

Beiträge zur Frage der Proteinurie

Elektrophoretische und immunoelektrophoretische Untersuchungen der Serum- und Harn-eiweißstoffe bei Kindern mit Nephrose-Syndrom

Von

P. BARANYAI, ZSUZSA CZIRBESZ und GY. KAPUS

Heim Pál Kinderkrankenhaus, Budapest

(Eingegangen am 31. März 1964)

In der Pathogenese der nephrotischen Proteinurie wird auf Grund der in den letzten Jahren veröffentlichten Untersuchungsergebnisse von den meisten Autoren den Nierenveränderungen eine primäre Rolle zugeschrieben [11, 13, 18, 24, 25, 26, 28, 29, 34, 36]. Bekanntlich enthält das Glomerularfiltrat auch bei gesunden Personen ein wenig Eiweiß, das aber von den Tubuli reabsorbiert wird, so daß der Harn praktisch frei von Eiweiß ist. In das Glomerularfiltrat gelangt das Eiweiß durch die feinen Poren der Glomerulummembran. Diese Poren bilden in der gesunden Niere eine zusammenhängende Reihe und sind für Partikelchen mit einem Molekulargewicht von 5000–68 000, ja nach einigen Autoren sogar von 5000–85 000 durchgängig. Indessen dominieren unter den Poren solche mit kleinerer Öffnung, die Zahl der Poren mit größerer Öffnung nimmt mehr und mehr ab, und laut HARDWICKE und Mitarbeiter läßt lediglich 1 Pore von etwa 10 000 die Partikelchen mit einem Molekulargewicht von 85 000 durch [13]. In der kranken Niere erweitern sich die Poren [28], diejenigen mit

größerer Öffnung vermehren sich relativ und lassen Makromoleküle in größerer Menge durch. Infolgedessen wächst die Filtration der Plasmaproteine bis zu einem pathologischen Ausmaß an und gelangt soviel Eiweiß in das Glomerularfiltrat, daß die gleichfalls alterierten [13, 28, 29] Tubuli nicht imstande sind, dieses zu reabsorbieren: ihr maximales Reabsorptionsvermögen erschöpft sich, und ein Teil der Eiweißstoffe gelangt in den Harn [28, 34].

Für die primäre Rolle der Glomerulumeithelveränderungen zeugen auch die experimentellen Ergebnisse, laut welchen das mit J^{131} oder mit dem sich stark an Albumin bindenden Evansblau markierte Albumin so rasch nach der Zufuhr im Harn erscheint, daß dies nur durch Glomerularfiltration zustande kommen kann [28, 32]. Die Schädigung des Glomerulumeithels beruht wahrscheinlich auf Autoaggressionsprozessen. Bei Neugeborenen mit kongenitalem Nephrose-Syndrom hat man mit dem Immunfluoreszenzverfahren Gamma-globulinvermehrung in einzelnen Glomerulumschlingen nachgewiesen, was eine gewebsdestruierende, komple-

mentbindende Antigen-Antikörperreaktion anzeigt [15]. Die aus den Tubuli reabsorbierten markierten Eiweißgranula erscheinen aber zuerst in dem dem Lumen zugewendeten Teil des Tubulusepithels und erst danach in den anderen Epithelschichten. Diese Beobachtung stützt die Auffassung jener Autoren, welche die früher als primär betrachteten Tubulusepithelveränderungen vorwiegend als eine Speicherungserscheinung ansehen [28]. In diesem Sinne kommt die Proteinurie infolge gesteigerter Permeabilität des Glomerulumepithels und Erschöpfung des Reabsorptionsvermögens der Tubuli zustande. Bei den Plasmaeiweißen handelt es sich ebenfalls um clearanceartige Stoffe; übersteigt ihre Konzentration in den Tubuli den $Tm_{\text{Prot.}}$ -Wert, so wird der Eiweißüberschuß mit dem Harn ausgeschieden.

An Hand dieser Darlegungen wird verständlich, daß in erster Linie die niedermolekulären Plasmaeiweiße in den Harn gelangen und unter pathologischen Verhältnissen in größerer Menge mit dem Harn ausgeschieden werden. Beim nephrotischen Syndrom betrachten mehrere Autoren das für die Plasmaeiweiße charakteristische elektrophoretische Bild als eine Folge des Eiweißverlustes. Tatsächlich stellen die Elektrophoretogramme der Plasma- und Uroproteine fast gegenseitige Spiegelbilder dar [27].

Die Uroproteine unterscheiden sich zwar in ihren Eigenschaften von den Plasmaproteinen [3, 8, 10, 35], doch ist es bisher niemandem gelungen, die Ausscheidung von Paraproteinen

beim Nephrose-Syndrom unzweifelhaft zu beweisen [24, 25, 26, 27]. Wir können lediglich von der Ausscheidung veränderter Plasmaproteine sprechen. Wie zahlreiche elektrophoretische Untersuchungen nachgewiesen haben, dominiert im Uroprotein das Albumin, doch werden in wechselnder Menge stets auch Globuline ausgeschieden. Ein besonders variables Bild von den im Harn ausgeschiedenen Eiweißstoffen gewinnen wir mit Hilfe der Immunelektrophorese [5, 7, 14, 20], wie dies auch die seit einem Jahr durchgeführten eigenen Untersuchungen beweisen.

MATERIAL und METHODEN

Den ohne Konservierungsmittel, gekühlt gesammelten 24-Stunden-Harn von 12 wegen Nephrose-Syndrom behandelten Kindern dialysierten wir in aliquoter Menge nach Zentrifugieren 48 Stunden gegen fließendes Wasser, wonach das Dialysat mit konzentriertem Gummi arabicum bei $+4^{\circ}\text{C}$ eingedickt wurde. Das Residuum wurde mit Ringer-Lösung auf $1/5-1/10$ der Ausgangsmenge zurückgewonnen. Bis zur Verwendung erfolgte die Aufbewahrung im Gefrierzustand.

Den Gesamteiweißwert bestimmten wir nach der Biuret-Methode. Die Papierelektrophorese erfolgte nach GRASSMANN und HANNIG [12] und MICHAELISSchen Azetat-Veronalpuffer bei $\text{pH} = 8,6$ mit 0,1 Ionenstärke auf Whatman-Filterpapier Nr. 1 durch 16–18stündige Wanderung, die Färbung mit saurem Fuchsin [17, 21], die Auswertung durch Elution. Die Immunelektrophorese führten wir nach der modifizierten SCHEIDEGGERSchen Mikromethode durch [30], mit identischen Mengen der Serum- und Harn-eiweißstoffe. Für die Immunpräzipitation benutzten wir das BACKHAUSZsche Antihuman-Pfer-

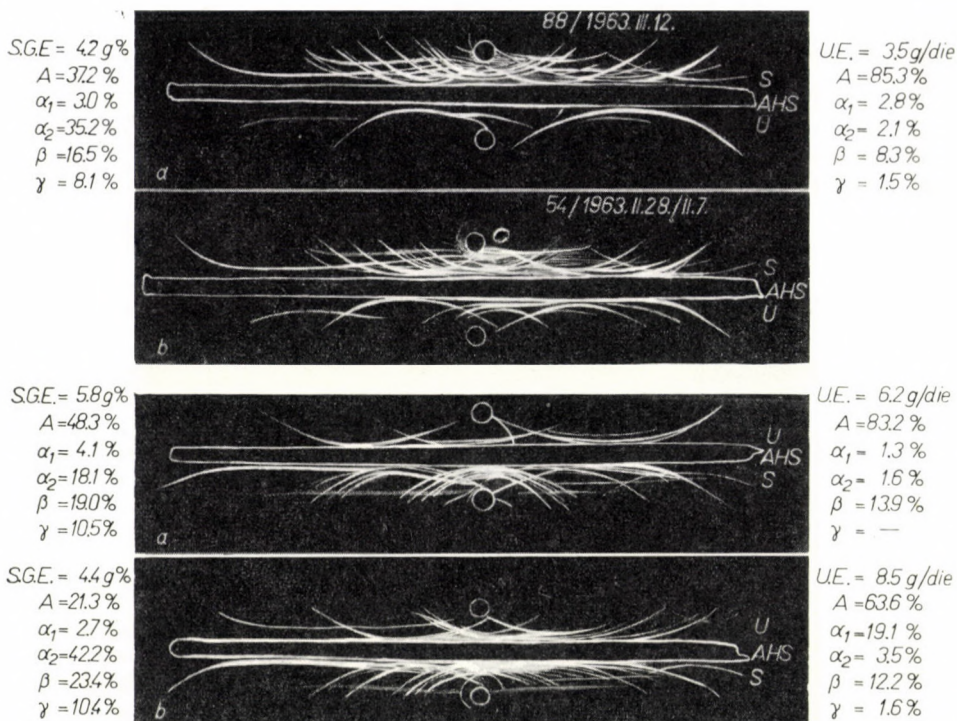


ABB. 1. Fall Nr. 1. Elektrophoretisches und immunoelektrophoretisches Serum- und Harn-eiweißbild

ABB. 2. Fall Nr. 2. Elektrophoretisches und immunoelektrophoretisches Serum- und Harn-eiweißbild

deserum Nr. 249 (Impfstoffherstellungsinstitut Human, Budapest) und die homologen Antihumansera der Behring-Werke. Zur Färbung verwendeten wir Amidoschwarz 10 B; Haptoglobulin und Coeruloplasmin wurden mit einer speziellen Färbungsreaktion nachgewiesen [31]. Die vergleichende antigenanalytische Untersuchung der Serum- und Harnproteine geschah mit doppelter Gel-diffusion in Agargel nach OUCHTERLONY [23]. Bei letzterer Untersuchung bedeutet die Bezeichnung »unverdünnt« bereits 5fach eingedickten Harn.

ERGEBNISSE

Von 6 der kontinuierlich untersuchten 12 Kinder wollen wir einige Ergebnisse mitteilen.

1. Fall. Z. J., 7jähriger Knabe (Abb. 1, a). Niedrige Serumgesamteiweiß-, Albumin- und γ -Globulinwerte mit α_2 - und β -Globulinvermehrung. Scheidet im Harn 3,5 g Eiweiß in 24 Stunden aus, überwiegend Albumin, aber auch Globuline. Im Immunoelektrophoretogramm der Harnproteine sind neben starken Albumin- und Transferinbogen schwache Bogen im Bereich der α_1 - und α_2 -Globuline zu sehen; die γ -Linie ist kaum wahrnehmbar.

Nach Zunahme der Proteinurie (Abb. 1, b) erschienen neue Bogen im Immunoelektrophoretogramm, hauptsächlich im Gebiet der α_2 -Globuline; ferner wurde die γ -Linie stärker.

2. Fall. Sz. P., 9 1/2jähriges Mädchen (Abb. 2, a). Zur Zeit der Untersuchung ist neben mäßiger Hypoproteinämie und Hypalbuminämie eine relativ geringe Ver-

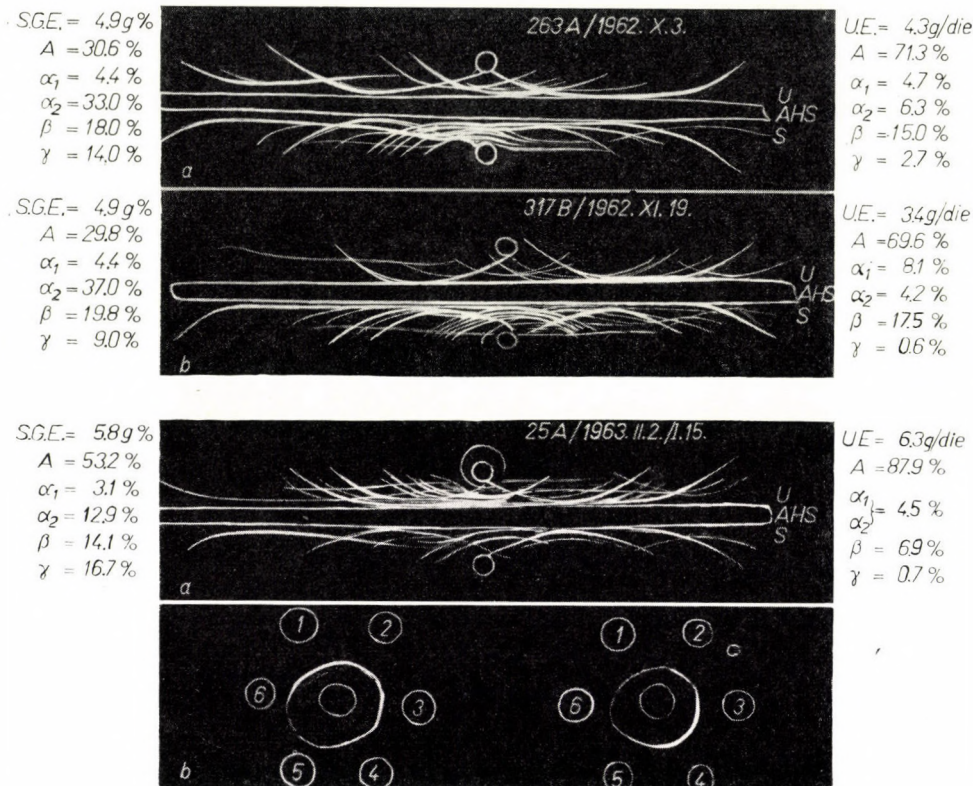


ABB. 3. Fall Nr. 3. Elektrophoretisches und immunoelektrophoretisches Serum- und Harn-eiweißbild

ABB. 4. Fall Nr. 4. *a* Elektrophoretisches und immunoelektrophoretisches Serum- und Harn-eiweißbild. *b*. Transferrinnachweis nach OUCHTERLONY. Links: 1—6 Serumverdünnungen 1: 2—1: 64, rechts: 1—6 Harnverdünnungen 1: 2—1: 64. In der Mitte beidseitig: Antitransferrinserum

mehrung der α_2 - und β -Globuline zu beobachten. Entleert im Harn 6,2 g Eiweiß in 24 Stunden, überwiegend Albumin und β -Globulin. Im Immunelektrophoretogramm sehen wir neben einem ausgeprägten Albumin- und Transferrinbogen je 1 Komponente im Bereich der α_1 - und α_2 -Globuline.

Die vorübergehende Verschlechterung des Zustandes wird durch die Veränderung der Serum- und Harn-eiweißwerte angezeigt (Abb. 2, *b*). Die Proteinurie stieg auf 8,5 g, im Immunelektrophoretogramm erschienen rasches Präalbumin, neue Komponenten im Gebiet der α -Globuline und die γ -Linie.

3. Fall. H. I., 2 Jahre 20 Monate alter Knabe. Im Zeitpunkt der Untersuchung ist neben Hypoproteinämie und Hypalbuminämie das Übergewicht der Globuline wahrnehmbar. Entleert im Harn 4,3 g Eiweiß in 24 Stunden, überwiegend Albumin und β -Globulin, aber auch andere Globuline. Im Immunelektrophoretogramm prägnante Albumin-, einige α_2 -, Transferrin- und γ -Globulinlinien, außerdem schwache Präalbumin-, α_1 - und β_2 -Globulinlinien (Abb. 3, *a*).

Nach 45 Tagen verringert sich die Proteinurie, was im Immunelektrophoretogramm (Abb. 3, *b*) aus der Schwächung der Linien, mit Ausnahme der

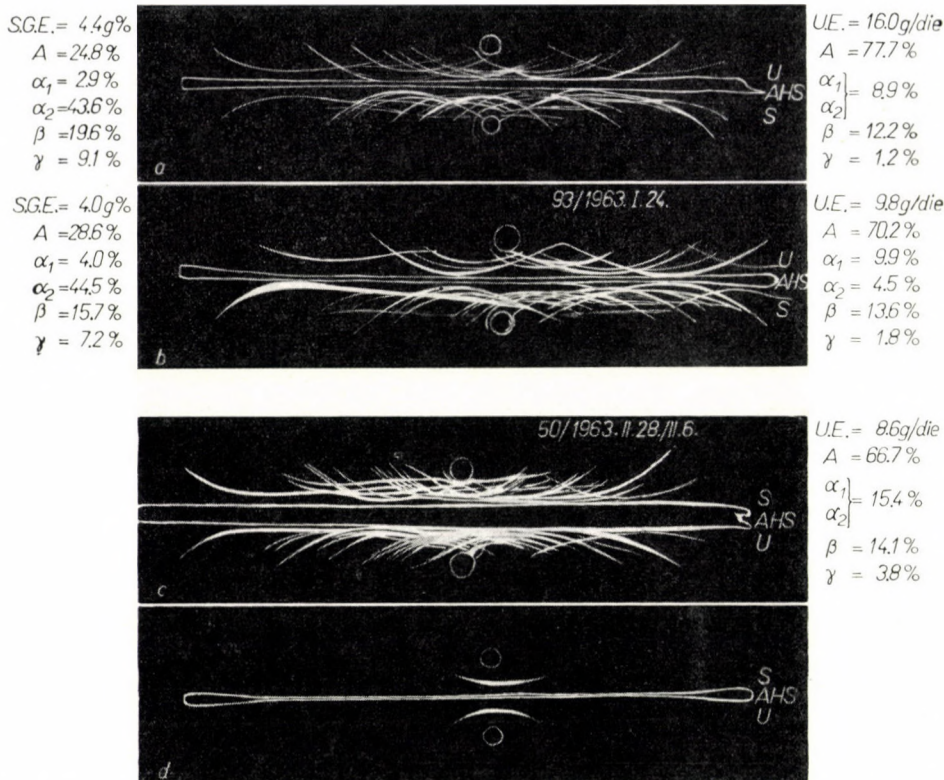


ABB. 5. Fall Nr. 5. a—c. Elektrophoretische und immunoelektrophoretische Serum- und Harn-eiweißbilder, d. Coeruloplasminnachweis mittels Immunoelektrophorese im Serumprotein (oben) und im Harnprotein (unten).

ausgeprägten Präalbuminlinie, hervorgeht.

4. Fall. V. M., 8 1/2-jähriges Mädchen (Abb. 4, a). Scheidet bei fast normalen Serumproteinwerten in 24 Stunden 6,3 g Eiweiß aus, überwiegend Albumin, doch sind im Immunelektrophoretogramm auch Präalbumin-, Albumin-, α_1 -, einige α_2 - und β_1 sowie γ -Globulin-Präzipitationslinien zu sehen.

Hiernach ließen wir die halbierende Verdünnungsreihe der Serum- und Harnproteine des Kindes nach OUCHTERLONY mit Antitransferrinserum reagieren (Abb. 4, b). Wie ersichtlich, entleert das Kind ziemlich viel Transferrin im Harn.

5. Fall. N. A., 11-jähriges Mädchen. Neben ausgesprochener Hypoproteinämie sowie Hypalbuminämie beträchtliche α_2 -

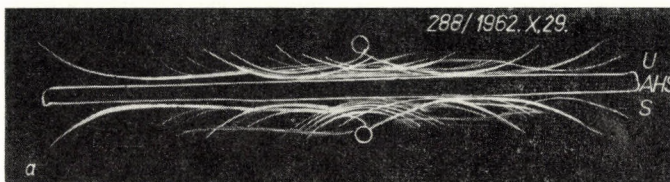
und β -Globulinvermehrung. Scheidet in 24 Stunden 16 g Eiweiß, überwiegend Albumin, aber auch viel β - und α -Globulin aus. Das Immunelektrophoretogramm (Abb. 5, a) ist fast ebenso reich an Präzipitationslinien wie das Serumbild, der Harn enthält mit Ausnahme der Makroglobuline fast alle Serumeiweißkomponenten.

Nach einem Monat vermindert sich die Proteinurie auf 9,8 g, ohne einer Verringerung der Komponenten im Elektrophoretogramm (Abb. 5, b).

Nach weiteren 31 Tagen ist das Immunelektrophoretogramm (Abb. 5, c) bei praktisch gleicher Proteinurie (8,6 g) noch reichhaltiger. Besonders fallen neue Komponenten im Bereich der β_2 -Globuline auf.

Hiernach stellten wir das Coeruloplas-

SGE = 3,5 g %
 A = 10,2 %
 α_1 = 3,1 %
 α_2 = 64,2 %
 β = 14,6 %
 γ = 7,9 %



U.E = 16,8 g/die
 A = 54,5 %
 α_1 = 22,6 %
 α_2 = 4,3 %
 β = 6,5 %
 γ = 12,1 %

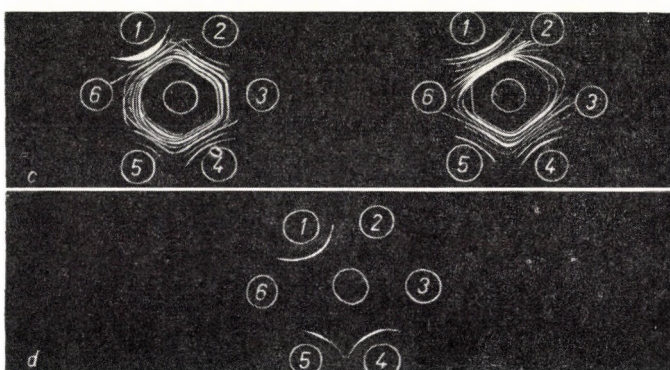
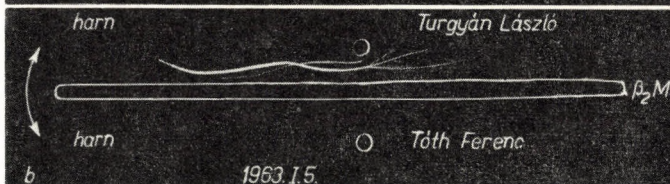


ABB. 6. Fall Nr. 6. *a.* Elektrophoretisches und immunoelektrophoretisches Serum- und Harn-eiweißbild. *b.* Immunoelektrophoretischer Nachweis von β_2 -Makroglobulin im Harn (oben). *c.* Antigenanalytischer Vergleich der Serum- und Harn-eiweißkörper vom Fall Nr. 6 (links) mit einem anderen kranken (rechts). In den Vertiefungen 1 und 4 (beidseitig). Serum in Verdünnungen 1 : 16 bzw. 1 : 32, in den Vertiefungen 2, 3, 5, 6 Harn in den Verdünnungen 1 : 4—1 : 32, in der Mitte Antihumanserum. *d.* β_2 -Lipoprotein im Serum (1, 4 und 5). Im Harn nicht nachweisbar (2, 3 und 6). In der Mitte Anti- β_2 -Lipoproteinserum

min mit einem spezifischen Färbungsverfahren dar (Abb. 5, d). Die Coeruloplasminbogen zeichnen sich im Serum und Harn mit gleicher Stärke ab.

Dasselbe Resultat sahen wir beim Haptoglobinnachweis.

6. Fall. T. F., 12jähriger Knabe. Niedriger Serumgesamteiweißwert und charakteristisches elektrophoretisches Serum-eiweißbild. Entleert 16,8 g Eiweiß in 24 Stunden, neben Albumin im beträchtlichen Verhältnis auch Globuline. Das Immunoelektrophoretische Bild (Abb. 6, a) der Serum- und Harnproteine des völlig dekompensierten, stark ödematösen, urämi-

schen Kindes stimmt fast damit überein.

Das Harn-eiweiß enthielt auch mit Anti- β_2 -Makroglobulinserum nachweisbares β_2 -Makroglobulin (Abb. 6, b).

Mit Anti- β_2 -Lipoproteinserum vermochten wir β_2 -Lipoprotein im Harn nicht nachzuweisen (Abb. 6, d).

Beim antigenanalytischen Vergleich der Serum- und Harn-eiweißstoffe nach OUCHTERLONY (Abb. 6, c) gehen die Präzipitationsbogen der Harnproteine in die Präzipitationsbogen der entsprechenden Serum-eiweißkomponenten über, was für die Identität ihrer Antigeneigenschaften spricht. Besonders deutlich ist der Konflux

der Bogen in denjenigen Verdünnungen wahrnehmbar, in welchen die quantitativen Verhältnisse die Präzipitationsbildung begünstigen.

BESPRECHUNG

Wie aus den demonstrierten Fällen hervorgeht, vermögen wir durch die immunoelektrophoretische Untersuchung der Harneiweißstoffe weitere Kenntnisse zu gewinnen und dadurch ein breiteres Spektrum der Nierenpermeabilität zu erkennen. Wenn keine absolut strenge Korrelation zwischen dem Ausmaß der Proteinurie und der Reichhaltigkeit des immunoelektrophoretischen Bildes besteht, werden im allgemeinen bei leichten Prozessen nur einige immunologisch nachweisbare Komponenten mit dem Harn ausgeschieden. Mit der Progression des Prozesses oder in schwereren Fällen werden die immunoelektrophoretischen Bilder der Serum- und Harnproteine einander immer ähnlicher, nur kommen die den Makroglobulinen entsprechenden Präzipitationslinien bei den Harneiweißstoffen selten vor.

In der α_2 -Fraktion von Uroprotein ist Coeruloplasmin schon bei schwacher Proteinurie, bei Ausscheidung mehrerer α_2 -Komponenten aber auch Haptoglobin nachweisbar.

Von den Globulinen wurde in fast sämtlichen untersuchten Fällen in größter Menge das zur β_1 -Gruppe zählende — Serumeisen tragende — Transferrin ausgeschieden. Diese Komponente hat in den Harneiweißstoffen niemals gefehlt.

Bekanntlich prädisponiert das Nephrose-Syndrom zu den verschiedensten Infektionen, obschon sie γ -Globulin nicht in überreichem Maße mit dem Harn ausscheiden. Dagegen sind ihre Serum- γ -Globulinwerte niedrig. Zur Senkung des Serum- γ -Globulinwertes trägt wahrscheinlich auch die verringerte γ -Globulinbildung bei. Darauf deutet die Beobachtung, daß bei den an Nephrose-Syndrom Leidenden nach künstlicher Malariainfektion die übliche γ -Globulinvermehrung nicht eintritt [26]. LINNEWEH und JARAUSCH nehmen an, daß neben den Nierenveränderungen auch das RES, das ganze »aktivierbare Mesenchym« geschädigt ist [16].

Nach den Ergebnissen der Ultrazentrifugenuntersuchungen besitzen die Uroproteinkomponenten im allgemeinen ein niedrigeres Molekulargewicht als die entsprechenden Plasmaproteinkomponenten [3, 6, 8, 18, 19, 27, 35]. Die Plasmaproteine zerfallen somit vor dem Nierenfilter oder während der Filtration in kleinere Teile. Ein Teil der Uroproteine mit niedrigerem Molekulargewicht kann auch auf den enzymatischen Eiweißabbau während der Nierenpassage zurückzuführen sein [22, 28, 33]; im Glomerulum- und Tubulusepithel hat man lebhaftes Enzymtätigkeit und in den mit dem Harn ausgeschiedenen Eiweißen erhöhte Enzymaktivität nachgewiesen [19, 22, 28, 33]. Möglich ist aber auch, daß es sich bei einem Teil der Uroproteine um physiologische Abbauprodukte handelt. Im Zusammenhang mit den im Harn ausgeschiedenen γ -Globu-

linen mit niedrigem Molekulargewicht hat BERGGÄRD [4] festgestellt, daß diese bereits im Plasma angetroffen werden können und unverändert in den Harn gelangen. Zur Klarstellung des Abbaus der anderen Komponenten bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Früher vertrat man allgemein die Ansicht, die Makroglobuline gelangten nicht durch den Nierenfilter. Im Harn unseres 6. Falles vermochten wir immunologisch β_2 -Makroglobulin nachzuweisen. Bei dem im Terminalstadium ultimis befindlichen Kind hatten wir nicht mehr die Möglichkeit zur Ultrazentrifugenuntersuchung der Harneiweißstoffe, obschon deren Ergebnis wichtig gewesen wäre. MAIORCA und SCARPIONI [19] konnten unter an immunelektrophoretischer Komponenten reichen Harnproteinen einmal Makroglobulin mit der Sedimentationskonstante S_{19} und 900 000 Molekulargewicht, ein andermal mit der Sedimentationskonstante $S_{11,5}$ und etwa 300 000 Molekulargewicht nachweisen. In einzelnen Fällen können die Nieren demnach eine sehr hochgradige Permeabilität aufweisen.

In Kenntnis der Aminosäurezusammensetzung der immunelektrophoretischen Plasmaeiweißkomponenten werden wir mit Hilfe der Immunelektrophorese in Zukunft vielleicht eine Erklärung für die Unterschiede finden, die in der Aminosäurezusammensetzung der Plasma- und Harnproteine zutage treten.

Laboratoriumsassistentin Frau L. HEJTEJER danken wir für ihre bei den technischen Arbeiten geleistete Hilfe.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Serum- und Harneiweißveränderungen bei 12 an Nephrose-Syndrom leidenden, im Krankenhaus unter ständiger Kontrolle behandelten Kindern wurden kontinuierlich mit Hilfe der Papierelektrophorese und Immunelektrophorese untersucht.

Die elektrophoretischen Serum- und Harneiweißwerte ändern sich in Übereinstimmung mit den Literaturangaben in der Mehrzahl der Fälle gegensätzlich, im allgemeinen im Verhältnis zum Ausmaß der Proteinurie. Mitunter sind jedoch die Serumproteinwerte auch bei starker Proteinurie annähernd normal.

Nach den immunelektrophoretischen Untersuchungsergebnissen wechselt die Zahl der im Harn ausgeschiedenen Komponenten innerhalb weiter Grenzen; bei klinisch schweren Fällen konnten selbst 16–18 Eiweißkomponenten im Uroprotein nachgewiesen werden.

Neben Albumin war das zur β_1 -Gruppe rechnende Transferrin stets vorhanden.

Von der α_2 -Gruppe ist Coeruloplasmin im allgemeinen auch bei geringer Proteinurie nachweisbar; werden mehrere α_2 -Komponenten ausgeschieden, so läßt sich auch Haptoglobin feststellen.

Im Harn des Falles Nr. 6 konnte mit einer immunologischen Methode β_2 -Makroglobulin aufgezeigt werden. Bei dem in ultimis befindlichen Kind war es nicht mehr möglich, mittels Ultrazentrifugenuntersuchung klarzustellen, ob ganze Makroglobulin-

moleküle in den Harn gelangt waren oder Teile, die ihre Antigeneigenschaften noch bewahrt hatten.

LITERATUR

1. ALLEN, A. G.: The kidney. Grune & Stratton, New York 1962. S. 67.
2. ANTWEILER, H. J.: Die quantitative Elektrophorese in der Medizin. Springer, Berlin 1957. S. 82—86 und 130—133.
3. BARANYAI, P., BAUMANN, M., FISCHER, A., JAKAB, M., LAMM, GY., ROHNY, ZS.: Serum és vizeletfehérjék összehasonlító vizsgálata nephrosis syndromában. Magy. belorv. Arch., 48 (1955)
—: Über die pathologische Eiweißpermeabilität. II. Die Harn-eiweißkörper bei Nephrose. Acta med. Acad. Sci. hung. **11**, 381 (1958)
4. BERGGÄRD, J.: On a gamma-globulin of low molecular weight in normal human plasma and urine. Clin. chim. Acta, **6**, 545 (1961)
5. BIZERTE, G., BRETON, A., HAVEZ, R.: Étude électrophorétique et immunologique des protéines urinaires chez l'enfant sain et au cours des néphropathies. Arch. franç. Pédiat. **16**, 634 (1959)
6. BOURDILLON, J.: zit. WUHRMANN und WUNDERLY.
7. CLEVE, H., HARTMANN, F., RITTER, R.: Immuno-elektrophoretische und immunohemische Untersuchungen beim nephrotischen Syndrom. Dtsch. Arch. klin. Med. **204**, 393 (1957)
8. CREETH, J. M., KECKWICK, R. A.: An ultracentrifuge study of urine proteins with particular reference to the proteinuria of renal tubular disorders. Clin. chim. Acta, **8**, 406 (1963)
9. DITTMER, A.: Papirelektrophorese. Fischer, Jena S. 124 (1961)
10. GOETSCH, E., LYTTLER, J. D.: Precipitin studies in nephrosis and nephritis. J. clin. Invest. **19**, 9 (1940)
11. GÖMÖRI, P.: Belgyógyászati vesebajok. Medicina, Budapest. 1962.
12. GRASSMANN, W., HANNIG, K.: Ein einfaches Verfahren zur Analyse der Serumproteine und anderer Proteingemische. Naturwissenschaften **37**, 496 (1950)
13. HARDWICKE, J., SQUIRE, J. R.: The Relationship between Plasma Albumin Concentration and Protein Excretion in Patients with Proteinuria. Clin. Sci. **14**, 509 (1955)
14. HARTMANN, L., LAGRUE, G., RAOULT, A., BINET, J. L., MILLIEZ, P.: Immunoélectrophorèse à travers gel d'amidon des proteinuries orthostatiques et lodo-tiques. J. Urol. méd. chir. **65**, 678 (1959)
15. LANGE, K.: Über den immunologischen Mechanismus der akuten und chronischen Glomerulonephritis. Internationales Nierensymposium, Würzburg 1960, S. 232. Basis und Behandlungsmethoden der reinen Nephrose. Ibidem, S. 267.
16. LINNEWEH, F., JARAUSCH, K. H.: Über das nephrotische Syndrom. Dtsch. med. Wschr. **88**, 457 (1963)
17. LÓZSA, A.: Papirelektroforezis készülék és metódika nagyszámú szérumminta fehérjefrakcióinak szeparálására és festésére. Kísér. Orvostud. **13**, 86 and 98 (1961)
18. MÁRKI, H. H., WUHRMANN, F.: Proteinverlustsyndrome. Zur Pathogenese der Hypoproteinämie beim nephrotischen Syndrom und beim enteralen Proteinverlust. Schweiz. med. Wschr. **91**, 1521 (1961)
19. MAIORCA, R., SCARPIONI, L.: Urinary Excretion of Macromolecules in Proteinuria. Clin. chim. Acta **3**, 710 (1963)
20. MILLIEZ, P., HARTMANN, L., LAGRUE, G.: Immunoélectrophorèse et électrophorèse à travers gel d'amidon des serums et des urines de sujets de syndrome néphrotique. J. Urol. méd. chir. **65**, 248 (1959)
21. MILTÉNYI, M., NOVOTNY, A.: A serumfehérjék papirelektrophoresisének diagnosztikai jelentősége. Orv. Hetil. **94**, 17 (1953)
22. NOLTENIUS, H.: Glomerulumveränderungen bei Proteinurie in der intravitalen Nierenbiopsie. Beitr. path. Anat. **123**, 173 (1960)
23. OUCHTERLONY, O.: Antigen-Antibody Reactions in Gels. Acta path. microbiol. scand. **26**, 507 (1949)
24. REUBI, F., COTTIER, P.: Das nephrotische Syndrom. Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. NF. **18**, 366 (1962)
25. REUBI, F.: Nierenkrankheiten. Huber, Bern 1960. S. 286.
26. RIVA, G.: Das Serum-eiweißbild. Huber, Bern 1960.
27. RIVA, G.: Blut- und Harnproteine bei Nierenerkrankungen. Schweiz. med. Wschr. **89**, 610 (1959)
28. ROHWEDDER, H. J.: Über den Mechanismus und die klinische Bedeutung der Proteinurie bei Kindern mit nephrotischem Syndrom. Arch. Kinderheilk. **166**, 114 (1962)
29. SARRE, H.: Zur Pathogenese und Therapie des nephrotischen Syndroms. Dtsch. med. Wschr. **79**, 1651 (1954)

30. SCHEIDEGGER, J. J.: Une micro-méthode de l'immunoélectrophorèse. *Int. Arch. Allergy*, **7**, 103 (1955)
31. SCHEIFFARTH, F., GÖTZ, H. u. KNOPFF, H.: Die Bedeutung kombinierter Färbeverfahren nach immuno-elektrophoretischer Analyse pathologischer Seren. *Acta haemat. (Basel)* **26**, 169 (1961)
32. SLATER, R. J., DOHERTY, N. J. O., De WOLFE, M. S.: Studies on human proteinuria. *Pediatrics*, **26**, 190 (1962)
33. SZÁSZ, G., BARANYAI, P., CZIRBESZ, Zs., CSÁKY, P.: Ausmaß der Enzymurie im nephrotischen Syndrom. *Klin. Wschr.* (erscheint demnächst.)
34. WAKIM, K. G. u. MCKENZIE, B. F.: Invalidation of the hypothesis of dysproteinemia as a cause of proteinuria in experimental nephrosis. *J. Lab. clin. Med.* **55**, 510 (1960)
35. WUHRMANN, F., WUNDERLY, CH.: Neuere klinische Untersuchungen über die Proteinurie. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **6**, 254 (1950)
36. WUHRMANN, F., WUNDERLY, CH.: Die Bluteiweißkörper des Menschen. III. *Ausg. Schwabe, Basel 1957.*

DR. P. BARANYAI

Üllői út 86.

Budapest, VIII. Ungarn.