

Untersuchung von Serumglykoproteinen im Säuglingsalter

Von

L. KARMAZSIN, S. CSORBA, Maria KÁVAY und G. SZOMBATHY

Kinderklinik und Institut für Pathophysiologie der Medizinischen Universität Debrecen

(Eingegangen am 15. März 1966)

Es ist seit langer Zeit bekannt, daß sich die Mukopolysaccharide (MPS), die in jedem Fall Hexosamin enthaltenden makromolekularen, aus Kohlenhydraten bestehenden Stoffe an Gewebs- und Serumproteine binden. An Hand der Eigenschaften der Kohlenhydratkomponenten unterscheidet WINZLER [80] zwei Gruppen:

1. Mukoproteine, in denen neben Eiweiß Säureradikale enthaltende Kohlenhydratmoleküle in lockerer Bindung anwesend sind und

2. Glykoproteine, bei denen sich das neutrale Kohlenhydratmolekül in stabiler Bindung an das Eiweiß koppelt.

Während in den Geweben beide MPS-Formen anzutreffen sind, können im Serum vor allem die Glykoproteine nachgewiesen werden.

Mit Hilfe von verschiedenen eiweißfällenden Lösungen lassen sich folgende Fraktionen separieren:

1. Das mit Sulfosalizylsäure gewinnbare Brdicka-Filtrat [34],

2. die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Mukoproteinfraktionen [30],

3. das durch Differentialpräzipitation mit Perchlorsäure-Phosphorwolframsäure separierte Winzlersche Seromukoid [78] und

4. die nach Anwendung vorstehender Verfahren verbleibende Glykoproteinfraktion.

Nach den neueren Untersuchungsverfahren (Isolierung, Elektrophorese unter verschiedenen Bedingungen, Immunelektrophorese, Ultrazentrifugierung) kann man das Verhalten folgender Fraktionen studieren:

1. Der im Bereich der alpha-1-Globuline anzutreffenden Glykoproteine mit niedrigem und hohem Molekulargewicht, alpha-1-Azidglykoprotein (Seromukoid) sowie der mittels Immunelektrophorese trennbaren Komponenten A, B und C.

2. In der Wanderungszone der alpha-2-Globuline sind alpha-2-Mukoprotein sowie ein alpha-2-Glykoprotein mit niedrigem und zwei alpha-2-Glykoproteine mit hohem Molekulargewicht anzutreffen. An die alpha-2-Globulin-Fraktion bindet sich auch ein Haptoglobin mit spezifischer Funktion.

Zum Nachweis der im Serum enthaltenen MPS sind folgende Verfahren gebräuchlich: Kolorimetrische Methode (Gesamteiweißhexose, Hexosamin, Sialinsäure, Fucose), Muko- und Glykoprotein-Papierlektropho-

rese, Mukoprotein-Polarographie und Isolierung der einzelnen Fraktionen.

Die Funktion der im Blutserum nachgewiesenen Glykoproteine ist umstritten; nach einigen Autoren handelt es sich um auf Abbau wartende Transportstoffe, andere fanden bei der Analyse ihrer Struktur, sie seien mit den Immunglobulinen identisch (MASOPUST, persönliche Mitteilung).

Das Verhalten der Serumglykoproteine im Neugeborenen- und Säuglingsalter ist in zahlreichen Mitteilungen erörtert worden. Mit der Analyse der Gesamteiweißstoffe, der elektrophoretischen Fraktionen und der an Protein gebundenen Kohlenhydrate im Nabelschnurblut haben sich BERGERSTRAND [5], BÖTTIGER [10], OBERMANN [44], SHETLAR [55] sowie TÓTH, KARMAZSIN und KISS [69] beschäftigt.

Im Neugeborenenalter wurden ihre Veränderungen in Serumuntersuchungen von BÖTTIGER und CARLSON [9], BÖTTIGER und STERKY [10], FANTUZZI und ROSTI [19], SHETLAR und Mitarbeitern [55] sowie von SVEJČÁR [67] studiert.

Die bei den verschiedenen inneren Krankheiten [17, 29, 31, 32, 34, 38, 47, 49, 52, 56, 59, 63, 70, 71, 75, 81], Infektionen [76, 83] und unter experimentellen Bedingungen [37, 48, 57] wahrnehmbaren Veränderungen sind in den angeführten Mitteilungen besprochen worden.

Nach Durchsicht obiger Literaturangaben ergibt sich die Möglichkeit zu folgenden Feststellungen:

a) Die Spiegelhöhung der im Serum enthaltenen Glykoproteine

kann im Falle akuter oder chronischer Entzündungen bzw. Tumoren registriert werden, in deren Verlauf die Depolymerisation der Bindegewebssubstanz zustande kommt [12, 17, 32, 34, 38, 48, 70].

Nach den Untersuchungsergebnissen von GLEGG und Mitarbeitern [21] stammen die Kohlenhydratkomponenten der Glykoproteine aus der Bindegewebsgrundsubstanz.

b) Nach Ansicht anderer Autoren beruht die Spiegelhöhung der Glykoproteine auf Proliferationsprozessen [10, 60].

DAGNALL [14] meint, die quantitative Vermehrung der alpha-2-Glykoproteine sei auf Gewichtszunahme, die der alpha-1-Glykoproteine dagegen auf kontinuierliche Abbauprozesse zurückzuführen; durch den Quotienten der beiden Werte sei diese Tendenz auch zahlenmäßig feststellbar.

c) Laut BOAS und Mitarbeitern [7] sei die Vermehrung der Glykoproteine eine Folgeerscheinung von Stresswirkungen.

d) Wie aus Literaturangaben hervorgeht, besteht ein unzweifelhafter Zusammenhang zwischen der Entstehung von Leberkrankheiten und rheumatischen Krankheitsbildern sowie dem Verhalten der Glykoproteine.

e) In der Relation Neugeborenes—Mutter ist die Menge der mütterlichen Glykoproteine wesentlich größer [10, 20]. Diese Erscheinung wird von SÜDHOFF und KELLNER [66] auf die gesteigerte Leistung des mütterlichen Organismus zurückgeführt. Laut BETTELHEIM-JEVONS [4] handelt es

sich in der Gravidität um den gesteigerten transplazentaren Durchtritt von Eiweißsacchariden fötaler Herkunft. TÓTH, KARMAZSIN und KISS [69] stellen fest, daß die mütterliche und fötale Seromukoidregulation einen selbständigen Mechanismus zeigen und keine enge Korrelation zwischen ihnen zu konstatieren sei.

Der Zweck unserer Untersuchungen war das Studium des Verhaltens der Glykoproteine bei Zuständen bzw. Krankheitsbildern im Säuglingsalter, bei denen Körperaufbau und Körperabbau in raschem Nacheinander vor sich gehen. Hierbei ist es jedoch unerläßlich, die Selbstkontroll-Untersuchungsbefunde von eutrophischen Säuglingen zu kennen.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Auf der unter Leitung der Kinderklinik stehenden Neugeborenenabteilung entnahmen wir innerhalb der ersten 48 Stunden, vor Beginn der alimentären Versuche, eine Blutprobe aus der Kopfvene von 30 reifen, gesunden, nach normaler Gravidität und Geburt zur Welt gekommenen Säuglingen. Die Neugeborenen wurden uns im Alter von 2 Wochen bzw. 3 Monaten zwecks Entnahme des Untersuchungsmaterials zugeführt. Wir fanden 16 Säuglinge im Alter von 2 Wochen und 10 Säuglinge im Alter von 3 Monaten zur Durchführung der Kontrolluntersuchungen geeignet.

UNTERSUCHUNGSMETHODEN

Kolorimetrische Bestimmung der Zuckerkomponenten

1. Bestimmung des Gesamtglykoprotein-Hexosegehaltes nach der von STARY [63] ausgearbeiteten Orcin-Methode.

2. Bestimmung des mit der Perchlorsäure - Phosphorwolframsäure - Diffusionspräzipitation gewonnenen Seromukoidhexosegehaltes nach obigem Verfahren.

3. Nachweis der Glykoproteine mit Hilfe der Papierelektrophorese. Nach Erprobung der Methoden von KÖRW und GRÖNWALL [36] sowie SÜDHOFF [65] wendeten wir letzteres Verfahren an: nach Vorbehandlung mit Perjodsäure werden die Papierstreifen mit Parafuchsin gefärbt, getrocknet, eluiert und photometriert.

Untersuchung der Eiweißfraktionen

1. Gesamteiweißbestimmung nach dem Mikro-KJELDAHL-Verfahren.

2. Papierelektrophorese (Barbitalpuffer, pH 8,6, Ionenstärke 0,1 mA, Methylalkohol-Fuchsinfärbung, Eluierung, Ablesung).

3. Quantitative Immunelektrophorese nach BACKHAUSZ [2]. Eiweißfärbung nach GRASSMANN und HANNIG [25], Lipoprotein-färbung nach URIEL und GRABAR [72], Glykoprotein-färbung nach URIEL, GRABAR und WUNDERLY [73]. Haptoglobin wurde mit Benzidin-Eisessiglösung in Anwesenheit von H_2O_2 nachgewiesen, die Coeruloplasminfärbung erfolgte mit p-Phenylendiamin. Die Bogen wurden mit Färbung und laut GRABAR und BURTIN [24] identifiziert.

4. Ultrazentrifugieren.

ERGEBNISSE

In Tabelle I sind die von den 30 reifen, gesunden Neugeborenen gewonnenen Befunde angeführt. Die durchschnittlichen Gesamteiweißmengen sowie die papierelektrophoretischen Ergebnisse stimmten mit den bekannten und anerkannten Durchschnittswerten überein. Beim Vergleich der elektrophoretisch gewon-

nenen Glukoproteinwerte mit den in der Monographie von KELLEN [34] enthaltenen Angaben fanden wir diese für das Neugeborenenalter charakteristisch. Die Glykoproteinhexosemenge betrug 92 mg%, der Seromukoidhexosewert 9,85 mg%.

Tabelle II enthält die von jenen 16 Neugeborenen stammenden Befunde, bei denen die Untersuchungen zweimal (1. nach der Geburt, 2. im Alter von zwei Wochen) vorgenommen worden sind. Wie ersichtlich, erhöht sich im Alter von zwei Wochen

die mittels Glykoprotein-Elektrophorese in der alpha-2-Fraktion nachweisbare Menge der Zuckerkomponenten ebenso wie der Glykoprotein- und Seromukoidhexosewert beträchtlich (119,0 und 12,16 mg%).

In Tabelle III sind die von demselben Säugling im Neugeborenenalter (I), im Alter von zwei Wochen (II) und von drei Monaten (III) gewonnenen Untersuchungsbefunde zusammen gefaßt. Wie ersichtlich, hat sich anläßlich der Glykoprotein-Elektrophorese das prozentuale Verhältnis der

TABELLE I

Zahl der Fälle	Elektrophorese g%					Gesamteiweiß g%	Glykoprotein-Elektrophorese rel. %					Glykoprotein Hexose mg%	Seromukoid
	Alb.	α_1	α_2	β	γ		Alb.	α_1	α_2	β	γ		
30	3,36	0,28	0,65	0,64	0,96	5,89	19,7	14,5	21,1	19,5	25,2	92,0	9,85
	57,4%	4,6%	11,0%	10,7%	16,3%								
Sd±	0,41	0,06	0,10	0,08	0,26	0,61					Sd±	15,56	3,48

TABELLE II

Zahl der Fälle	Elektrophorese g%					Gesamteiweiß g%	Glykoprotein-Elektrophorese rel. %					Glykoprotein Hexose mg%	Seromukoid
	Alb.	α_1	α_2	β	γ		Alb.	α_1	α_2	β	γ		
16	3,23	0,28	0,64	0,61	0,94	5,70	20,3	15,3	18,8	19,8	25,8	92,0	9,26
I.	56,7%	4,9%	11,1%	10,8%	16,5%								
Sd±	0,51	0,05	0,10	0,32	0,82	0,72	0,43	2,58	0,84	1,15	2,63	15,0	3,46
16	3,15	0,34	0,73	0,67	0,86	5,75	18,5	14,9	22,7	19,9	24,0	119,0	12,16
II.	55,0%	5,8%	12,6%	11,7%	14,9%								
Sd±	0,95	0,09	0,06	0,13	0,15	0,37	2,79	3,11	1,85	1,14	4,20	11,8	3,44

$$p < \begin{matrix} t_{15} & 6,772 & t_{15} & 6,666 & 2,933 \\ 0,001 & & 0,001 & & 0,01 \end{matrix}$$

TABELLE III

Zahl der Fälle	Elektrophorese g%					Gesamteiweiß g%	Glykoprotein-Elektrophorese rel. %					Glykoprotein Hexose mg%	Seromukoid
	Alb.	α_1	α_2	β	γ		Alb.	α_1	α_2	β	γ		
10.	3,26	0,28	0,61	0,60	1,00	5,75	20,5	15,2	19,0	20,6	24,7	89,3	8,92
I.	56,8%	4,8%	10,6%	10,4%	17,4%								
Sd±	0,85	0,04	0,11	0,08	0,27	0,20	1,87	1,63	0,75	0,54	3,35	14,6	3,55
10	3,23	0,30	0,71	0,64	0,87	5,76	18,5	13,7	23,1	21,2	23,5	120,3	12,6
II.	56,3%	5,2%	12,3%	11,1%	15,1%								
Sd±	0,22	0,04	0,05	0,07	0,16	0,44	3,0	2,78	1,8	3,39	5,15	6,70	3,47
10.	3,07	0,39	0,78	0,86	0,78	5,88	19,0	14,8	24,7	20,3	21,2	133,0	15,6
III	52,2%	6,6%	13,3%	14,6%	13,3%								
Sd±	0,23	0,09	0,08	0,12	0,18	0,46	4,90	3,90	7,22	3,39	4,06	16,45	3,86

t_{γ}^{I-II} 4,170 t_{γ}^{I-II} 5,382 3,480
 p^{I-II} <0,001 p^{I-II} <0,001 <0,01

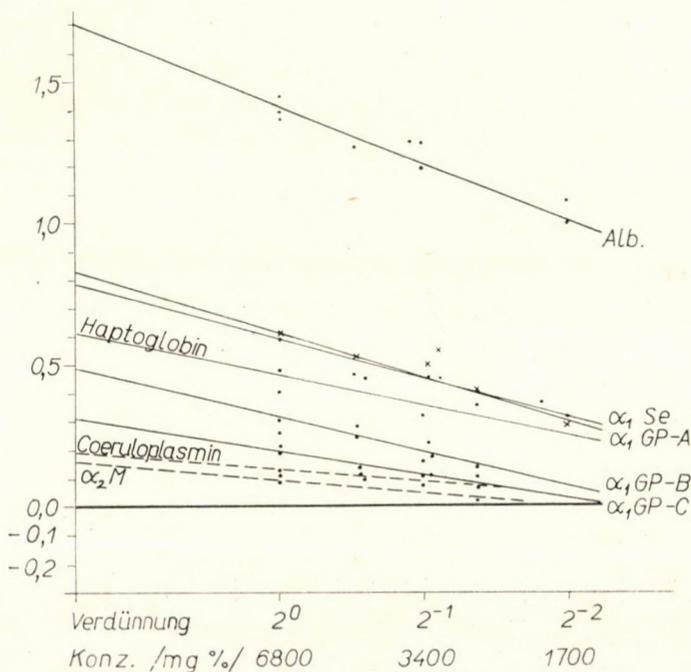


ABB. 1

TABELLE IV

Nr.	Name	α_1 Seromukoid			α_1 GP.-A			α_1 GP.-B			α_1 GP.-C			α_2 GP Haptoglobin			α_2 MGP.		
		I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.
4.	F. J.	-1,0		-2,0	-2,5			-4,0		+	+		+	+		+	+		+
5.	Ö. É.	-5,0	+	-2,0	+	-1,0	-6,0	-4,5	+		+	+	+	+	+	-2,5	+	+	+
8.	V. I.	-1,5	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
9.	R. G.	+	-2,5		+			-3,2	-3,0		+	+	+	+	+		+	+	
10.	N. Gy.	-3,8	+		-7,0	-3,2		-8,0	+		+	+	+	+	+		+	+	
11.	H. É.	-6,0	+		+	-7,0		-5,5	-4,5		+	+	+	+	+		+	+	
12.	Sz. S.	-5,0	+	-2,7	+	-6,0	+	-3,0	-3,5	-2,5	+	+	+	+	-4,2	+	-	+	+
14.	Cs. L.	-3,5	-3,5	-3,0	+	+	-6,0	-3,5	+	-5,0	+	+	+	-2,5	+		+	+	+
15.	Sz. M.	-6,6	+		-3,0	-4,0		-6,5	+		+	+	+	+	+		+	+	
16.	T. T.	-2,5	+	+	+	-3,0	-4,0	-6,0	-2,0	+	+	+	+	+	+	-2,0	+	+	+
19.	G. Zs.	-9,0	-3,2	-1,0	-4,0	-8,0	+	-4,0	-3,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21.	K. S.	-?	-1,9	-3,0	+	-6,5	-2,0	-4,4	-4,0	-2,0	-	+	+	+	+	+	+	+	+
22.	P. É.	-7,0		+	+		-0,5	+		+	+		+	+	+	+	+	+	+
25.	B. I.	-2,5		+	+			-2,0		-2,0	+		-2,0	+	+	+	+	+	+
29.	D. T.	-5,0	-2,0		-2,0	+		-4,5	+		+	+	-2,0	+	+	+	+	+	+
30.	K. Zs.	+	+		+	+		-5,5	-2,0		+	+	+	+	+	+	+	+	+

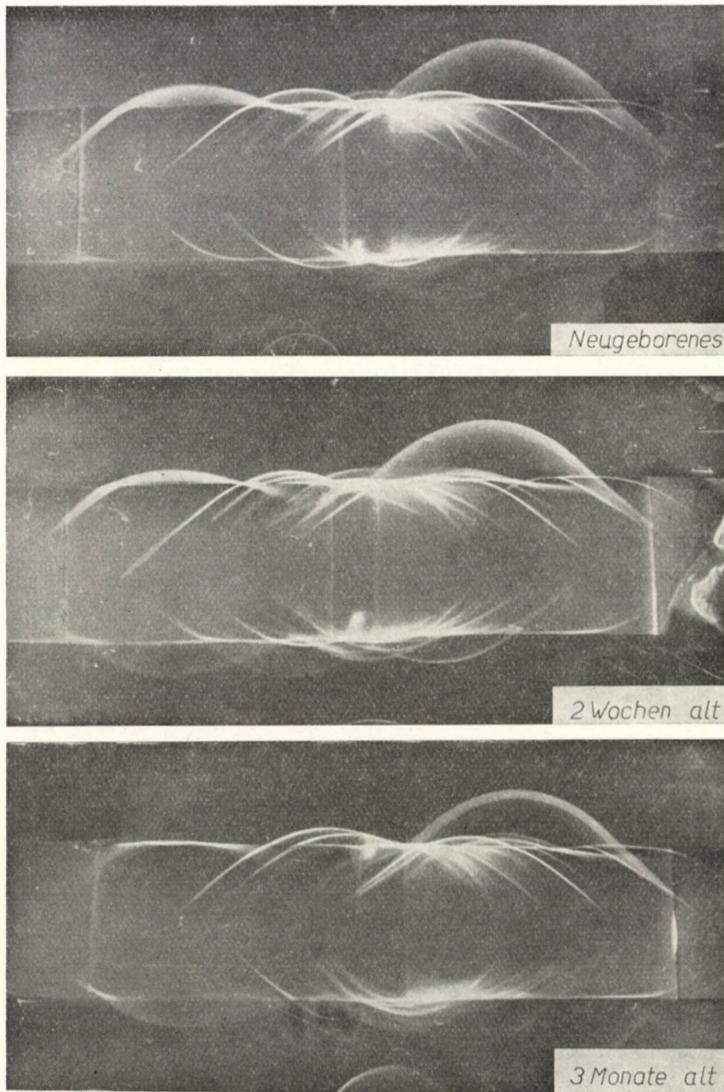


ABB. 2

Kohlenhydratkomponenten in der alpha-2-Fraktion weiter erhöht. Ähnlicherweise zeigen die Glykoprotein- und Seromukoidhexosemenge steigende Tendenz (130 und 15,6 mg%).

Tabelle IV demonstriert die bei der Immunelektrophorese erzielten

Resultate. Die Auswertung wurde folgendermaßen vorgenommen: Die Methode ist insofern quantitativ, als der Abstand der Präzipitationsbogen von der Berührungsstelle sowie die Länge der Bogen im Verhältnis zur Konzentration stehen. Wenn wir dem-

nach eine Kalibrationskurve von den verschiedenen Verdünnungen des normalen Erwachsenenserums herstellen (Abb. 1) und an dieser die Ausmaße der Präzipitationsbogen der zu untersuchenden Sera mit den Befunden des Kontrollserums vergleichen, so läßt sich die Konzentration errechnen.

Die in Tabelle IV angegebenen Zahlen bedeuten die Abweichung der Kurve des untersuchten Serums von den entsprechenden Punkten der Kalibrationskurve in cm, die zur Konzentration im Verhältnis steht und mit Hilfe des Log 2 auch auf g% umgerechnet werden kann. Das Zeichen

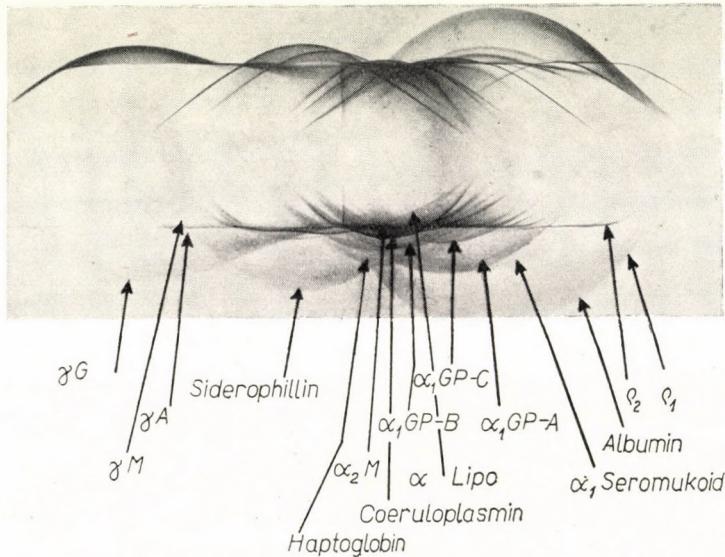


ABB. 3

+ bedeutet die Konzentration des als Kontrolle benutzten Serums. Die Zahlen mit positivem bzw. negativem Vorzeichen zeigen Größe und Richtung der Abweichung der einzelnen Fraktionen von den normalen Erwachsenenkontrollwerten an.

Auf Grund unserer immunoelektrophoretischen Untersuchungen läßt sich folgendes feststellen: Der alpha-1 C-alpha-2 M- und Haptoglobinwert ist schon bei der Geburt dem Kontrollwert quantitativ gleichwertig. Der alpha-1 B-Wert erscheint bei der

Geburt verringert und zeigt im Verlauf des ersten Trimenons eine langsame Erhöhung. Der alpha-1 A-Wert ist nicht beständig. Der Wert der Serummukoidfraktion ist bei der Geburt sehr niedrig und kommt auch im Alter von drei Monaten dem Kontrollwert nur nahe.

Abb. 3 veranschaulicht die Entwicklung des von einem Säugling stammenden immunoelektrophoretischen Bildes von der Geburt bis zum Alter von drei Monaten, dessen Analyse die schematische Abb. 2 erleichtert.

BESPRECHUNG

Wie unsere Untersuchungen ergaben, tritt in den normalen papier-elektrophoretischen Werten eine beträchtliche Vermehrung der alpha-1- und alpha-2-Globulinmenge und eine Senkung des gamma-Globulinwertes im Verlauf des ersten Trimenons ein. Die Glykoprotein- und Seromukoidhexosewerte zeigen gleichfalls ungefähr im Alter von zwei Wochen eine signifikante Erhöhung und vermehren sich in langsamem Tempo weiter bis zum Ende des 3. Monats.

Die Brauchbarkeit der Glykoprotein-Papier-elektrophorese ist umstritten. Einzelne Autoren [29] halten sie bei präziser Durchführung für anwendbar, andere meinen, sie gebe kein reales Bild vom Verhalten der Glykoproteine. Nach unseren Beobachtungen liefert sie bei derartigen Untersuchungen — naturgemäß in Kombination mit anderen Methoden — wertvolle Aufklärung. Beispielsweise konnte eindeutig ermittelt werden, daß sich die Menge der in der alpha-2-Fraktion nachgewiesenen Zuckerkomponenten allmählich und beträchtlich zugleich mit der Entwicklung des Säuglings erhöhte.

Im Verlauf der immunoelektrophoretischen Untersuchungen war der Seromukoidspiegel bei der Geburt sehr niedrig und erhöhte sich später langsam. Die alpha-1-Fractionen sind (C ausgenommen) im allgemeinen bei der Geburt von geringer Menge und wachsen ziemlich langsam an. Die alpha-2-Komponenten sind schon bei der Geburt in der für Erwachsene be-

zeichnenden Menge anzutreffen, was mit dem Ergebnis unserer Ultrazentrifugenuntersuchungen übereinstimmt [13.]. Naturgemäß muß auch die Tatsache berücksichtigt werden, daß bei den Immundiffusionsuntersuchungen neben den quantitativen Verhältnissen noch mit den Wirkungen anderer immunchemischer Faktoren zu rechnen ist.

Nach alledem läßt sich nicht sagen, daß die Menge der Glykoproteine in der fötalen Periode im Verhältnis zu den erwachsenen Kontrollpersonen niedrig ist; dies ist nur bei Anwendung chemischer Untersuchungsmethoden zu beobachten. Die Glykoproteinhexosemenge ist im Neugeborenenalter in der Tat niedrig, steigt aber rasch an und erreicht am Ende des 3. Monats das Erwachsenenenniveau. Diese Erscheinung läßt sich wahrscheinlich auf die veränderte Leberfunktion und auf die im Albumin-Globulin-Verhältnis eingetretene Verschiebung zurückführen.

Die Rolle und Bedeutung der Glykoproteine werden wir erst beim Gebrauch von monovalenten Immunsere zu erkennen imstande sein. Unsere diesbezüglichen Untersuchungen sind im Gange.

ZUSAMMENFASSUNG

In Selbstkontrollversuchen wurde das quantitative Verhalten der Serumglykoproteine im ersten Trimenon mit Hilfe von chemischen Verfahren, der Glykoprotein-Papier-elektrophorese, Immunelektrophorese und Ultrazentrifugierung untersucht. Die

Gestaltung und Veränderungen der einzelnen Fraktionen werden eingehend analysiert und die Ergebnisse mit den Literaturangaben verglichen.

Es wird darauf hingewiesen, daß es nötig sei, die mit den verschiedenen Methoden gewonnenen Werte jeweils gesondert zu analysieren.

LITERATUR

1. AFONSO, E.: Quantitative immunoelectrophoresis of serum proteins. *Clin. chim. Acta* **10**, 114–122 (1964).
2. BACKHAUSZ, R., VERES G., VETŐ, L.: Recherches immunologiques sur des gamma-globulines examens des antigènes et des anticorps à l'aide des méthodes d'immunoélectrophorèse et d'hémagglutination. *Comptes-Rendus du Symposium International d'Immunologie*, Opatija 1959, S. 415–430.
3. BACKHAUSZ, R.: Dissertation, Budapest 1959.
4. BETTELHEIM-JEVONS, F. R.: Protein-carbohydrate complexes. *Advanc. Protein Chem.* **13**, 36 (1958).
5. BERGERSTRAND, C. G., CZAR, B.: Protein-bound carbohydrate in human fetal serum. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **10**, 379 (1958).
6. BJÖRNESJÖ, K. B.: Staining of protein-bound serum polysaccharide in electrophoresis strips. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **7**, 153 (1955).
7. BOAS, N. F., BOLLET, A. J., BURMIN, J. J.: Effect of acute clinical stress on the levels of hexosamine in serum and its excretion in urine. *J. clin. Invest.* **34**, 782 (1955).
8. BONO, G., CROSATO, M.: Ricerche in campo pediatrico sul comportamento del sieromucoside acido alfa (orosomucoside WINZLER), II. Modificazioni in corso di malattia reumatica. *Minerva pediat.* **16**, 77 (1964).
9. BÖTTIGER, L. E., CARLSON, L. A.: Serum glycoprotein concentration in normal men. *Clin. chim. Acta* **5**, 644 (1960).
10. BÖTTIGER, L. E., STERKY, G.: Serum protein and glycoprotein concentrations in newborns and infants. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **14**, 39 (1962).
11. BUDVÁRI, R.: A szérumszervizsájék örök-lódő csoporttulajdonságainak jelentő-sége. — *Orv. Hetil.* **106**, 1729 (1965).
12. CATCHPOLE, H. R.: Serum and tissue glycoproteins in mice bearing transplantable tumors. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **75**, 221 (1950).
13. CSORBA, S., SZABOLCS, M., KARMAZSIN, L.: Vergleichende Ultrazentrifugenuntersuchung des Serum-Makroglobulin-spiegels bei gesunden reifen Neugeborenen. *Acta paediat. Acad. Sci. hung.* **7**, (1966).
14. DAGNALL, P.: Prognosis, degeneration and growth related to serum alpha mucoproteins. *Clin. chim. Acta* **2**, 381 (1957).
15. DITTMER, A.: Papierelektrophorese. Fischer, Jena 1961.
16. EMMRICH, R., URBASZEK, W.: Untersuchungen über die Elektrophorese der Seromucoside. *Z. ges. inn. Med.* **18**, 562 (1963).
17. ENGELSON, G., LINDBERG, T.: Protein-bound hexoses, glucosamine and other "acute phase reactions" in rheumatic fever. *Acta rheum. scand.* **6**, 267 (1960).
18. FANTUZZI, B., LAMBERTINI, G.: Sul comportamento della mucoprotidemia nell'infanzia in condizioni normali e patologiche. *Minerva pediat.* **10**, 1267 (1958).
19. FANTUZZI, B., ROSTI, S.: Comportamento delle mucoproteine seriche nella madre e nel neonato normale. *Minerva pediat.* **10**, 1040 (1958).
20. FARINA, L., GALETTI, F., GIUMGI, F., LOLI-PICCOLOMINI, M.: Glycoproteine seriche in ostetricia e gynecologia. *Riv. ital. Ginec.* **37**, 25 und 473 (1954).
21. GLEGG, R. E., EIDINGER, D., LEBLOND, C. P.: Presence of carbohydrates distinct from acid mucopolysaccharides in connective tissue. *Science* **120**, 839 (1954).
22. GLÓS, I., MIHÁLY, S., SZONTAGH, F.: A foetalis serum glykoproteidjei normalis és toxemiai terhességben. — *Orv. Hetil.* **102**, 1216 (1961).
23. GRABAR, P., WILLIAMS, C. A.: Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **17**, 67 (1955).
24. GRABAR, P., BURTIN, P.: Immunelectrophoretic analysis. Elsevier, Amsterdam 1964.
25. GRASSMANN, W., HANNIG, K.: Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. *Z. physiol. Chem.* **290**, 1 (1952).

26. HITZIG, W. H.: Die physiologische Entwicklung der »Immunglobuline« (gamma- und beta-2 Globuline). *Helv. paediat. Acta* **12**, 596 (1957).
27. HITZIG, W. H.: Praktische und theoretische Ergebnisse neuer Blutweißuntersuchungen. *Schweiz. med. Wschr.* **90**, 1449 (1960).
28. HITZIG, W. H.: Das Bluteiweißbild beim gesunden Säugling. *Helv. paediat. Acta* **16**, 46 (1962).
29. HITZIG, W. H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Springer, Berlin 1963.
30. H. OLÁH, É., OROSZ, Á., B. LÁSZLÓ, M.: Hexosamin meghatározások egészséges csecsemők és gyermekek serumában. — *Gyermekgyógy.* **12**, 55 (1961).
31. JÁKAB, L.: Serum-Mukopolysaccharid-Untersuchungen bei verschiedenen Erkrankungen. — *Z. ges. inn. Med.* **18**, 994 (1963).
32. KÁLDOR, I., MASSZI, J.: Szérum-glycoproteinek kémiai és immunelektroforitikus vizsgálata. — *Orv. Hetil.* **106**, 220 (1965).
33. KARMAZSIN, L.: Dissertation, Budapest 1962.
34. KELLEN, J.: Die Eiweißzucker. — Thieme, Leipzig 1960.
35. KOLTAY, M., SZABADOS, T.: Az immun-elektroforézisről. — *Orv. Hetil.* **101**, 1297 (1960).
36. KÖIW, E., GRÖNWALL, A.: Staining of protein-bound carbohydrates after electrophoresis of serum on filter paper. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **4**, 244 (1952).
37. KROMPECHER, ST.: Hypoxybiose und Mucopolysaccharid-Bildung in der Differenzierung und Pathologie der Gewebe sowie über den Zusammenhang zwischen Schilddrüsenfunktion und Mucopolysacchariden. *Nova Acta Leopold.* N. F. **22**, 146 (1960).
38. KÜHN, A.: Elektrophoretische und quantitative Untersuchungen über das Verhalten der serum-eiweißgebundenen Kohlenhydrate bei Hämoblastosen. *Z. ges. inn. Med.* **18**, 244 (1963).
39. LAURELL, C. B., SKOOG, N.: Quantitative determination of glucoprotein pattern of normal serum after electrophoretic separation on filter paper. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **8**, 21 (1956).
40. MARTIN DU PAN, E., SCHEIDEGGER, J. J., GRABAR, P., WILLIAMS, C. A.: L'analyse immuno-électrophorétique de sérum sanguin. *Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss.* **10**, 193 (1954).
41. MARTIN DU PAN, E., SCHEIDEGGER, J. J.: Aperçu des renseignements fournis par l'immuno-électrophorèse. *Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss.* **13**, 526 (1957).
42. MENINI, E., FALHOLDT, W., LOUS P.: Seromucoid and proteinbound hexoses in serum. Method for their routine determination in the clinical laboratory. *Acta med. scand.* **160**, 315 (1958).
43. MURALT, G. v., GUGLER, E.: Die Reifung der Immunglobuline. *Helv. med. Acta* **26**, 410 (1959).
44. OBERMANN, J. W., GREGORY, K. O., BURKE, F. G., ROSS, S., RICE, E. C.: Electrophoretic analysis of serum proteins in infants and children. *New Engl. J. Med.* **255**, 743 (1956).
45. ODENTHAL, H.: Entzündung und Bluteiweißkörper. Thieme, Stuttgart 1958.
46. OPITZ, W., PIEPER, J.: Hexose-Bestimmung nach der Orcin-Methode. Rechnerische Ermittlung der Gesamthexosemenge. *Clin. chim. Acta* **10**, 181 (1964).
47. PETTERMANN, M. L., HOGNESS, K. R.: Electrophoretic studies on the plasma proteins of patients with neoplastic disease. II. An acid protein present in the plasma. *Cancer* **1**, 104 (1948).
48. PIRANI, C. L., CATCHPOLE, H. R.: Serum glycoproteins in experimental scurvy. *Arch. Path.* **51**, 597 (1951).
49. RICH, C., DIFERRANTE, N., ARCHIBALD, R. M.: Acid mucopolysaccharide excretion in the urine of children. *J. Lab. clin. Med.* **50**, 686 (1957).
50. SCHEIDEGGER, I. J.: Unemicro-méthode de l'immunoélectrophorèse. *Int. Arch. Allergy* **7**, 103 (1955).
51. SCHEIDEGGER, I. J., MARTIN DU PAN, E., RIOTTON, G.: L'apparition des diverses composantes antigéniques du sérum au cours du développement fétal. *Schweiz. med. Wschr.* **86**, 224 (1956).
52. SIEBERT, F. B., SIEBERT, M. V., ALNO, A. J., CAMPBELL, H. W.: Variation in protein and polysaccharide content of sera in the chronic diseases tuberculosis, sarcoidosis and carcinoma. *J. clin. Invest.* **26**, 90 (1947).
53. SHETLAR, M. R., FOSTER, J. V., EVERETT, M. R.: Determination of serum polysaccharide by the tryptophan reaction (hexose). *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **67**, 125 (1948).
54. SHETLAR, M. R., FOSTER, J. V., KELLY, K. H., EVERETT, M. R.: Serum polysaccharide level in the normal state. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **69**, 507 (1948).
55. SHETLAR, M. R., KELLY, K. H., FOSTER, J. V., SHETLAR, C. C., EVERETT, M. R.: Serum polysaccharide levels in pregnancy parturition and post partum state. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **59**, 1140 (1950).
56. SHETLAR, M. R., WILLIAMS, H., KNOBLOCH, Jr., VIRGINIA-RICHMOND, C.,

- SHETLAR, C. L., EVERETT M. R.: Effect of fever on serum polysaccharide level. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), **83**, 75—77 (1953).
57. SHETLAR, M. R., CLARA L., PAYNE, R. W.: Serum polysaccharide changes in the rat following hypophisectomy and the administration of pituitary growth hormone. Endocrinology **56**, 167 (1955).
58. SHETLAR, M. R., CHAILL, C., STIDWORTHY, G., SHETLAR, C. L.: Comparison of continuous and strip paper electrophoresis techniques for study of serum glycoproteins. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **93**, 44 (1956).
59. SETLAR, M. R., PAYNE, R. W.: Objective evaluation of patients with rheumatic diseases. IV. Comparison of the diphenylamine reaction (DPA) with serum glycoprotein and seromucoid levels. J. Lab. clin. Med. **51**, 588 (1958).
60. SHETLAR, M. R.: Serum glucoproteins their origin and significance. Ann. N. Y. Acad. Sci. **94**, 44 (1961).
61. SPIRO, R. G.: Studies of fetuin, aglycoprotein of fetal serum. J. biol. Chem. **235**, 2860 (1960).
62. STARY, Z.: Mucosaccharides and glucoproteins. Ergebn. Physiol. **50**, 174 (1959).
63. STARY, Z., BODUR, H., BATYOK, F.: Die Blutsenkungsgeschwindigkeit als Funktion des Glukoproteingehaltes im Blutplasma. Schweiz. med. Wschr. **81**, 1273 (1951).
64. STERKY, G., BÖTTIGER, L. E.: Serum proteins and glycoproteins in diabetic schoolchildren. Acta med. scand. **172**, 343 (1962).
65. SÜDHOF, H.: Ein Beitrag zur Bestimmung des Kohlenhydratanteils innerhalb der einzelnen Serumeiweißfraktionen. Klin. Wschr. **36**, 536—538 (1958).
66. SÜDHOF, H., KELLNER, H.: Physiologie und klinische Bedeutung kohlenhydrathaltiger Körperstoffe. Karger, Basel 1957.
67. ŠVEJCAR, J.: Estimation of mucopolysaccharide hexosamine in serum of children. Helv. paediat. Acta **18**, 518 (1963).
68. SZABÓ—SOMOGYI, J.: Wechselwirkung von Leukozyten und Serumproteinen im Hinblick auf die Infektabwehr. Helv. paediat. Acta **17**, 207 (1962).
69. TÓTH, M., KARMAZSIN, L., KISS, E.: Untersuchungen über die Seromucoider Neugeborenen. Ann. paediat. (Basel) **198**, 435—443 (1962).
70. URBASZEK, W., EMMRICH, R.: Die elektrophoretische Trennung der Serum-Mucoider bei rheumatischen Erkrankungen. Z. ges. inn. Med. **18**, 721 (1963).
71. URBASZEK, W.: Untersuchungen der Serumglykoproteine bei Angiosclerosen, Hypertonien und Nierenerkrankungen. Z. ges. inn. Med. **19**, 33 (1964).
72. URIEL, J., GRABAR, P.: Étude des lipoprotéines sériques par l'électrophorèse en gélose et l'analyse immunoelectrophorétique. Bull. Soc. Chim. Biol. **38**, 1253 (1956).
73. URIEL, J., GRABAR, P., WUNDERLY, CH.: Étude d'un sérum de macroglobulinémie par l'électrophorèse en gélose et sur papier et par ultracentrifugation. Clin. chim. Acta **2**, 35 (1957).
74. VIVELL, O., SICK, T.: Immunelectrophoretische Untersuchungen über die Entwicklung der Serumproteine beim Menschen. Z. Kinderheilk. **84**, 349 (1960).
75. WEST, C. D., HONG, R.: The glycoproteins of serum. J. Pediat. **60**, 430 (1962).
76. WIEDERMANN, D., WIEDERMANNOVA, D., KADLČÁKOVÁ, E.: Über das Proteinogramm des Serumhaptoglobingehaltes sowie die Gesamt- und Mucoprotein-Hexosen bei der akuten Ruhr im Kindesalter. Z. ges. inn. Med. **19**, 170 (1964).
77. WILLIAMS, C. A., GRABAR, P.: Immunelectrophoretic studies in serum proteins I. The antigen of human serum. J. Immunol. **74**, 158 (1955).
78. WINZLER, R. I., SMITH, I. M.: Studies on the mucoproteins of human plasma. J. clin. Invest. **27**, 609 (1948).
79. WINZLER, R. I.: Determination of serum glycoproteins, in: Methods of biochemical analysis, Ed. D. Glick. New York 1955, Vol. 2, Pp. 279—311.
80. WINZLER, R. I.: Ciba Foundation Symposium on the Chemistry and Biology of Mucopolysaccharides. Churchill, London 1958.
81. WUNDERLY, CH.: Immunelectrophorese. Dtsch. med. Wschr. **83**, 407 (1958).
82. ZACH, J., ZIMMERMANN, K. L., MÜLLER, E.: Zur Reaktionsgeschwindigkeit und Regulation der Seromucoider. Klin. Wschr. **38**, 719 (1960).
83. ZITRIN, C. M., LINCOLN, E. M., CARRETERO, R., MELLY, E.: Serum proteins in childhood tuberculosis. Amer. J. Dis. Child. **98**, 330 (1959).

Dr. L. KARMAZSIN Gyermekklinika, Debrecen, Ungarn