspiegel dieser spezifischen Inhibitoren stark erhöht bei und nach Streptokokken- bzw. Pneumokokkenerkrankungen aller Art^{164, 215, 543}) (z. B. Scharlach^{162, 163, 217}), rheumatisches Fieber^{164, 217, 218, 280, 439, 440, 442}), Bakteriämie⁵⁴⁵ und Pneumonie⁵⁴⁴)). Es ist dies ein Zeichen einer typischen Abwehrreaktion gegen eine bestehende oder voraufgegangene Überschwemmung mit diesen Erregern und deren Toxinen. Besonders erhöht ist der Inhibitorenspiegel in der Rekonvaleszenz¹⁶⁴), im übrigen geht er parallel dem Krankheitsverlauf^{218, 543}).

Unspezifische Inhibitoren

Neben den vorgenannten globulin-ähnlichen, thermostabilen Antikörpern finden sich in allen Seren (ferner Rindernieren⁵⁷⁶) und menschlichem Ascites (Bauchwasser⁵⁷³) noch unspezifische, thermolabile Inhibitoren^{2, 94, 166, 178, 335, 443}). Es sind proteinähnliche Körper, die bei der Elektrophorese mit der Albumin-Fraktion wandern^{179, 396}). Sie sind in dem Sinne unspezifisch, als sie zwar gegen Hyaluronidasen beliebiger Herkunft wirksam sind, allerdings nicht gleich stark, so daß insofern doch eine gewisse Spezifität zu bestehen scheint^{284, 395}). Dies könnte zwar auch auf Begleitprodukte der betreffenden Hyaluronidasen zurückgeführt werden, wie z. B. Proteasen, die Inhibitoren mit Eiweißcharakter zerstören können^{200, 201, 202, 575, 576}). Hierauf deutet eine entsprechende Wirkung von Papain hin.

Obige Inhibitoren werden im Gegensatz zu den Antikörpern nach 30 min bei 57° zerstört, ebenso bei mehrtägigem Aufbewahren des Serums im Eisschrank. Bei -20° bleiben sie jedoch gelegentlich über Monate stabil^{92, 174}). Der Serumspiegel ist beim Menschen praktisch unabhängig von Alter und Geschlecht^{162, 208}), vielleicht nur bei Männern im zeugungsfähigen Alter etwas erniedrigt⁹⁸.

Die Reaktion zwischen diesen Inhibitoren und den Hyaluronidasen ist Zeit-, Temperatur- und Milieu-abhängig²⁰²).

Um Fermente („Antiviridine“^{116, 198}) handelt es sich nicht^{97, 99, 356}); die Hemmung erreicht z. B. auch bei Anwesenheit großer Hyaluronidase-Mengen schon nach wenigen Minuten ihren Endwert; bei niedriger Temperatur ist die Hemmwirkung größer als bei höherer; nach einiger Zeit tritt spontan partielle Reaktivierung ein¹⁹⁹.

Diese Inhibitoren bedürfen für eine optimale Wirkung bestimmter Mg-Ionenkonzentrationen^{16, 161, 178}); andererseits wird durch schwermetallbindendes Phosphat bzw. Oxalat ihre hemmende Wirkung verhindert bzw. sogar rückgängig gemacht^{198, 202, 573}).

Bei Versuchen hiermit muß man also auf Verwendung geeigneter Puffer, z. B. Borat oder besonders Veronal, achten, darf kein Citratblut nehmen und sollte Verdünnungen mit Mg-haltigen Lösungsmitteln ansetzen. Von der Phosphatgegenwirkung macht man Gebrauch, wenn man mit Streptokokken-Hyaluronidase auf spezifische und unspezifische Antikörper nebeneinander prüfen und nicht erhitzen will.

Um eine Konkurrenzreaktion handelt es sich bei dieser unspezifischen Hemmung nicht¹⁷⁶). Trotz ähnlicher Eigenschaften der Serumproteine bei der Elektrophorese hemmten diese nach Isolierung nicht. Dementsprechend war bei gewissen Krankheiten (kindlicher Nephrose) der unspezifische Inhibitorkontrast im Serum erhöht, dagegen der Mucoproteinspiegel erniedrigt¹⁸³). Es ist naheliegenderweise auch schon eine Beziehung zu ebenfalls thermolabilen Serumkomplementfraktionen vermutet³²⁴) und auch wahrscheinlich gemacht worden^{187, 547}).

Physiologische Bedeutung der Inhibitoren

Die mögliche Bedeutung definierter Hemmstoffe wurde schon zusammen mit diesen besprochen. Das Vorkommen der Antikörper im Serum stellt als Immunisierung eine spezifische Schutzzvorrichtung des Körpers dar.

Die Bedeutung der thermolabilen Inhibitoren liegt beim Menschen darin, daß sie anscheinend einem ganz allgemeinen Abwehrmechanismus des Körpers angehören^{120, 182, 188, 443}); dieser richtet sich gegen Invasionen aller Art, soweit sie durch Hyaluronidase katalysiert werden können^{188, 188}). Hierher gehören also nicht nur Infektionen mit hyaluronidase-produzierenden Erregern, sondern auch solche von Viren^{174, 188}) und manche bösartige Gewebswucherungen (s. u.).

Allerdings beruhen die meisten Beobachtungen über eine unspezifische Hemmwirkung von Serum auf der chemischen oder biologischen Auswertung von Ansätzen, bei denen vorher Inhibitor(Serum) und Hyaluronidase *in vitro* aufeinander eingewirkt hatten. Es wurde nun versucht, diesen Vorgang auch *in vivo* ablaufen zu lassen: in geringem Volumen wurden gleichzeitig Hyaluronidase und Serum in die Haut injiziert und nach verschiedenen Zeiten Farbstoff als Indikator nachgegeben: es war keinerlei Hemmung zu verzeichnen²²⁶). Ähnliches ist schon seit längerem für spezifische Antiseren bekannt^{236, 372}).

Im Hinblick auf die Komplexität aller biologischen Tests, wie ganz besonders der spreading-Versuche, scheint aber der gegenteilige Schluß nicht berechtigt, daß die thermolabilen Inhibitoren keine Bedeutung für die Physiologie oder Pathologie besäßen. Dieser Inhibitorkontrast geht eindeutig parallel mit dem Temperaturverlauf, mit der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit¹⁸⁹) und den allgemeinen Erscheinungen²) zahlreicher Erkrankungen wie akutes rheumatisches Fieber^{94, 182, 189}), (die negativen Ergebnisse von¹⁸⁸) dürften auf der Verwendung von Oxalatplasma beruhen), maligne Tumoren^{166, 167, 175, 464}), besonders metastasierende Carcinome²⁰⁸), Impfungen¹⁸⁹), Virus- und bakterielle Hautinfektionen¹⁸⁸), Poliomyelitis¹⁷⁴), anaphylaktischer Schock im Falle der gleichzeitigen Auslösung gewisser latenter Infektionen (Encephalitis¹⁷³)).

Nachdem auch eine Parallelität zur Uterusrückbildung nach der Geburt (nicht zum Schwangerschaftsverlauf) und zum Menstrualzyklus²⁰⁹), besteht, scheint diese Inhibitorvermehrung tatsächlich ein Spiegel von Gewebszerstörungen aller Art zu sein¹⁸²). Dementsprechend senkt Behandlung von chronischem rheumatischem Fieber z. B. mit adrenocorticotropem Hormon den Inhibitorblutspiegel parallel der BKS und der Zahl der Eosinophilen^{95, 178, 184}).

Medizinische Bedeutung

Weit verbreitete Gewebsstörungen sind die rheumatischen Erkrankungen²⁸³), die in einer krankhaften Veränderung des Bindegewebes bestehen (evtl. im Gefolge von Streptokokken-Infektionen, „rheumatischem Fieber“). Dem könnte eine erhöhte Aktivität der Gewebshyaluronidasen zu Grunde liegen^{98, 115, 195, 263, 268}). In den betroffenen mesenchymalen Geweben sind ähnliche Veränderungen zu beobachten wie nach Einwirkung von Hyaluronidase (vgl. a. 81, 459)). Möglicherweise spielen die Chondroitinschwefelsäure und ihre Proteinkomplexe eine noch größere Rolle wie die Hyaluronsäure^{379, 589}). Großen Einfluß wird gerade hier das Ionenmilieu haben³⁷⁹).

Andererseits war der unspezifische Inhibitorkontrast bei Rheumakranken (nicht rheumatischem Fieber!) nicht erhöht¹⁶⁵); auch verlief der spreading-Test bei normalen und rheumakranken Kindern nicht unterschiedlich²¹⁴). Ferner ist nicht Hyaluronsäure der Grund für die hier erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit⁵⁸⁴). Für eine Reteiligung histamin-artiger Substanzen an der Aetiologie des Rheumas sprechen die oben erwähnten Salizylatwirkungen.

Bei rheumatoider Arthritis (Gelenkrheumatismus) befinden sich Gelenksmembranen und Gelenksflüssigkeit in anormalem

Zustand^{447, 448}); letztere ist volumenmäßig vermehrt und niedriger viscos. Auch dies kann als Folge anormalen Funktionierens der Hyaluronidase betrachtet werden^{356, 461}). Möglicherweise handelt es sich jedoch weniger um einen verstärkten Abbau, als um eine Störung bei der Produktion der Hyaluronsäure^{447, 448, 473}): es liegt mehr depolymerisierte Säure als normal vor, so-wohl insgesamt wie im Verhältnis zur Gesamtmenge. Bei traumatischen (durch Verletzung entstandenen) Schäden dagegen ist der Hyaluronsäuregehalt der Synovialflüssigkeit erniedrigt³⁵⁵).

Auf die mögliche Bedeutung der NNR-Hormone bezüglich der anormal hohen Permeabilität der rheumatischen Gelenksmembran sei nur kurz hingewiesen (s. o.)^{493, 494}). Der auch hier günstige Einfluß von Salizylat beruht vielleicht auf einer geeigneten Stimulation der NNR⁵⁸).

Daß Störungen im Wasserhaushalt des Gewebes, z. B. gewisse Oedembildungen^{570, 572}) im Zusammenhang mit abnormen Reaktionen des Hyaluronidase/Hyaluronsäure-Systems stehen dürften, wurde schon erwähnt.

Tatsächlich steht die Viscosität der hyaluronsäure-haltigen Gelenksflüssigkeit in Beziehung zum Ausmaß gleichzeitiger, peripherer Ödeme⁴⁴⁴). Ferner ist bei Nephritis (Nierenentzündung), bei Pyodermitiden (eitrige Hautentzündungen) und Zuckerkrankheit die spreading-Reaktion in der Haut anormal⁵⁸²), ebenso wie bei Alloxandiabetes⁵⁸).

Möglicherweise handelt es sich um Auswirkungen übergeordneter Schilddrüsenhormone (s. o.). Daß wohl auch Genitaldrüsen und NNR eine Rolle spielen, geht aus der oben besprochenen Beeinflussung des Spreading durch Sexual- und NNR-Steroidhormone hervor.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch das Wachstum gewisser Geschwülste Beziehung zu einem gestörten Hyaluronidase/Hyaluronsäure-System hat. Hierfür spricht einerseits die erhöhte Hyaluronsäure-Produktion bei den oben erwähnten Tumoren und Sarkomen, andererseits der vermehrte Hyaluronidase-Gehalt zahlreicher menschlicher und tierischer Geschwülste, sowie der hierbei erhöhte unspezifische Inhibitorkontrast im Serum. Ob es sich bei der Hyaluronidase-Wirkung hier um die Grundlage bzw. eine Verstärkung der Invasivität handelt (wie entsprechend bei Bakterien) oder ob durch die Hyaluronidase die Nährstoffzufuhr und indirekt dadurch das Wachstum verstärkt wird⁴²), ist offen.

Die Ausbreitung einiger künstlich transplantiertener Tumoren meso- und auch epithelialer Herkunft wurde jedenfalls durch Hyaluronidase begünstigt^{119, 186, 240, 404, 504, 505, 536}). Andere Transplantate blieben völlig unbeeinflußt^{82, 83, 497}). Eine gelegentlich beobachtete Hemmung^{8, 104, 438, 538}) beruht nicht auf dem Hyaluronidase-Gehalt der benutzten Testesextrakte¹¹¹). Ob bei Pemphigus eine Hyaluronidase-Störung vorliegt, ist fraglich³⁰⁵).

Die Bedeutung^{115, 121, 156}) des Zustandes der Bindegewebsbarriere für die Anfälligkeit gegenüber Invasionen aller Art wurde schon besprochen wie auch die Erhöhung des unspezifischen Inhibitorkontrastes bei Infektionen. Dann sei noch einmal an die Wichtigkeit des Ionenmilieus erinnert (Konzentration; Phosphat und andere enthemmende Ionen): es wäre denkbar, daß der Körper durch geeignete Änderungen auch auf diesem Wege in den Hyaluronidase-Mechanismus eingreifen kann. Auch diesbezüglich ist vielleicht die Hemmwirkung von NNR-Extrakten und Sterinen bedeutsam. Auf die mögliche Rolle der Oestrogene zur Verminderung der Infektionsbereitschaft wurde schon hingewiesen. Z. B. hemmen Oestrogene die Ausbreitung von Lungentuberkulose, während luteotropes Hormon und Hyaluronidase diese beschleunigen^{28, 300, 301}). Daß gegen Infektionen mit Hyaluronidase-Bildnern der spezifische Antikörpergehalt des Serums von Wichtigkeit ist, liegt in der Natur der Sache.

Hiernach könnte eine erhöhte Infektionsbereitschaft auf einer erhöhten Gewebs-Hyaluronidase-Tätigkeit oder auf verminderter Inhibitorproduktion beruhen. Dies selbst könnte örtliche oder zentrale Ursachen haben. U. a. führt Unterernährung zu einer Erniedrigung des unspezifischen Serumhormonspiegels⁵⁴⁹).

Auch Störungen der Fortpflanzungsfähigkeit können schließlich mit gestörter Hyaluronidase-Produktion zusammenhängen, wodurch gewisse Formen männlicher Sterilität verständlich werden: bei Oligospermie, wo völlig normale Spermatozoen, jedoch in geringerer Anzahl, vorhanden sind, reicht die von diesen gelieferte Hyaluronidase eben nicht mehr aus, um die Corona radiata aufzulockern und so einem Spermatozoon das Eindringen in die Eizelle zu ermöglichen.

Ferner sind seltene Fälle mit normalen Spermienzahlen beschrieben worden²⁸³), wo, ohne besondere morphologische Anzeichen, keine Hyaluronidase anwesend war. Ob die Verflüssigung des Spermaz beim Stehen auf seinem Hyaluronidase-Gehalt beruht⁶¹¹), erscheint doch zweifelhaft.

Anzeichen dafür, daß sterile Frauen etwa einen höheren Inhibitospiegel im Blut hätten, sind bisher nicht gefunden worden^{151, 275, 284}).

Auch scheint ein Durchtritt von Serum und damit von Inhibitoren in die Uterusflüssigkeit üblicherweise nicht zu erfolgen. Nach experimenteller Immunisierung von Ratten war nur selten in der Uterusflüssigkeit eine Hyaluronidase-Hemmung festzustellen²⁸³).

Eine Theorie für die Tatsache überschüssiger Knaben geburten nach Kriegen und in Notzeiten wurde in diesem Zusammenhang gegeben⁴⁷⁸).

Die Unterernährung führt zu verminderter Hyaluronidase-Produktion⁵⁴⁹). Die Freilegung des Eies erfolgt daher nur unvollständig. Die kleineren männlichen Androspermien haben dadurch vielleicht eine größere Wahrscheinlichkeit durch die noch viscosen Schichten durchzudringen als die größeren, schwerer beweglichen Gynospermien.

Klinische Anwendung

Für die klinische Auswertung^{62, 394}) der vorstehend beschriebenen chemischen und biologischen Eigenschaften und Zusammenhänge des Hyaluronidase/Hyaluronsäure-Systems ergeben sich nun folgende zunächst theoretische Möglichkeiten:

1) Fälle einer mangelnden oder zu geringen Hyaluronidase-Aktivität infolge Fehlens der Hyaluronidase oder zu starker Hemmung. Hier wird man durch künstliche Hyaluronidase-Zufuhr echte Substitutionstherapie treiben können.

2) Fälle zu großer Hyaluronidase-Aktivität bzw. zu geringer oder fehlender Inhibitorwirkungen. Hier kann evtl. durch künstliche Hemmkörperzufuhr Abhilfe geschaffen werden.

Sowohl bei 1) wie bei 2) wie auch bei Störungen, die möglicherweise auf fehlerhafter Synthese der Hyaluronsäure bzw. Chondroitinschwefelsäure beruhen, ist an eine künstliche Regulierung durch Gaben übergeordneter Hormone zu denken⁵⁰¹). Eventuell könnte auch eine Umstimmung des Salzhaushaltes wirksam werden.

3) Hyaluronidase-Präparate können weiterhin dienen als Hilfsmittel

- a) zu diagnostischen und prognostischen Zwecken,
- b) zu Zwecken erleichterter und beschleunigter Punktion von Körperflüssigkeiten und als Wichtigstes
- c) als bedeutsames Hilfsmittel für die parenterale, nicht intravenöse Infusion von Flüssigkeiten und Zufuhr von Medikamenten^{186, 533}).

Als Beispiel zu 1) sind gewisse Formen männlicher Sterilität zu nennen, die in mangelndem oder völlig fehlendem Hyaluronidase-Gehalt des Spermaz begründet sind (z. B. Oligospermie).

Wie an Kaninchen gezeigt werden konnte, kann die zur Aufrechterhaltung der Befruchtungswahrscheinlichkeit nötige Spermienzahl herabgesetzt werden durch Beigabe von Hyaluronidase⁴⁷⁷).

Solange überhaupt lebende Spermien vorhanden sind (also natürlich nicht bei Azoospermie), erhöhen Hyaluronidase-Gaben die Konzeptionswahrscheinlichkeit (beim Menschen^{273, 274, 275, 481}, dagegen^{14, 198, 537}); bei künstlicher Besamung von Tieren^{272, 483}, dagegen⁶⁸).

Ferner können mucinöse Hautinfiltrate¹⁸⁷) und Knötchen beim Praetibialödem⁵³⁹) mit Hyaluronidase beseitigt, beim Glaucom der Augendruck erniedrigt werden²⁹⁷, aber⁴³⁵). Schließlich konnte intraperitoneale Verabreichung von Hyaluronidase bei Versuchstieren Schutz gegen Infektion mit Streptokokken bieten, deren Virulenz auf ihrer hyaluronsäure-haltigen Kapsel beruhte³⁸).

Zu 2) Hierher gehören vielleicht gewisse rheumatische Erkrankungen, bei denen durch Hormongaben der Zustand der Mucopolysaccharidsäuren des Bindegewebes geeignet verändert würde. Möglicherweise hat eine neuerdings angegebene Verwendung von Glucuronsäureanhydrid als Antirheumatum eine ähnliche Bedeutung⁵⁹²).

Ferner kann vielleicht eine zu große Infektionsbereitschaft herabgesetzt werden durch Gaben entsprechender Hormone, die die spreading-Wirkung hemmen. (Bekannt ist, daß die Widerstandskraft gegen Infektionen bei NN-losen Tieren herabgesetzt ist).

Hyaluronidase-Inhibitoren können möglicherweise als Antikonzeptiva Verwendung finden⁴³²), ferner gegen Infektionen durch den Rachenraum⁴⁰¹).

Zu 3a) Die Prüfung des Zustandes von Gewebe und Membranen mittels Hyaluronidase-Einwirkung (spreading-Test, Permeabilitätstest) kann klinisch interessierende Aufschlüsse bringen. Ein Gleichtes trifft zu auf die Bestimmung des spezifischen (serologische Diagnose von Infektionen²¹⁸)) wie auf die des unspezifischen Inhibitospiegels (allgemein bei Erkrankungen aller Art¹⁸²).

Die Bestimmung der Anwesenheit von Hyaluronidase ist zur Frühdiagnose von Wundinfektionen vorgeschlagen worden^{334, 342, 343} vgl. a. 307) und 308). Forensisch kann der Hyaluronidase-Gehalt zum Nachweis von Spermalecken benutzt werden^{260, 455, 456, 457, 458}). Daß die Zeugungsfähigkeit mit einem Test auf Hyaluronidase-Gehalt des Serums geprüft werden kann, wurde schon erwähnt.

Zu 3b) Hyaluronidase-Zusätze können die Punktation von Peritoneum (Bauchfell), Pleura (Brustfell) und Gelenken wesentlich erleichtern^{355, 356}). Ferner haben Hyaluronidase-Injektionen bei Hydrocephalus durch Erleichterung der Flüssigkeitsabsorption eine weitere Erhöhung des Kopfumfangs verhindern können²²⁴). Ähnlich können auf diese Art und Weise Haematom⁵⁵⁴ und möglicherweise auch Adhäsionen nach Traumen (gewaltsame Verletzungen) beseitigt werden^{66, 541}).

Zu 3c) Die derzeit wichtigste Indikation der Hyaluronidase ist, intradermale oder intramuskuläre Injektionen oder subcutane Infusionen zu erleichtern und wesentlich zu beschleunigen¹⁵⁸).

Häufig ist parenterale Flüssigkeits- oder Medikamentenzufuhr erforderlich, aber der Weg über die übliche intravenöse Injektion nicht gangbar: bei großflächigen Verbrennungen, bei schlecht ausgebildeten (Kinder!) oder kollabierten Venen muß subcutan infundiert werden („Hypodermoclysis“)²²⁴).

Hyaluronidase-Zusätze vermindern im allgemeinen die subjektiven Beschwerden, beschleunigen aber vor allem die Absorption ins Gewebe und die Resorption in den Kreislauf um ein Mehrfaches^{41, 534}), was lebensrettend wirken kann.

Zur Infusion^{228, 251}) können gebracht werden^{168, 533a}) Salz¹⁵⁸), Glucoselösungen²¹²), Blutplasma²²⁴), ölige Lösungen⁴⁷⁹), Medikamente^{484, 485, 554}) und Röntgenkontrastmittel^{45, 46, 159, 291, 407, 503}) (diese evtl. zur Urographie!).

Üblicherweise wird die Gesamthyaluronidase-Menge mit den ersten cm³ der zu infundierenden Lösung injiziert. Das Hauptgebiet der Anwendung ist die Kinderheilkunde^{45, 46, 168, 533}), z. B. bei Säuglingen mit Austrocknungserscheinungen infolge Pflötner- oder Darmverschluß, bei Frühgeborenen u. a. m.

Die Resorption in den Blutkreislauf ist, trotz ungestörter Absorption in das Gewebe, nur bei einem Plasmaproteinmindestblutspiegel von ca. 5–6% gewährleistet^{533, 534}). Allgemein wird im Vergleich zur intravenösen Applikation von Medikamenten der Maximalblutspiegel erst später erreicht, bleibt dann jedoch protrahiert höher¹²). Da Testeshyaluronidase auch den Hyaluronschwefelsäureester der Cornea angreift, so ist beim Besprühen hiermit also auch eine Zufuhr von Medikamenten dorthin ermöglicht⁴⁹²). Die durch eine einmalige Hyaluronidaseanwendung geöffnete Gewebsbarriere bleibt etwa 12 Stunden offen und ist erst nach rund 48–96 Stunden wieder restituiert^{222, 251, 534}).

Bei der Anwendung der Hyaluronidase zusammen mit Lokalanästhetikis (vor allem in Zahn- und Augenheilkunde) tritt räumlich verbreiterte Wirkung ein. Die damit verbundene zeitliche Abkürzung kann durch Adrenalin-Zugaben kompensiert werden^{6, 262, 265, 266, 298}).

Bei Instillation z. B. von Penicillin in Körperhöhlen mit entzündeten Schleimhäuten, wie der Stirnhöhle⁶¹⁰), führt Hyaluronidase-Beigabe wie auch bei Anwendung mit Darmklystieren⁵⁸⁰) ebenfalls zu einer beschleunigten Ab- und Resorption.

Wenn man nicht gerade in örtliche Infekte der Haut hineinjiziert, bedeuten sie keine Kontraindikation: die Hyaluronidase überschreitet die in solchen Fällen bestehende Fibrinbarriere nicht^{224, 486, 565}); siehe dagegen²⁶⁷). Auch bei generellen Infektionen führt Hyaluronidase-Anwendung im allgemeinen nicht zu einer Lokalisation von Laesonen^{168, 565}), außer vielleicht bei gewissen Virusarten²³⁹).

Wesentliche Nebenerscheinungen nach Hyaluronidase-Anwendung sind bisher nicht bekannt geworden (s. allerdings²⁶⁷). Es sind keinerlei physiologische Veränderungen festgestellt worden^{45, 46, 251, 533a, 534, 548}). Mit allergischen Erscheinungen braucht wegen des erhöhten Reinheitsgrades der Präparate jetzt praktisch nicht mehr gerechnet zu werden^{214, 224, 251, 533, 534}). Die pharmakologische Prüfung^{168, 548}) bedient sich üblicher Methoden.

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß das Hyaluronsäure/Hyaluronidase-System offenbar von sehr allgemeiner biochemischer und physiologischer Bedeutung ist. Viele Erscheinungen lassen sich zwar nicht ausschließlich hieraus deuten, jedoch hat man, der Methode der naturwissenschaftlichen Erkenntnis gemäß, wenn nicht den, so doch einen möglichen neuen Aspekt gefunden für deren Erklärung.

Zugleich ergeben sich Folgerungen für eine praktische Anwendung in der Medizin auf verschiedenen klinischen Gebieten.

Schließlich soll noch angemerkt werden, daß, in Parallelen zu dem hier behandelten Komplex der mesodermalen sauren Mucopolysaccharide und ihren dazugehörigen Fermenten, vermutlich auch zu den ekto- bzw. entodermalen Mucopolysacchariden entsprechende Fermente existieren. Wenn auch solche im Körper selbst bisher noch nicht entdeckt worden sind, wurden bei Choleravibionen und *Clostridium welchii* u. a. Mucinasen gefunden, die verschiedene Drüsennasen (Speichel, Rachen-, Magenschleim u. a.) depolymerisieren^{43, 47}. Vielleicht liegt hier auch ein Invasionsmechanismus vor, entsprechend dem der hyaluronidaseproduzierenden Bakterien. Erwähnt werden soll hier noch das „rezeptorzerstörende Enzym“ der Choleravibionen und des Grippevirus, das auf die ebenfalls mucopolysaccharid-haltigen Virusrezeptoren der Zelloberflächen (z. B. von roten Blutkörperchen) einwirkt⁴⁸.

Eingeg. am 5. Juni, ergänzt am 3. Oktober 1950 [A 324]

Literaturverzeichnis

Anmerkung der Redaktion: Für den nicht spezialisierten Chemiker ist der hier folgende ausführliche Literaturnachweis entbehrlich. Dem auf dem Gebiete der Pharmakotherapie arbeitenden Chemiker jedoch und unseren Lesern aus den medizinischen und physiologisch-chemischen Kreisen ist gerade dieser Literaturnachweis von größtem Wert, weshalb er ungekürzt abgedruckt sei.

Die mit * gekennzeichneten Nummern lagen uns in Referaten vor oder sind aus Rückzitaten bekannt geworden.

Die mit / bezeichneten Nummern (außer ⁴², ³⁸², ³⁸⁸, ³⁷⁵, ⁴⁶¹) und ⁵²⁵) sind in der vorliegenden Arbeit nicht gesondert erwähnt, da sie in der Übersicht von K. Wallenfels⁵⁸⁶) zitiert wurden.

Zum Teil umfassendere Übersichtsarbeiten oder Berichte sind zu finden unter den Nummern: ²⁸, ³², ⁵¹, ⁵², ⁵³, ⁶², ⁸⁹, ¹⁰⁸, ¹¹⁵, ¹¹⁶, ¹¹⁷, ¹²⁸, ¹³⁰, ¹⁴⁸, ¹⁵⁰, ¹⁷³, ²²⁹, ²⁷¹, ²⁸¹, ³¹⁶, ³²², ³³⁰, ³⁵³, ³⁵⁵, ³⁵⁶, ³⁷⁶, ³⁸⁶, ³⁹⁷, ⁴³⁸, ⁵²⁷, ⁵²⁸, ⁵²⁹, ⁵⁴⁶, ⁵⁸³, ⁵⁸⁶, ⁵⁸⁸, ⁵⁹¹). ¹⁵⁶ und ⁵⁹⁰) sind neueste Kongreßberichte.

- * 1) R. G. Abell u. F. X. Aylward, Ann. N. Y. Acad. Sci. **46**, 741 [1946].
- * 2) L. Adner, Satyrick ur Upsala Lakareforenings Förfäkningar **1**, 40 [1948].
- 3) H. F. Alburn u. E. C. Williams, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 971–76 [1950].
- 4) L. Anigstein u. D. M. Whitney, ebenda **52**, 1091–97 [1950].
- 5) Kristen Arnesen, L. Breton u. A. D. Dulaney, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **71**, 264–67 [1949].
- 6) W. S. Atkinson, Arch. Ophth. **42**, 628–33 [1949].
- * 7) C. R. Austin, Nature [London] **162**, 63–64 [1948]; Chem. Abstr. **42**, 8306 [1948].
- 8) B. Austoni, Boll. Ist. sieroterap. milanese **18**, 245–280 [1939].
- 9) F. X. Aylward, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **36**, 477–478 [1937].
- 10) F. X. Aylward, ebenda **49**, 342 [1942].
- * 11) A. L. Bacharach, M. R. A. Chance u. T. R. Middleton, Biochem. J. **34**, 1464–70 [1940]; vgl. Chem. a. Ind. **59**, 348 [1940]; Chem. Zbl. **1941**, I, 3524.
- 12) H. H. Banks, A. M. Seligman u. J. Fine, J. Clin. Invest. **3**, 548–52 [1949].
- * 13) S. Barbera, Boll. soc. Ital. biol. sperim. **17**, 615–16 [1942].
- 14) A. C. Barnes, B. Saltman u. I. M. Birkeland, J. Lab. clin. Med. **32**, 1540–41 [1947].
- 15) I. P. Baumberger u. N. Fried, J. biol. Chemistry **172**, 347 [1948].
- 16) O. v. Behring, Z. Immunforsch. **100**, 1–18 [1941].
- 17) J. M. Beiler u. G. J. Martin, J. biol. Chemistry **171**, 507–511 [1947].
- 18) J. M. Beiler u. G. J. Martin, ebenda **174**, 31–35 [1948].
- * 19) S. H. Bensley, Anatom. Rec. **60**, 93–109 [1934].
- 20) S. H. Bensley, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 983–88 [1950].
- * 21) R. Béquenon u. L. Reiné, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **228**, 1070–71 [1949]; Che. Abstr. **43**, 5857 [1949].
- * 22) L. Bergamini, Arch. Scienze biol. **28**, 293 [1942].
- 23) L. Bergamini, Boll. Ist. sieroterap. milan. **22**, 5–72 [1943].
- * 24) L. Bergamini, ebenda **27**, 115–21 [1948]; Chem. Abstr. **43**, 3855 [1949].
- * 25) D. M. Bergensfahl u. W. W. Scott, J. Amer. Med. Ass. **137**, 1507–11 [1948].
- * 26) S. Bergquist, Acta Tuberc. Scand. **21**, 2 [1949].
- * 27) S. Bergquist u. Th. Pakalén, Acta Path. Microbiol. Scand. **25**, 255–58 [1948]; Chem. Abstr. **42**, 6407 [1948].
- 28) H. J. Bielig u. F. Graf Medem, Experientia **5**, 11–30 [1949].
- 29) O. Bier, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **112**, 407–10 [1933].
- 30) O. Bier u. N. Planet, ebenda **129**, 65–67 [1938].
- 31) C. R. B. Blackburn, J. biol. Chemistry **178**, 855–60 [1949].
- * 32) R. I. Blandau u. D. L. Odor, Anatom. Rec. **103**, 96 [1949].
- * 33) G. Blix, diese Ztschr. **62**, 171 [1950].
- * 34) G. Blix, Acta physiol. Scand. **1**, 29 [1940].
- * 35) G. Blix, Acta Orthopaed. Scand. **18**, 19–20 [1948]; Chem. Abstr. **43**, 6727 [1949].
- * 36) G. Blix u. O. Snellmann, Ark. Kemi, Mineral. Geol. **19 A**, Nr. **32** [1945]; vgl. Nature [London] **153**, 587 [1947].
- * 37) Bloch, Schweiz. Z. Pathol. u. Bakt. **10**, 366 [1947].
- * 38) G. P. Blundell, Yale J. Biol. Med. **14**, 373 [1942].
- * 39) N. F. Boas, J. biol. Chemistry **181**, 573–75 [1949].
- * 40) J. Bøe, Acta Path. Microbiol. Scand. **21**, 587–95 [1944].
- * 41) Helga Boyens, Therap. d. Gegenw. **1950**, 169–176.
- * 42) E. Boyland u. McClean, J. Pathol. Bacteriology **41**, 553–65 [1935].
- * 43) B. A. Brödy, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 1046 [1950].
- * 44) H. Bunting, ebenda **52**, 977–82 [1950].
- * 45) L. C. Burkett u. P. Gyorgy, Pediatrics **34**, 56–63 [1949].
- * 46) L. C. Burkett u. P. Gyorgy, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 1171–79 [1950].
- * 47) F. M. Burnet, Austral. J. exp. Biol. Med. **26**, 71–80 [1948]; Chem. Abstr. **44**, 2051 [1950].
- * 48) F. M. Burnet u. a., Lancet **254**, 7–11 [1948].
- * 49) S. O. Byers, A. A. Tytell u. M. A. Logan, Arch. Biochem. **22**, 66–86 [1949].
- * 50) S. M. Bytschkow, Byall, Exptl. Biol. Med. (russ.) **24**, [205–07 1947]; Chem. Abstr. **42**, 3076c [1948].
- * 51) S. M. Bytschkow, Uspekhi Sovremnoi Biol. (russ.) **15**, 1–18 [1948]; Chem. Abstr. **43**, 7989 [1949].
- * 52) S. M. Bytschkow, ebenda **27**, 479–84 [1949]; Chem. Abstr. **43**, 7524 [1949].
- * 53) S. M. Bytschkow, ebenda **27**, 297–312 [1949]; Chem. Abstr. **43**, 6678 [1949].
- * 54) G. Cadili u. P. Li Voti, Med. Sperim. **20**, 3–16 [1948]; Ref. Excerpta medica Sect. II, **3**, 279 [1950].
- * 55) G. Cadili u. P. Li Voti, Arch. Sci. med. **87**, 325–32 [1949]; Chem. Abstr. **43**, 7567 [1949].
- * 56) R. L. Cahen u. M. Granier, Yale J. Biol. Med. **16**, 257 [1944].
- * 57) B. Calesnick u. R. Beutner, Fed. Proc. **6**, 1 [1947].
- * 58) B. Calesnick u. R. Beutner, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **72**, 629–32 [1949].
- * 59) J. L. R. Candela u. F. Llorca, Arch. med. Exptl. [Madrid] **11**, 57–65 [1948].
- * 60) G. Caporale, Boll. sez. Ital. Soc. internaz. Microbiol. **11**, 144–57 [1935]; Zbl. Bakteriol. **137**, 222.
- * 61) G. T. Castellani, Boll. Ist. sieroterap. Milan **19**, 332–37 [1940].
- * 62) G. T. Castellani Arch. Ital. Med. Speriment. **2**, 968 [1938].
- * 63) L. J. Cella u. J. A. Means, Marquette Med. Rev. **13**, 14 [1947].
- * 64) E. Chain u. E. S. Duthie, Nature [London] **144**, 977–78 [1939].
- * 65) E. Chain u. E. S. Duthie, Brit. J. exp. Pathol. **21**, 324–38 [1940].
- * 66) L. A. Chambers u. B. W. Zwelfach, Physiologic. Rev. **27**, 436–63 [1947].
- * 67) J. Chandy u. J. E. Rhoads, Fed. Proc. **5**, 218 [1946].
- * 68) M. C. Chang, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **66**, 51–54 [1947].
- * 69) M. C. Chang, Science [New York] **112**, 118–19 [1950].
- * 70) J. F. Christensen, J. Pathol. Bacteriology **48**, 287–90 [1939].
- * 71) J. F. Christensen, Hospitalstidende **81**, 572 [1938]; Nature [London] **142**, 36 [1938].
- * 72) W. G. Clark, Exptl. Med. Surg. **7**, 78–85 [1949]; Ref. Excerpta medica Sect. II, **3**, 372–73 [1950].
- * 73) W. G. Clark u. T. A. Geissman, J. Pharmacol. **95**, 363–81 [1949].
- * 74) A. Claude, J. exp. Medicine **62**, 229–44 [1935]; s. a. Science [New York] **78**, 151 [1933].
- * 75) A. Claude, J. exp. Medicine **66**, 353–66 [1937].
- * 76) A. Claude, ebenda **69**, 641–48 [1939].
- * 77) A. Claude, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **43**, 684–89 [1940].
- * 78) A. Claude u. F. Duran-Reynals, J. exp. Medicine **60**, 457–62 [1934].
- * 79) A. Claude u. F. Duran-Reynals, ebenda **65**, 661–70 [1937].
- * 80) H. Cohen, J. biol. Chemistry **144**, 353 [1942].
- * 81) H. Cohen, Ann. Rheum. Diseases [London] **8**, 31–33 [1949]; Chem. Abstr. **44**, 31–38 [1950].
- * 82) D. R. Coman, Science [New York] **105**, 347–48 [1947].
- * 83) D. R. Coman, McCutcheon u. I. Zeidman, Cancer Res. **7**, 383–85 [1947].
- * 84) G. Cosentino, Pathologica **32**, 26–33 [1940]; Ref. Chem. Zbl. **1940**, I, 2333.
- * 85) N. Crowley, J. Pathol. Bacteriology **56**, 27–35 [1944]; Ref. Chem. Zbl. **1945**, I, 556.
- * 86) Sv. Dalgaard-Mikkelsen, SA Kvorning, Kn. Møller, Nature [London] **162**, 221–22 [1948]; Ref. Chem. Abstr. **43**, 711 [1949].
- * 87) Sv. Dalgaard-Mikkelsen, S. Kvorning, Acta Pharm. Tox. **4**, 169–85 [1948]; Ref. Chem. Abstr. **43**, 2658a [1949].
- * 88) M. M. Davison, M. A. Derow u. B. S. Walker, J. Bacteriol. **58**, 717–22 [1949].
- * 89) A. Delaunay, R. Fasquelle u. M. Delaunay, Rev. Sci. **85**, 1007–16 [1948]; Ref. Chem. Abstr. **42**, 5098 [1948].
- * 90) A. Delaunay, E. Fouquier u. J. Lebrun, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **144**, 56–57 [1950].
- * 91) A. Delaunay, J. Lebrun, E. Fouquier u. Ho-Shen Wang, ebenda **144**, 58–59 [1950].
- * 92) A. Dorfman, J. biol. Chemistry **172**, 377–387 [1948].
- * 93) A. Dorfman, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 1017–20 [1950].
- * 94) A. Dorfman, ebenda **62**, 1098–1104 [1950].
- * 95) A. Dorfman u. F. E. Moses, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **73**, 667–69 [1950].
- * 96) A. Dorfman u. Melvin L. Ott, J. biol. Chemistry **172**, 367–375 [1948].
- * 97) A. Dorfman, M. L. Ott u. I. Reimers, Fed. Proc. **6**, 248 [1947].
- * 98) A. Dorfman, M. L. Ott u. I. Reimers, Amer. J. Diseases Child. **77**, 106–07 [1949].
- * 99) A. Dorfman, M. L. Ott u. R. Whitney, J. biol. Chemistry **174**, 621–29 [1948].
- * 100) A. Dorfman, I. Reimers u. M. L. Ott, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **64**, 357–60 [1947].
- * 101) E. Drouhet u. G. Segretain, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. **228**, 424–25 [1949]; Ref. Chem. Abstr. **43**, 4726 [1949].
- * 102) F. Duran-Reynals, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **99**, 6–7 [1928].
- * 103) F. Duran-Reynals, J. exp. Medicine **50**, 327–40 [1929].
- * 104) F. Duran-Reynals, ebenda **54**, 493–97 [1931].
- * 105) F. Duran-Reynals, Rev. méd. Barcelona **16**, 120, 209, 291 [1931].
- * 106) F. Duran-Reynals, J. exp. Medicine **55**, 703–12 [1932].
- * 107) F. Duran-Reynals, ebenda **58**, 161–81 [1933].
- * 108) F. Duran-Reynals, ebenda **58**, 451–63 [1933].
- * 109) F. Duran-Reynals, ebenda **61**, 617–42 [1935].
- * 110) F. Duran-Reynals, Science [New York] **83**, 286–87 [1936].
- * 111) F. Duran-Reynals, Ann. Inst. Pasteur **57**, 597 [1936].
- * 112) F. Duran-Reynals, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **38**, 763–66 [1938].
- * 113) F. Duran-Reynals, J. exp. Medicine **69**, 69–81 [1939].
- * 114) F. Duran-Reynals, Yale J. Biol. Med. **11**, 601 [1939].
- * 115) F. Duran-Reynals, Bacteriol. Rev. **6**, 197–252 [1942].
- * 116) F. Duran-Reynals, Ann. Rev. Biochemistry **13**, 34 [1944].
- * 117) F. Duran-Reynals, Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 946–57 [1950].
- * 118) F. Duran-Reynals, H. Bunting u. G. van Wagenen, ebenda **52**, 1006–14 [1950].
- * 119) F. Duran-Reynals u. A. Claude, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **32**, 67–68 [1934].
- * 120) F. Duran-Reynals u. E. Estrada, Yale J. Biol. Med. **13**, 217 [1940].
- * 121) F. Duran-Reynals u. E. D. Goldsmith, Science [New York] **110**, 74–75 [1949]; vgl. Nr. 590.
- * 122) F. Duran-Reynals u. F. Stewart, J. Amer. Cancer **15**, 2790–96 [1931].
- * 123) F. Duran-Reynals u. J. Surier Pi, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **99**, 1908–11 [1928].
- * 124) C. Dux, M. Guérin u. F. Lacour, ebenda **142**, 789–90 [1948]; s. a. Bull. assoc. franç. étude cancer **35**, 427–31 [1948]; Ref. Chem. Abstr. **43**, 3931 [1949].
- * 125) M. E. East, I. Madinaveitia u. A. R. Todd, Biochemic. J. **35**, 872–76 [1941]; Ref. Chem. Zbl. **1942**, I, 2544.

- * 110) *M. E. East, I. Madinaveitia u. A. R. Todd*, *Nature [London]* **147**, 418 [1941].
- * 111) *T. Edlund u. H. Linderholm*, *Acta Physiol. Scand.* **18**, 144–50 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 9257 [1949].
- * 112) *F. W. Eichbaum*, *Mem. Inst. Butantan* **20**, 95–105 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 69320 [1948].
- * 113) *E. Eichenberger*, *Gynaecologia* **121**, 288–329 [1946]; *Dissert. Basel* 1946.
- * 114) *E. Eichenberger*, *Ztschr. Vit. Horm. Fermentforsch.* **2**, 126–33 [1948].
- * 115) *E. Eichenberger*, *Experientia* **5**, 241–42 [1949].
- * 116) *L. A. Elson u. W. T. I. Morgan*, *Biochemic. J.* **28**, 988 [1934].
- * 117) *S. K. Elster*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **71**, 15–18 [1949].
- * 118) *S. K. Elster, M. E. Freeman u. P. Anderson*, *J. Lab. Clin. Med.* **34**, 834 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 7529 [1949].
- * 119) *S. K. Elster, M. E. Freeman u. A. Dorfman*, *Amer. J. Physiol.* **156**, 429–32 [1949].
- * 120) *K. S. Elster, M. E. Freeman u. E. L. Lowry*, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* **96**, 332–37 [1949].
- * 121) *S. K. Elster, M. E. Freeman u. E. L. Lowry*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **73**, 49–51 [1950].
- * 122) *E. Epstein, R. L. Lubschez, P. F. de Gara u. M. G. Wilson*, *Pediatria* **4**, 569 [1949].
- * 123) *C. J. Escuder*, *An. Fac. Med.* **21**, 889 [1936]; *Ronas Ber.* **103**, 114 [1937].
- * 124) *D. G. Evans u. I. Madinaveitia*, *Biochemic. J.* **34**, 613–20 [1940].
- * 125) *M. Fabinyi u. J. Szabélyi*, *Nature [London]* **163**, 533 [1949].
- * 126) *G. Favilli*, *J. exp. Medicine* **54**, 197–206 [1931].
- * 127) *G. Favilli*, *Sperimentale* **86**, 303 [1932]; **87**, 451 [1933]; *Boll. Soc. internaz. Microbiol. sez. Ital.* **1933**, v. 32 u. 115.
- * 128) *G. Favilli*, *Sperimentale* **89**, 724 [1935].
- * 129) *G. Favilli*, *ebenda* **90**, 304 [1936].
- * 130) *G. Favilli*, *Boll. Ist. Sierotherap. Milan.* **19**, 481–500 [1940].
- * 131) *G. Favilli*, *Nature [London]* **145**, 866–67 [1940].
- * 132) *G. Favilli*: *Diffusionsphaenomene in Geweben unter physiolog. u. patholog. Gesichtspunkt.* (ital.) Ed. I. T. E. R. Turin 1941.
- * 133) *G. Favilli*, *Boll. Soc. Med. Modena* **47**, 15 [1947].
- * 134) *G. Favilli*: *Mitt. an den I. Intern. Kongr. für Physiopathologie d. tierischen Fortpflanzg. und künstl. Befruchtg.* 1948.
- * 135) *G. Favilli u. M. Campani*, *Riv. Ital. Ginec.* **29**, 259 [1946].
- * 136) *G. Favilli u. D. McClean*, *J. Pathol. Bacteriology* **38**, 153–65 [1934].
- * 137) *E. Fekete u. F. Duran-Reynals*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **52**, 119–21 [1943].
- * 138) *O. N. Fellowes u. P. Hudson*, *Amer. J. Hyg.* **30**, 11–20 [1939].
- * 139) *W. Ferrari, E. Costa u. P. Pellegrini*, *Arch. Sci. biol.* **33**, 48–59 [1949]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* **7**, 871 [1950].
- * 140) *D. S. Fleming*, *Amer. J. Med. Sci.* **211**, 374–79 [1946].
- * 141) *A. E. Follett*, *J. biol. Chemistry* **178**, 177–84 [1948].
- * 142) *G. B. Forbes, R. W. Deisher, A. M. Perley u. A. F. Hartmann*, *Science [New York]* **111**, 177–179 [1950].
- * 143) *F. R. Franke, J. B. Boatman, R. S. George u. C. Moses*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **74**, 417–21 [1950].
- * 144) *M. E. Freeman, P. Anderson, M. Oberg u. A. Dorfman*, *J. biol. Chemistry* **180**, 655–62 [1949].
- * 145) *M. E. Freeman, R. Whitney u. A. Dorfman*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **70**, 524–27 [1949].
- * 146) *George J. Friou*, *J. Infect. Diseases* **84**, 240–51 [1949].
- * 147) *G. J. Friou, Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1112–17 [1950].
- * 148) *G. J. Friou u. H. A. Wenner*, *J. Infect. Diseases* **80**, 185–93 [1947].
- * 149) *I. K. Fulton, S. Markus u. W. D. Robinson*, *Proc. Soc. Amer. Bact.* **1**, 98 [1948].
- * 150) *I. K. Fulton, S. Markus u. W. D. Robinson*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **69**, 258–62 [1948].
- * 151) *I. K. Fulton, S. Markus u. W. D. Robinson*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1133–1138 [1950].
- * 152) *W. Gaisford u. D. G. Evans*, *Lancet* **257**, 505–07 [1949].
- * 153) *J. Gersh*, *Fed. Proc.* **7**, 270 [1948].
- * 154) *G. Gibertini*, *Tumori* **(2)** **16**, 317–30 [1942]; *Ref. Chem. Zbl.* **1943** I, 2499.
- * 155) *J. Robles Gil u. F. Guerra*, *Arch. inst. cardiol. Mex.* **17**, 733–46 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 4277n [1948].
- * 156) *D. Glick*, *Ann. Rev. Biochem.* **11**, 51 [1942].
- * 157) *D. Glick u. B. Campbell*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **70**, 29–32 [1949].
- * 158) *D. Glick u. F. Gollan*, *J. Infect. Diseases* **83**, 200–06 [1948].
- * 159) *D. Glick, Th. A. Good u. J. T. Bittner*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **69**, 524–26 [1948].
- * 160) *D. Glick, R. A. Good, V. C. Kelley, R. J. Winzler u. I. W. Mehl*, *ebenda* **71**, 412–15 [1949].
- * 161) *D. Glick u. M. L. Grais*, *Arch. Biochem.* **18**, 511–12 [1948].
- * 162) *D. Glick u. M. Kaufmann*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **74**, 279–85 [1950].
- * 163) *D. Glick u. D. H. Moore*, *Arch. Biochem.* **19**, 173–75 [1948].
- * 164) *E. Godtfredsen*, *Brit. J. Ophthalm.* **33**, 721–32 [1949].
- * 165) *A. Goldberg u. E. Haas*, *J. biol. Chemistry* **170**, 757–58 [1947].
- * 166) *R. A. Good u. D. Glick*, *J. Infect. Diseases* **86**, 38–45 [1950].
- * 167) *R. A. Good, V. C. Kelley u. D. Glick*, *unveröff. zitiert b.* ¹⁷⁰.
- * 168) *T. A. Good, R. A. Good, V. C. Kelley u. D. Glick*, *Fed. Proc.* **9**, 178 [1950].
- * 169) *K. Goodner*, *J. exp. Medicine* **54**, 847–58 [1931]; **58**, 153–60 [1933].
- * 170) *A. R. Gopal-Ayengar u. Wm. L. Simpson*, *Cancer Res.* **7**, 727, 841 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 8322f [1948].
- * 171) *M. L. Grais*, *J. Invest. Dermatol.* **12**, 345–48 [1949].
- * 172) *M. L. Grais u. D. Glick*, *ebenda* **11**, 259 [1948].
- * 173) *M. L. Grais u. D. Glick*, *J. Infect. Diseases* **85**, 101–06 [1949].
- * 174) *B. E. Greenberg u. S. L. Gargill*, *Human Fertil.* **11**, 1 [1946].
- * 175) *B. E. Greenberg, N. T. Werthessen, S. Berman u. S. L. Gargill*, *J. Urol.* **54**, 571–74 [1945]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 7396c [1948].
- * 176) *J. Gross*, *J. biol. Chemistry* **172**, 511–14 [1948].
- * 177) *J. Gross*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 964–70 [1950].
- * 178) *F. Guerra*, *Science [New York]* **103**, 686–87 [1946].
- * 179) *F. Guerra*, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* **87**, 193–97 [1946]; *s. a. Arch. i. st. cardiol. Mex.* **16**, 1–9 [1946].
- * 180) *F. Guerra u. J. R. Gill*, *Arch. Inst. cardiol. Mex.* **16**, 293–301 [1946]; *Ref. Chem. Abstr.* **41**, 1320 [1947].
- * 181) *G. S. Gunter*, *Australian J. exp. Biol. Med. Sci.* **27**, 265–74 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **44**, 6776 [1950].
- * 182) *E. Haas*, *J. biol. Chemistry* **163**, 89, 101–110 [1946].
- * 183) *I. Habricht*, *Schweiz. Med. Wschr.* **80**, 679–81 [1950].
- * 184) *Z. Hadidian*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1105–07 [1950].
- * 185) *Z. Hadidian u. N. W. Pirie*, *J. biol. Chemistry* **166**, [1947].
- * 186) *Z. Hadidian u. N. W. Pirie*, *Biochemic. J.* **42**, 266–74 [1948].
- * 187) *Z. Hadidian u. N. W. Pirie*, *ebenda* **42**, 260–65 [1948].
- * 188) *L. Hahn*, *Biochem. Z.* **315**, 83–96 [1943].
- * 189) *L. Hahn*, *Arch. Kemi. Mineral. Geol. A* **19**, Nr. 33 [1944]; *A* **21**, 1, [1945]; *A* **22**, 1 [1946]; *A* **22**, Nr. 2 [1946]; *Biochem. Z.* **318**, 123–137 [1948].
- * 190) *L. Hahn*, *ebenda* **318**, 138–148 [1948].
- * 191) *E. Y. Hakanson u. D. Glick*, *J. Nat. Cancer Inst.* **9**, 129–132 [1948].
- * 192) *E. Y. Hakanson u. D. Glick*, *J. Clin. Invest.* **28**, 713–15 [1949].
- * 193) *C. W. Hale*, *Nature [London]* **157**, 802 [1946].
- * 194) *C. W. Hale*, *Biochemic. J.* **38**, 368 [1944].
- * 195) *L. G. Hallén*, *Nordisk Medicin* **42**, 37 [1949]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* **3**, 373 [1950].
- * 196) *Mc D. Hammon*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **45**, 124–26 [1940].
- * 197) *T. N. Harris u. S. Friedman*, *Amer. J. Diseases Child.* **77**, 561–75 [1949].
- * 198) *T. N. Harris u. S. Harris*, *Amer. J. Med. Sci.* **217**, 174–186 [1949].
- * 199) *T. N. Harris u. S. Harris*, *J. Immunol.* **63**, 233–47 [1949].
- * 200) *T. N. Harris u. S. Harris*, *ebenda* **63**, 249–60 [1949].
- * 201) *T. N. Harris, S. Harris u. R. L. Nagle*, *Pediatrics* **34**, 482–503 [1949]; *Ref. Excerpta medica Sect. VII* **3**, 563 [1949].
- * 202) *O. Hechter*, *Science [New York]* **104**, 409 [1946].
- * 203) *O. Hechter*, *J. exp. Medicine* **85**, 77–97 [1947].
- * 204) *O. Hechter*, *Fed. Proc.* **6**, 126 [1947].
- * 205) *O. Hechter*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **67**, 343 [1948].
- * 206) *O. Hechter*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1028–40 [1950].
- * 207) *O. Hechter, S. K. Dopkeen u. M. A. Yudell*, *J. Pediatrics* **30**, 645–56 [1947].
- * 208) *O. Hechter u. Z. Hadidian*, *Endocrinol.* **41**, 204–05 [1947].
- * 209) *O. Hechter u. E. Scully*, *J. exp. Medicine* **68**, 19–28 [1947].
- * 210) *G. Hegemann*, *Arch. f. Hyg.* **121**, 331–48 [1939].
- * 211) *A. T. Henderson* u. a., *U. S. Naval. med. Bull.* **48**, 865 [1948].
- * 212) *E. Ya. Heiman*, *Uspekhi Sovremnoi Biol. (russ.)* **23**, 323–34 [1947]; *Ref. Chem. Zbl. (Vlg. Chemie)* **1947** I, 1109.
- * 213) *P. S. Hench, C. H. Slocumb u. H. F. Polley*, *Proc. StaffMeet. Mayo Clin.* **24**, 181 [1949].
- * 214) *P. S. Hench, C. H. Slocumb, A. R. Barnes, H. L. Smith, H. F. Polley u. E. C. Kendall*, *ebenda* **24**, 277 [1949].
- * 215) *W. Henle, G. Henle, L. A. Chambers*, *J. exp. Medicine* **68**, 335–52 [1938].
- * 216) *L. Hesselvik*, *Acta med. Scand.* **105**, 153 [1940].
- * 217) *G. K. Hirst*, *J. exp. Medicine* **73**, 493 [1941].
- * 218) *G. L. Hobby u. M. H. Dawson*, *J. exp. Pathol.* **18**, 212 [1937].
- * 219) *G. L. Hobby, M. H. Dawson, K. Meyer u. E. Chaffee*, *J. exp. Medicine* **73**, 109–23 [1941].
- * 220) *D. C. Hoffmann*, *ebenda* **53**, 43–50 [1931].
- * 221) *D. C. Hoffmann u. Duran-Reynals*, *Science [New York]* **72**, 508 [1930].
- * 222) *D. C. Hoffmann u. F. Duran-Reynals*, *J. exp. Medicine* **53**, 387–88 [1931].
- * 223) *D. C. Hoffmann, F. Parker u. T. Walker*, *Amer. J. Pathol.* **7**, 523–31 [1931].
- * 224) *F. Homberger*, *Yale J. biol. Medicine* **17**, 479 [1944/45].
- * 225) *F. Homberger*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **53**, 258 [1943].
- * 226) *R. D. Hotchkiss*, *Arch. Biochem.* **16**, 131–41 [1948].
- * 227) *B. F. Howitt*, *J. Infect. Diseases* **55**, 138 [1934].
- * 228) *E. Hultin*, *Svensk. Kem. Tid.* **60**, 131–34 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 5813 [1949].
- * 229) *J. H. Humphrey*, *Biochemic. J.* **37**, 177–81 [1943].
- * 230) *J. H. Humphrey*, *ebenda* **37**, 460–63 [1943].
- * 231) *J. H. Humphrey*, *J. Pathol. Bacteriology* **58**, 273–75 [1944]; *Ref. Chem. Zbl.* **1945** I, 50.
- * 232) *J. H. Humphrey*, *Biochemic. J.* **40**, 435–41, 442–45 [1946].
- * 233) *Josef Jaroschek*, *Med. Dissert. München* 1949.
- * 234) *A. A. Jaworski u. I. E. Farley*, *Amer. J. Diseases Child.* **79**, 59–64 [1950].
- * 235) *C. A. Joel*, *Schweiz. Med. Wschr.* **78**, 203 [1948].
- * 236) *C. A. Joel u. E. Eichenberger*, *Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. Sils-Maria* 1944.
- * 237) *C. A. Joel u. E. Eichenberger*, *Schweiz. Med. Wschr.* **75**, 601–04 [1945].
- * 238) *J. E. Johnston, E. J. Stone u. J. P. Mixner*, *J. Dairy Sci.* **32**, 574–79 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 8409 [1949].
- * 239) *E. Jorpes u. S. Bergström*, *J. biol. Chemistry* **118**, 447–57 [1937].
- * 240) *E. A. Kabat*, *ebenda* **130**, 143–47 [1939].
- * 241) *E. H. Kass u. C. V. Seastone*, *J. exp. Medicine* **79**, 319–30 [1944].
- * 242) *M. A. G. Kaye*, *Nature [London]* **166**, 478–79 [1950].
- * 243) *M. A. G. Kaye u. M. Stacey*, *Biochemic. J.* **46**, 509 [1950].
- * 244) *S. N. Key u. S. N. Key*, *Texas State J. Med.* **46**, 31–33 [1950].
- * 245) *E. Keleni*, *Arztl. Wschr.* **3**, 707 [1948].
- * 246) *F. E. Kendall, M. Heideberger, M. H. Dawson*, *J. biol. Chemistry* **118**, 61–69 [1937].
- * 247) *C. K. Kirby, J. E. Eckenhoff, J. P. Looby*, *Surgery* **25**, 101–04 [1949].
- * 248) *C. K. Kirby, J. E. Eckenhoff u. J. P. Looby*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1166–1170 [1950].
- * 249) *E. Klecker*, *Arztl. Wschr.* **5**, 638–41 [1950].
- * 250) *P. Klemperer, A. D. Pollak u. G. Baehr*, *J. Amer. Med. Assoc.* **119**, 331 [1942].
- * 251) *E. I. Korobkova*, *Zhur. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. (russ.)* **Nr. 7**, 64–70 [1949].
- * 252) *Kh. S. Koshtolayants*, *Doklady Akad. Nauk (russ.)* **60**, 1105 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 741 [1949].
- * 253) *E. Kulonen*, *Nord. med. Tidskr.* **42**, 1187–91 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 8404 [1949].
- * 254) *E. Kulonen*, *Acta physiol. Scand.* **17**, 170–78 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 8503 [1949].
- * 255) *R. Kurzrok*, *Amer. J. clin. Pathol.* **18**, 491 [1948].
- * 256) *R. Kurzrok*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **52**, 1180–85 [1950].
- * 257) *R. Kurzrok, S. L. Leonhard u. H. Conrad*, *Amer. J. Medicine* **1**, 491–506 [1946].
- * 258) *R. Kurzrok u. E. G. Miller*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **24**, 670–71 [1927].
- * 259) *R. Kurzrok u. E. G. Miller*, *Amer. J. Obstetr. Gynecol.* **15**, 56 [1928]; **24**, 19 [1932].
- * 260) *E. Kusche*, *Med. Dissert. München* 1949.
- * 261) *C. H. Lack*, *Brit. J. exp. Pathol.* **29**, 191–202 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 8866c [1948].
- * 262) *L. Lapin, H. Starkey*, *Can. Med. Assoc. J.* **60**, 469–76 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* **43**, 9234 [1949].
- * 263) *W. Laves*, *Kli. Wschr.* **26**, 534 [1948].
- * 264) *I. C. G. Ledingham u. M. M. Barrat*, *Lancet* **217**, 515–19 [1929].
- * 265) *S. Leonhard u. R. Kurzrok*, *Endocrinol.* **37**, 171–76 [1945].
- * 266) *S. Leonhard u. R. Kurzrok*, *ebenda* **39**, 85–90 [1946].
- * 267) *S. Leonhard u. P. L. Perlman*, *Anat. Rec.* **96**, 47 [1946].
- * 268) *S. Leonhard, P. L. Perlman u. R. Kurzrok*, *Endocrinol.* **39**, 261–69 [1946].
- * 269) *S. L. Leonhard, P. L. Perlman u. R. Kurzrok*, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **66**, 517–18 [1947].
- * 270) *S. Leonhard, P. L. Perlman u. R. Kurzrok*, *Endocrinol.* **40**, 199–201 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* **42**, 3442d [1948].
- * 271) *S. Leonhard, P. L. Perlman u. R. K. Kurzrok*, *Endocrinol.* **42**, 176–80 [1948].
- * 272) *E. Letterer*: *Über epitheliale und mesodermale Schleimbildung*, Hirzel, Leipzig, 1932.
- * 273) *T. Leucutia*, *Amer. J. Roentgenol. Radium Therap.* **61**, 405–08 [1949].
- * 274) *M. D. Levine*, *J. Endocrinol.* **6**, 288–92 [1950]; *Ref. Excerpta medica*, Sect. **III** 4, 245 [1950].

- * 293) *M. D. Levine, R. F. Garzoli, R. E. Kuntz u. J. H. Killough, J. Parasitol.* 34, 158–61 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 7353 [1948].
- 294) *B. A. Levitan, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 68, 566–68 [1948].
- 295) *H. Lineweaver u. E. F. Jansen, Ann. Rev. Biochem.* 14, 69–90 [1945].
- 297) *J. G. Linn u. Th. L. Ozment, Amer. J. Ophthalm.* 33, 33–44 [1950].
- 298) *J. P. Looby u. C. U. Kirby, Amer. Dent. Assoc.* 38, 1–4 [1949].
- * 299) *Jul. Löwenthal u. A. Gagnon, Can. J. Res.* 26 E, 200–05 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 7347B [1948].
- * 300) *F. Lundquist, Acta Physiol. Scand.* 17, 44–54 [1949].
- * 301) *M. B. Lurie, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 39, 181–87 [1938].
- 302) *M. B. Lurie, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 1074–90 [1950].
- * 303) *M. B. Lurie u. P. Zappasodi, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 42, 741–44 [1939].
- * 304) *M. B. Lurie u. P. Zappasodi, Arch. Pathol.* 34, 151 [1942].
- 305) *B. Lythgoe u. J. Madinaveitia, Biochemic. J.* 37, 6–9 [1943].
- * 306) *R. C. Mac Cardle, I. P. Baumberger u. W. C. Herold, Arch. Dermatol. Syphilis* 47, 517 [1943].
- 307) *R. K. MacDonald, Amer. J. Ophthalm.* 32, 96–101 [1949].
- 308) *J. D. MacLennan, Lancet* 247, 433 [1944].
- * 309) *Mac Lennan u. R. G. Mac Farlane, ebenda* 249, 301, 328 [1945].
- / 310) *J. Madinaveitia, Biochemic. J.* 32, 1806 [1938].
- / 311) *J. Madinaveitia, ebenda* 33, 347–56 [1939].
- / 312) *J. Madinaveitia, ebenda* 33, 1470–77 [1939].
- / 313) *J. Madinaveitia, ebenda* 34, 621–24 [1940].
- * 314) *J. Madinaveitia u. D. McClean, Chem. Ind.* 59, 850 [1940].
- 315) *J. Madinaveitia u. T. H. H. Quibbel, Biochemic. J.* 34, 625–31 [1940].
- 316) *J. Madinaveitia u. T. H. H. Quibbel, ebenda* 35, 453–55 [1941].
- 317) *J. Madinaveitia u. T. H. H. Quibbel, ebenda* 35, 456–60 [1941].
- / 318) *J. Madinaveitia, A. R. Todd, A. L. Bacharach u. M. R. A. Chance, Nature [London]* 146, 197 [1940].
- * 319) *J. Madinaveitia u. M. Stacey, Biochemic. J.* 38, 413 [1944].
- * 320) *H. B. Maitland u. W. Laing, Brit. J. exp. Pathol.* 17, 119 [1930].
- * 321) *E. Malagoli, Boll. soc. Ital. biol. sperim.* 15, 668–71 [1940]; *Ref. Chem. Abstr.* 40, 5817 [1946].
- * 322) *T. Mann u. C. Lutvak-Mann, Ann. Rev. Biochem.* 13, 25–58 [1944].
- * 323) *N. Mannozi-Torini, Arch. Sci. biol.* 25, 473–86 [1939]; *Ref. Chem. Zbl.* 1940 II, 1889.
- * 324) *S. Markus u. J. K. Fulton, Fed. Proc.* 8, 407 [1949].
- 325) *R. L. Mayer, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 1041–45 [1950].
- 326) *R. L. Mayer, W. Kocholaty u. D. Stanton, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 67, 529–31 [1948].
- 327) *R. L. Mayer u. F. C. Kull, ebenda* 66, 392–98 [1947].
- / 328) *D. McClean, J. Pathol. Bacteriology* 33, 1045–70 [1930].
- / 329) *D. McClean, ebenda* 34, 459–70 [1931].
- * 330) *D. McClean, Biol. Rev.* 8, 345–56 [1933]; *Ref. Chem. Zbl.* 1933 II 3443.
- / 331) *D. McClean, J. Pathol. Bacteriology* 42, 477–512 [1936].
- * 332) *D. McClean, ebenda* 53, 13–27 [1941].
- * 333) *D. McClean, Lancet* 240, 797 [1941].
- * 334) *D. McClean, J. Pathol. Bacteriology* 53, 156–58 [1941].
- * 335) *D. McClean, ebenda* 54, 284–86 [1942].
- * 336) *D. McClean, Biochemic. J.* 37, 169–177 [1943].
- * 337) *D. McClean u. C. W. Hale, Chem. Ind.* 59, 347 [1940].
- / 338) *D. McClean u. C. W. Hale, Nature [London]* 145, 867–68 [1940].
- * 339) *D. McClean u. C. W. Hale, Biochemic. J.* 35, 159–183 [1941].
- * 340) *D. McClean u. W. T. I. Morgan, J. Pathol. Bacteriology* 36, 193–194 [1933].
- * 341) *D. McClean, W. T. I. Morgan u. G. Favilli, ebenda* 38, 253–58 [1934].
- * 342) *D. McClean u. H. J. Rogers, Lancet* 244, 707–08 [1943].
- * 343) *D. McClean u. H. J. Rogers, ebenda* 247, 434–36 [1944].
- * 344) *D. McClean, H. Rogers u. B. Williams, ebenda* 244, 355–60 [1943].
- * 345) *D. McClean u. I. W. Rowlands, Nature [London]* 150, 627–28 [1942].
- * 346) *D. McCullagh, I. W. Cassidy, F. Valentine u. S. Tolksdorf, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 71, 295–98 [1949].
- * 347) *M. McCutcheon u. D. R. Coman, Cancer Res.* 7, 379–82 [1947].
- * 348) *V. Menkin, J. exp. Medicine* 50, 171–80 [1929].
- * 349) *V. Menkin, Physiol. Rev.* 18, 366 [1938].
- * 350) *V. Menkin, Amer. J. Physiol.* 129, 691–97 [1940]; *Ref. Chem. Zbl.* 1941 I, 3526.
- * 351) *V. Menkin u. M. F. Menkin, J. exp. Medicine* 51, 285–93 [1930].
- / 352) *K. Meyer, Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* 6, 91–102 [1938].
- * 353) *K. Meyer, Adv. Protein Chemistry* 2, 249–75 [1945].
- * 354) *K. Meyer, Army Air Force Rheumatic Fever Control Program; News Letter* 2, 1 [1945]; *Ann. Rheumatic Dis.* 7, 37 [1948].
- * 355) *K. Meyer, Currents in Biochem. Res. (Interscience, New York)* 1946, 277–90; *Ref. Chem. Abstr.* 40, 6105 [1946].
- * 356) *K. Meyer, Physiolog. Rev.* 27, 335–59 [1947].
- * 357) *K. Meyer, J. biol. Chemistry* 176, 993–94 [1948].
- * 358) *K. Meyer, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 961–63 [1950].
- * 359) *K. Meyer, ebenda* 52, 1021–23 [1950].
- * 360) *K. Meyer u. E. Chaffee, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 42, 797–800 [1939].
- * 361) *K. Meyer u. E. Chaffee, Amer. J. Ophthalm.* 23, 1320–25 [1940]; *Ref. Chem. Zbl.* 1941 I, 3385.
- * 362) *K. Meyer u. E. Chaffee, J. biol. Chemistry* 133, 83–91 [1940]; *Ref. Chem. Zbl.* 1940 II, 1154.
- * 363) *K. Meyer u. E. Chaffee, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 43, 487–89 [1940].
- * 364) *K. Meyer u. E. Chaffee, J. biol. Chemistry* 138, 491–99 [1941].
- * 365) *K. Meyer u. E. Chaffee, ebenda* 140, Proc. XC1–11 [1941].
- * 366) *K. Meyer, E. Chaffee, G. L. Hobby u. M. H. Dawson, J. exp. Medicine* 73, 309–26 [1940].
- * 367) *K. Meyer, R. Dubos u. E. M. Smyth, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 34, 816–18 [1936].
- / 368) *K. Meyer, R. Dubos u. E. M. Smyth, J. biol. Chemistry* 118, 71–78 [1937].
- * 369) *K. Meyer, R. Dubos u. E. M. Smyth, ebenda* 118, 491 [1937].
- * 370) *K. Meyer, E. Hahnel, R. Feiner, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 58, 36–40 [1945].
- / 371) *K. Meyer, G. Hobby, E. Chaffee u. M. H. Dawson, J. exp. Medicine* 71, 137–46 [1940].
- * 372) *K. Meyer, G. Hobby, E. Chaffee u. M. H. Dawson, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 44, 294–96 [1940].
- * 373) *K. Meyer u. J. W. Palmer, J. biol. Chemistry* 107, 629–34 [1934].
- / 374) *K. Meyer u. J. W. Palmer, Amer. J. Ophthalm.* 19, 859–65 [1936].
- / 375) *K. Meyer u. J. W. Palmer, J. biol. Chemistry* 114, 689–703 [1936]; *Ref. Chem. Zbl.* 1936 II, 2736.
- * 376) *K. Meyer u. J. W. Palmer, J. biol. Chemistry* 114, LXVII [1936].
- / 377) *K. Meyer, J. W. Palmer u. E. M. Smyth, ebenda* 119, 501–06 [1937].
- * 378) *K. Meyer u. C. Ragan, Fed. Proc.* 7, 173 [1948].
- * 379) *K. Meyer u. C. Ragan, Mod. Conc. Cardiovasc. Diseases* 17, Nr. 2 [1948].
- * 380) *K. Meyer u. E. M. Smyth, J. biol. Chemistry* 119, 507–10 [1937].
- * 381) *K. Meyer u. E. M. Smyth, ebenda* 123, XCIV [1938].
- / 382) *K. Meyer, E. M. Smyth u. M. H. Dawson, Science [New York]* 88, 129 [1938].
- * 383) *K. Meyer, E. M. Smyth u. M. H. Dawson, J. biol. Chemistry* 128, 319–27 [1939].
- * 384) *K. Meyer, E. M. Smyth u. M. H. Dawson, ebenda* 128, LXX [1939].
- * 385) *K. Meyer, E. M. Smyth u. J. W. Palmer, ebenda* 119, 73–84 [1937].
- * 386) *K. Meyer, E. M. Smyth u. E. Gallardo, Amer. J. Ophthalm.* 21, 1083–90 [1938].
- * 387) *K. H. Meyer u. J. Feltig, Experientia* 6, 186 [1950].
- * 388) *K. H. Meyer, W. E. Odier u. A. E. Siegrist, Helv. Chim. Acta* 31, 1400–19 [1948].
- * 389) *E. S. Mills u. R. R. Forsey, Ass. Amer. Physicians, Atlantic City (Mai)* 1949.
- * 390) *J. P. Mixner u. J. E. Johnston, J. Dairy Sci.* 32, 570–73 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 8423 [1949].
- * 391) *M. Mogilewskij u. L. Kogan, Biokhimiya (russ.)* 13, 417–20 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 1073 [1949].
- * 392) *A. M. Mom u. G. Basombrio, Intern. J. Leprosy* 12, 49–59 [1944]; *Ref. Chem. Abstr.* 41, 5195 [1947].
- * 393) *A. Monroy u. A. Ruffo, Nature [London]* 159, 603–04 [1947]; *vgl. Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 20, 253 [1947].
- * 394) *M. Moore, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 69, 391–93 [1948].
- * 395) *D. J. Moore u. T. N. Harris, J. biol. Chemistry* 179, 377–81 [1949].
- * 396) *T. Mørch, Norske Tannlaegeforenings Tid.* 59, 285–92 [1949]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* 3, 147 [1950].
- * 397) *W. T. J. Morgan, Ann. Rpt. Progress. Chemistry* 42, 236–40 [1946]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 8834C [1948].
- * 398) *W. T. J. Morgan u. D. McClean, J. Soc. Chem. Ind.* 51, 44, 912 [1932].
- * 399) *R. Moricard, Rev. Ginec. e d'Obst.* 2, 615–32 [1948]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* 3, 208–09 [1950].
- * 400) *E. J. Moynahan u. D. Watson, Nature [London]* 163, 173 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 4383 [1949].
- * 401) *P. P. Muset, J. A. Salvá u. F. G. Valdecasas, J. Amer. Med. Assoc.* 141, 938 [1949].
- * 402) *L. Narins, N. Simon u. G. D. Oppenheimer, J. Mt. Sinai Hosp. N. Y.* 15, 33–37 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 8226f [1948].
- * 403) *C. L. Oakley, Ann. Inst. Pasteur* 77, 380–88 [1949].
- * 404) *C. O'Flynn, Med. J. Austral.* 37, 356–59 [1950].
- * 405) *L. S. Ogloblin, Zhur. Mikrobiol. Epidemiol. Iimunobiol. (russ.)* Nr. 9, 202 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 7087 [1949].
- * 406) *A. G. Ögström u. J. E. Stanier, Biochemic. J.* 46, 364–76 [1950].
- * 407) *O. Olsson u. O. Löfgren, Acta Radiol.* 31, 250–56 [1949]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 8418 [1949].
- * 408) *J. C. Opsahl, Yale J. Biol. Med.* 21, 255–62 [1949].
- * 409) *J. C. Opsahl, ebenda* 21, 433–36 [1949].
- * 410) *J. C. Opsahl, ebenda* 21, 487–98 [1949].
- * 411) *J. C. Opsahl, ebenda* 22, 115 [1949].
- * 412) *J. C. Opsahl, A. White u. F. Duran-Reynals, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 1061 [1950].
- * 413) *V. Palla, Boll. Soc. Ital. biol. sperim.* 22, 719–21 [1946]; *Ref. Chem. Abstr.* 40, 3194 [1946].
- * 414) *V. Palla, Boll. Soc. Ital. biol. sperim.* 22, 722–24 [1946]; *Ref. Chem. Abstr.* 40, 3194 [1946].
- / 415) *J. W. Palmer, E. M. Smyth u. K. J. Meyer, J. biol. Chemistry* 119, 491–99 [1937].
- * 416) *J. L. Parrot u. R. Pasquelle, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* 143, 931–34 [1949].
- * 417) *R. I. Parsons u. Ph. D. McMaster, J. exp. Medicine* 68, 869–90 [1938].
- * 418) *S. M. Partridge, Biochemic. J.* 43, 387–97 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 3910 [1949].
- * 419) *R. H. Pearce u. E. M. Watson, Canad. J. Res.* 27 E, 43–57 [1949]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* 3, 135 [1950].
- * 420) *C. Pellizzari, Ann. Ost., Ginecol.* [1940].
- * 421) *P. L. Perlman, S. L. Leonhard u. R. K. Kurzrok, Endocrinology* 42, 26–30 [1948].
- * 422) *N. Petrina, Arch. Sci. med.* 86, 481–88 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 43, 1480 [1949].
- * 423) *M. Pijoan, J. exp. Medicine* 53, 37–42 [1931].
- * 424) *R. M. Pike, J. Infect. Diseases* 79, 148–65 [1946].
- * 425) *R. M. Pike, Science [New York]* 105, 391 [1947].
- * 426) *R. M. Pike, J. Infect. Diseases* 83, 1–18 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 8873 [1948].
- * 427) *R. M. Pike, ebenda* 83, 19–22 [1948]; *Ref. Chem. Abstr.* 42, 8873 [1948].
- * 428) *R. M. Pike, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 1070–73 [1950].
- * 429) *R. M. Pike u. N. Salem, J. Bacteriol.* 54, 282 [1947].
- * 430) *G. Pincus u. E. V. Enzmann, J. exp. Medicine* 62, 665–75 [1935].
- * 431) *G. Pincus u. E. V. Enzmann, J. exp. Zool.* 73, 195–208 [1936].
- * 432) *G. Pincus, N. W. Pirie u. McChang, Arch. Biochem.* 19, 388–96 [1948].
- * 433) *A. Pirie, Brit. J. Exp. Pathol.* 23, 277–84 [1942].
- * 434) *A. Pirie, Brit. J. Ophthal.* 33, 271–83 [1949]; *Ref. Ophthalmic Lit.* 1950.
- * 435) *A. Pirie, Brit. J. Ophthal.* 33, 678–84 [1949].
- * 436) *O. J. Pollak, Delaware State Med. J.* 19, 27–29 [1947]; *Ref. Chem. Abstr.* 47, 5587 [1947].
- * 437) *M. G. Pradham, Brit. exp. J. Pathol.* 18, 90 [1937].
- * 438) *F. Prime u. C. D. Hagensen, Amer. J. Cancer* 20, 630–35 [1934].
- * 439) *R. W. Quinn, J. Clin. Invest.* 27, 463–70 [1948].
- * 440) *R. W. Quinn, ebenda* 27, 471–75 [1948].
- * 441) *R. W. Quinn, J. Immunology* 61, 185–91 [1948].
- * 442) *R. W. Quinn, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52, 1118–24 [1950].
- * 443) *Radici, Boll. Ist. sieroter. milan.* 18, 316 [1939].
- * 444) *C. Ragan, Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 63, 572 [1946].
- * 445) *C. Ragan, C. P. Donnan, J. A. Coss u. A. F. Grubin, ebenda* 66, 170–72 [1947].
- * 446) *C. Ragan u. A. De Lamater, ebenda* 50, 349–51 [1942].
- * 447) *C. Ragan u. K. Meyer, J. Clin. Invest.* 28, 56–59 [1949].
- * 448) *C. Ragan, Amer. J. Cancer* 20, 630–35 [1934].
- * 449) *R. H. Rigdon, Arch. Surg.* 41, 96 [1940].
- * 450) *O. Riisfeldt, Nature [London]* 163, 874 [1949].
- * 451) *O. Riisfeldt, Endocrinology* 45, 622–24 [1949].
- * 452) *O. Riisfeldt, Z. Vitamin- u. Hormon- u. Fermentforsch.* 3, 66–68 [1950]; *Ref. Excerpta medica Sect. II* 3, 1022 [1950].
- * 453) *O. Riisfeldt, Nordisk. Med.* 42, 1982 [1949].
- * 454) *O. Riisfeldt, Acta Endocrinol.* 11949 zitiert nach 450.
- * 455) *E. Rizatti, Boll. Soc. Med. Chir. Modena* 40, 271 [1940].
- * 456) *E. Rizatti, ebenda* 41, 321 [1941].
- * 457) *E. Rizatti, ebenda* 42, 606 [1942].
- * 458) *E. Rizatti, ebenda* 43, 230 [1943].
- * 459) *A. H. T. Robb-Smyth, Lancet* 249, 362 [1945].
- * 460) *W. van B. Robertson, M. W. Ropes u. W. Bauer, Amer. J. Physiol.* 126, 609 [1939].
- / 461) *W. van B. Robertson, M. W. Ropes u. W. Bauer, J. biol. Chemistry* 133, 261–76 [1940].
- * 462) *W. van B. Robertson, M. W. Ropes u. W. Bauer, Biochemic. J.* 35, 903–08 [1941].
- * 463) *M. Rocha e Silva u. C. A. Dragstedt, J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 73, 405–11 [1941].
- * 464) *G. Rodney, pers. Mitt., Zit. in Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 69, 261 [1948].

- * 465) *H. I. Rogers*, J. Pathol. Bacteriology 56, 284 [1944].
 * 466) *H. I. Rogers*, Biochemic. J. 39, 435–43 [1945].
 * 467) *H. I. Rogers*, ebenda 40, 583 [1946].
 * 468) *H. I. Rogers*, ebenda 40, 782–80 [1946].
 * 469) *H. I. Rogers*, ebenda 42, 633–40 [1948].
 * 470) *M. G. Romanini*, Arch. intern. Pharmacodinamie 78, 427–439 [1949]; Ref. Chem. Abstr. 44, 177b [1950].
 * 471) *M. Romano*, Pathologica 31, 253–57 [1939]; Ref. Chem. Zbl. 1939 11, 1906.
 * 472) *A. Romanoff*, J. Allergy 10, 36–39 [1939]; Ref. Zbl. Bakteriol. 134, 76.
 * 473) *M. W. Ropes*, Ann. Rheum. Diseases [London] 7, 35 [1948].
 * 474) *M. W. Ropes*, *W. van B. Robertson*, *E. C. Rossmeisl*, *B. Peabody* u. *W. Bauer*, Acta med. Scand. Suppl. 196, 700 [1947].
 * 475) *S. Rothbard*, J. exp. Medicine 88, 325–42 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 42, 8882b [1948].
 * 476) *Lord Rothschild*, Brit. med. J. [1947], zitiert na h 12).
 * 477) *J. W. Rowlands*, Nature [London] 154, 332–33 [1944].
 * 478) *B. de Rudder*, Deutsch. Med. Wschr. 75, 313–315 [1950].
 * 479) *A. M. Rutenburg*, *A. M. Seligman* u. *J. Fine*, im Druck.
 * 480) *B. E. Russel* u. *N. P. Sherwood*, J. Infect. Diseases 84, 81–87 [1949].
 * 481) *B. Sällman* u. *J. M. Birkeland*, Amer. J. Physiol. 152, 271–79 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 42, 5980 [1948].
 * 482) *B. Sällman* u. *J. M. Birkeland*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1062–69 [1950].
 * 483) *B. Sällman* u. *J. M. Birkeland*, ebenda 52, 1086–91 [1950].
 * 484) *U. Sammartino*, Arch. Farmacol. speriment. Sci. affini 64, 53–74 [1936]; Ref. Chem. Zbl. 1937 II, 2029.
 * 485) *U. Sammartino*, Nuov. Arch. Ital. Biol. 1, 1–24 [1938]; Ref. Chem. Zbl. 1938 II, 4524.
 * 486) *L. S. Sanella*, Yale J. Biol. Med. 12, 433–39 [1940].
 * 487) *P. P. Scott*, Nature [London] 166, 479 [1950].
 * 488) *V. Scott*, Amer. J. Syphilis Gonorrhoea Venereal Diseases 32, 12 [1950].
 * 489) *V. Scott* u. *C. Droege*, ebenda 32, 1–11 [1950].
 * 490) *C. V. Seastone*, J. exp. Medicine 70, 361–78 [1939].
 * 491) *C. V. Seastone*, ebenda 77, 21–28 [1943].
 * 492) *J. Seifter*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1141–55 [1950].
 * 493) *J. Seifter*, *D. H. Baeder* u. *A. J. Begany*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 72, 277–82 [1949].
 * 494) *J. Seifter*, *D. H. Baeder* u. *A. Dervinis*, ebenda 72, 136–41 [1949].
 * 495) *J. Seifter*, *P. J. Warter* u. *D. R. Fitch*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 73, 131 [1950].
 * 496) *F. Serri*, Boll. Ist. sieroterap. milanese 27, 75–82 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 43, 3927 [1949].
 * 497) *F. Serri*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* 143, 456–57 [1949].
 * 498) *F. Serri*, ebenda 143, 900–03 [1949].
 * 499) *D. A. Sherber*, *C. H. Birnberg* u. *R. Kurzrok*, Endocrinol. 42, 20–25 [1948].
 * 500) *C. M. Shuman*, im Druck, zitiert nach 501).
 * 501) *C. M. Shuman* u. *A. J. Finestone*, J. exp. Biol. Med. 73, 248–51 [1950].
 * 502) *G. Schwartzman*, J. exp. Medicine 62, 621–44 [1935].
 * 503) *N. Simori* u. *L. Narins*, Amer. J. Roentgenol. 61, 91–94 [1949].
 * 504) *W. L. Simpson*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1125–32 [1950].
 * 505) *W. L. Simpson* u. *A. R. Gopal-Ayengar*, Anat. Rec. 97, 369 [1947].
 * 506) *H. O. Singer* u. *H. Styles* (Ortho Pharmaceutical Corp.), US P. 2,488,564/565; Ref. Chem. Abstr. 44, 2069 [1950].
 * 507) *B. Skanæs* u. *L. Sundblad*, Acta physiol. Scand. 6, 37 [1943]; Ref. Chem. Zbl. 1944 II, 850/51.
 * 508) *O. Šmahel*, Casopis Lékařů českých 88, 1060–63 [1949]; Ref. Excerpta medica Sect. II, 3, 683 [1950].
 * 509) *L. G. Smirnova*, Uspekhi Sovremnoi Biol. (russ.) 1, 302 [1947]; Ref. Chem. Abstr. 43, 741 [1949].
 * 510) *M. L. Som*, *S. S. Schneirson* u. *M. L. Sussman*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 70, 96–99 [1949]; vgl. a. J. Amer. Med. Assoc. 140, 1098–99 [1949].
 * 511) *A. Spinelli*, Riv. Pat. Speriment. 9, 203–11 [1932].
 * 512) *D. H. Sprunt*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1052–60 [1950].
 * 513) *D. H. Sprunt*, *C. W. Hooker* u. *J. S. Raper*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 41, 398–402 [1939].
 * 514) *D. H. Sprunt* u. *S. McDearman*, Endocrinol. 25, 308 [1939].
 * 515) *D. H. Sprunt* u. *S. McDearman*, ebenda 27, 893 [1940].
 * 516) *D. H. Sprunt*, *S. McDearman* u. *J. Raper*, J. exp. Medicine 67, 159 [1938].
 * 517) *G. I. M. Swyer*, Lancet 251, 755 [1946].
 * 518) *G. I. M. Swyer*, Nature [London] 155, 873 [1947].
 * 519) *G. I. M. Swyer*, Biochemic. J. 41, 409–13 [1947].
 * 520) *G. I. M. Swyer*, ebenda 41, 413–17 [1947].
 * 521) *G. I. M. Swyer*, Nature [London] 160, 433 [1947].
 * 522) *G. I. M. Swyer*, Biochemic. J. 42, 28–32 [1948].
 * 523) *G. I. M. Swyer*, ebenda 42, 32–35 [1948].
 * 524) *G. I. M. Swyer* u. *C. W. Emmens*, ebenda 41, 29–34 [1947].
 * 525) *B. Sylvén*, Virchows Arch. 303, 280–94 [1939].
 * 526) *B. Sylvén*, Acta radiol. (1945) suppl. 59.
 * 527) *B. Sylvén*, Acta Orthopaed. Scand. 18, 20–27 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 43, 7118 [1949].
 * 528) *A. M. Scheitman*, Ann. Rev. Physiol. 11, 1–20 [1949]; Ref. Chem. Abstr. 43, 5467 [1949].
 * 529) *H. Schmidt*, Erg. Hyg. Bakt. Immunol. Exp. Ther. 24, 365–95 [1941].
 * 530) *G. van der Schueren*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* 120, 261–63 [1935].
 * 531) *O. Schürch*, *G. Viollier* u. *H. Sullmann*, Helv. Phys. Pharm. Acta 7, C 23–24 [1949]; Ref. Excerpta medica Sect. II 3, 202 [1950].
 * 532) *H. Schwabacher*, *A. C. Cunliffe*, *R. E. O. Williams* u. *G. I. Harper*, Brit. J. Exp. Pathol. 26, 124 [1945].
 * 533) *J. Schwartzmann*, J. Pediatrics 34, 559–63 [1949].
 * 538) *J. Schwartzmann*, *A. F. Henderson* u. *W. King*, ebenda 33, 267–73 [1948].
 * 539) *J. Schwartzmann* u. *M. Levbart*, ebenda 36, 79–86 [1950].
 * 540) *F. W. Stewart* u. *F. Duran-Reynals*, J. exp. Medicine 50, 341–353 [1929].
 * 541) *E. Sturm* u. *F. Duran-Reynals*, ebenda 56, 711–17 [1932].
 * 542) *R. E. Tafel*, *P. Titus* u. *W. W. Wightman*, Amer. J. Obstetr. Gynecol. 55, 1023 [1948].
 * 543) *R. E. Thompson*, J. exp. Medicine 55, 455–63 [1932].
 * 544) *R. M. Thomas* u. *F. Duran-Reynals*, J. exp. Medicine 62, 39–64 [1935] u. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 31, 1201 [1934].
 * 545) *J. Thomas*, *G. Jackson*, *C. Portnoff*, *J. Chandy* u. *J. E. Rhoads*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 74, 497 [1950].
 * 546) *R. T. Thompson*, J. exp. Medicine 51, 777–85 [1930].
 * 547) *R. T. Thompson*, J. Lab. Clin. Medicine 33, 919–32 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 42, 8975b [1948].
 * 548) *R. T. Thompson* u. *F. E. Moses*, Fed. Proc. 7, 282 [1948].
 * 549) *R. T. Thompson* u. *F. E. Moses*, J. Clin. Invest. 27, 805 [1948].
 * 550) *S. Tolksdorf*, *J. W. Cassidy*, *M. H. McCready* u. *D. Roy McCullagh*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1024–27 [1950].
 * 551) *S. Tolksdorf*, *M. H. McCready*, *D. R. Cullagh* u. *E. Schwenk*, J. Lab. Clin. Med. 34, 74–89 [1949]; Ref. Chem. Abstr. 43, 3486 [1949].
 * 552) *E. Trabucchi*, Boll. Soc. Med. Chir. di Padova [1940].
 * 553) *W. R. Trotter* u. *K. C. Eden*, Quart. J. Medicine 11, 229–40 [1942].
 * 554) *M. S. Tuchman* u. *S. E. Moolten*, Amer. J. Med. Sci. 219, 147–51 [1950].
 * 555) *Tullio u. Giuffré*, Boll. Ist. sieroterap. milan. 18, 517–26 [1939].
 * 556) *G. Valette* u. *R. Cavier*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 144, 827–29 [1950].
 * 557) *I. Vandelli*, Boll. Ist. sieroterap. milan. 26, 109–13 [1947].
 * 558) *I. Vandelli*, Boll. Soc. Med. Chir. Modena 47, 9 [1947].
 * 559) *R. Vendramini* u. *I. Vandelli*, Boll. Ist. sieroterap. milan. 25, 133 [1946].
 * 560) *R. Vignochi*, Boll. Soc. Med. Chir. Modena 45, 528 [1945].
 * 561) *F. Vollmer*, Med. Dissert. München 1949.
 * 562) *M. di Volterra* u. *G. de Giuli*, Boll. Soc. Biol. Speriment. 9, 843 [1934].
 * 563) *T. T. Walker* u. *D. C. Hoffman*, Amer. J. Pathol. 9, 651–57 [1933].
 * 564) *K. Wallenfels*, diese Ztschr. 54, 234–37 [1941].
 * 565) *G. H. Warren*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1157–65 [1950].
 * 566) *G. H. Warren*, Science [New York] 111, 473–74 [1950].
 * 567) *G. H. Warren*, *J. G. Durso* u. *N. R. Lewin*, Endocrinol. 43, 48–51 [1948].
 * 568) *G. H. Warren*, *E. C. Williams*, *H. E. Alburn* u. *J. Seifter*, Arch. Biochem. 20, 300–04 [1949].
 * 569) *E. N. Watson*, Canad. Med. Assoc. J. 54, 260–65 [1946].
 * 570) *E. N. Watson* u. *R. H. Pearce*, Amer. J. Clin. Pathol. 17, 507–12 [1947].
 * 571) *E. N. Watson* u. *R. H. Pearce*, ebenda 19, 442–47 [1949].
 * 572) *E. N. Watson* u. *R. H. Pearce*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1004–05 [1950].
 * 573) *L. W. Wattenberg* u. *D. Glick*, J. biol. Chemistry 179, 1213–28 [1949].
 * 574) *L. Weinstein*, Yale J. biol. Medicine 12, 549 [1940].
 * 575) *E. Werle* u. *R. Bauereis*, Biochem. Z. 319, 542–48 [1949].
 * 576) *E. Werle* u. *H. Molt*, ebenda 320, 120–25 [1950].
 * 577) *E. Werle*, *F. Turtur* u. *R. Bauereis*, ebenda 319, 337–43 [1949].
 * 578) *N. T. Werthessen*, *S. Berman*, *B. E. Greenberg* u. *S. L. Gargill*, J. Urolog. 54, 565–70 [1945]; Ref. Chem. Abstr. 42, 7357d [1948].
 * 579) *H. Wilson*, Austral. J. exp. Biol. Med. Sci. 17, 393 [1939].
 * 580) *G. B. Wislocki*, *H. Bunting* u. *E. W. Dempsey*, Amer. J. Anat. 81, 1–37 [1947].
 * 581) *J. Witzgall* u. *H. Boyens*, Therap. d. Gegenwart 1950, 411–14.
 * 582) *M. L. Wolfson* u. *F. A. H. Rice*, J. Amer. Chem. Soc. 69, 2918–19 [1947].
 * 583) *G. M. Wyburn* u. *P. Bacsich*, The Practitioner 164, 361–69 [1950].
 * 584) *J. S. Younger* u. *Ch. Altshuler*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 67, 92–96 [1950]; Ref. Chem. Abstr. 42, 3837 [1948].
 * 585) *L. T. Zeckwer*, Arch. Pathol. 44, 356–59 [1947].
 * 586) *E. A. Zeller*, Advanc. Enzymol. 8, 449–95 [1948]; Ref. Chem. Abstr. 42, 8844 [1948].
 * 587) *S. Zuckerman*, *G. V. Wagener* u. *R. H. Gardiner*, Proc. Zool. Soc. [London] A 108, 385 [1938].
 * 588) *B. W. Zweifach* u. *R. Chambers*, Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1047–51 [1950].
 * 589) (Combined Staff clinics of the College of Physicians and Surgeons, Columbia University), Amer. J. Medicine 1, 675 [1946].
 * 590) Kongreßbericht, Chem. Engng. News 27, 29–30 [1949]; Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 943–1195 [1950].
 * 591) J. Amer. Med. Assoc. 140, 1311–12 [1949].
 * 592) Ind. Engng. News 28, 44 [1950]; diese Ztschr. 62, 178 [1950].

Nachtrag b. d. Korrektur: Inzwischen sind weitere rund 70 meist neuere Publikationen uns bekannt bzw. zugänglich geworden, deren Titel vom Verfasser angefordert werden können. Hingewiesen soll nur werden auf *M. E. Freeman* u. *Mitarb.*, J. biol. Chemistry 186, 201–06 [1950] (Reinigung von Testhyaluronidase) und *A. Obal*, Ärztl. Wschr. 5, 804–10 u. 831–36 [1950] (Überblick über geschlechtsunspezifische Wirkungen der Oestrogene in Beziehung zum Hyaluronsäure/Hyaluronidasesystem).