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

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 21 (1965)

Artikel: Lysophosphatide und Komplementlyse

Autor: Fischer, H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307626

Nutzungsbedingungen

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

Conditions d'utilisation

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

Terms of use

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

Download PDF: 17.07.2025

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

D. K.: 612.014.1 : 576.809.7 : 612.111.45

Aus dem Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg i. Br.

Lysophosphatide und Komplementlyse

Von H. Fischer

Herr Präsident, meine Damen und Herren,

Zugleich im Namen meiner Mitarbeiter, Fräulein Dr. *Haupt* und der Herren *Munder*, *Ferber* und *Götze* möchte ich mich sehr herzlich bedanken, an der heutigen Tagung und Diskussion teilnehmen zu können.

Unter den Mechanismen, die in vitro und in vivo Zellen und Gewebe zerstören, nimmt Serumkomplement (C′) eine besondere Rolle ein. Herr *Isliker* hat uns über die großen Fortschritte der C′-Forschung berichtet. Einige der zahlreichen C′-Komponenten konnten in den letzten Jahren isoliert und die Reihenfolge ihres Zusammenwirkens festgelegt werden. Man beginnt zu erkennen, wie ein Reaktionspartner den Weg für den nächsten bahnt und wie die Kette bei ungünstigen Bedingungen auch einmal abreißen kann. Nach wie vor weiß man jedoch noch nicht, wie der letzte Schritt der C′-Reaktion aussieht: jener entscheidende Schritt, der die «persensibilisierte» Zelle irreversibel schädigt. Die elektronenoptischen Aufnahmen von *Dourmashkin*, *Borsos* und *Humphrey* [1] zeigen kraterförmige Defektstellen in der Erythrocytenmembran, welche die Kontinuität der Proteinhülle und der darunterliegenden Phospholipid-*sperrschicht* durchbrechen.

Das Problem, das uns seit Jahren beschäftigt, ist: *Wie bewirkt aktiviertes C′ die fokussierte Durchlöcherung der Zellmembran?*

Alle unsere diesbezüglichen Überlegungen und Versuche gehen von der Voraussetzung aus, daß es

a) eines wenn auch sehr kleinen örtlich begrenzten Zusammenbruchs der lipoidalen *Sperrschicht* der Zellmembran bedarf, um den Vorgang der Hämolyse bzw. Cytolyse einzuleiten;

b) unter den natürlicherweise vorkommenden Substanzen, die einen solchen örtlichen Zusammenbruch herbeiführen könnten, keine wirksameren gibt als die Lysoverbindungen der Glycerophosphatide (Monoacylderivate der natürlichen Diacylphosphatide).

Lysophosphatide und besonders deren prominentester Vertreter Lyso-

lecithin (LL) kommen in der normalen Blutflüssigkeit vor; sie sind neuerdings auch in Spuren als Bestandteile biologischer Membranen nachgewiesen worden [2, 3]. Im Serum wie als Spurenelemente der Membranphosphatide wirken sie nicht zellzerstörend; jede örtliche Akkumulation jedoch, sei sie von außen an der Zellgrenzfläche verursacht («exogenes Lysolecithin») oder durch einen Aufstau von endogen entstandenem Lysolecithin bedingt («endogenes Lysolecithin»), muß am Ort der Entstehung eine Störstelle schaffen, die eine Änderung der Grenzflächeneigenschaften hervorruft und unter Umständen den Zelltod bewirkt.

Zur «exogenen» Lysophosphatidvermehrung

Gemeinsam mit *Haupt* haben wir in den letzten Jahren die Bedingungen für die vermehrte Entstehung von Lysolecithin im zellfreien Serum analysiert und mit der C′-Aktivierung in Verbindung gesetzt [4–6]. Wir fanden dabei, daß die Zugabe C′ fixierender Immunaggregate zu C′-haltigem frischem tierischem und menschlichem Serum die Zunahme von LL um das Zwei- bis Dreifache der Ausgangsmenge bewirkt. Werden Aggregate zugesetzt, die kein C′ aktivieren, so bleibt diese Zunahme aus.

Ein instruktives Beispiel hierzu ist die von *Isliker* geschilderte C′-Aktivierung durch aggregiertes humanes γ-Globulin bzw. die Nicht-Aktivierung durch desaggregiertes γ-Globulin. Im ersten Fall wird vermehrt LL gebildet, im zweiten nicht [7].

Die LL-Zunahme trat auch nicht ein, wenn C′-fixierende Komplexe in C′-freies Serum gegeben wurden. Als solches bezeichnen wir die in üblicher Weise hergestellten sogenannten R-Seren [8] und das natürliche Defektserum eines von *Rother* und *Rother* entdeckten C′-freien Kaninchenstammes [9].

Unsere Ergebnisse wurden angezweifelt [10] und konnten von *Phillips* und *Middleton* [11] nicht bestätigt werden. Die letztgenannten Autoren halten die LL-Hypothese der C′-Wirkung schon allein deswegen für unhaltbar, da die im Serum vorhandenen und allenfalls vermehrt gebildeten LL-Mengen viel zu klein seien, um die hämolytische Wirkung von C′ hervorzubringen. Das Argument klingt plausibel, trifft jedoch – wie schon in unserer ersten Arbeit diskutiert – nicht zu. Bei umgrenzter, punktförmiger Entstehung am Orte der C′-Fixation genügen kleinste Mengen «nascierendes» LL, um die Sperrschicht zu durchbrechen.

Tatsächlich sind die während der C′-Aktivierung vermehrt gebildeten LL-Aktivitäten sehr klein.[1] Um sie exakt erfassen zu können, müssen

[1] Bei einigen Versuchen, die nach Abschluß dieser Arbeit durchgeführt wurden, war die Lysolecithinvermehrung in C′-aktiviertem Serum nicht signifikant. Das Schwergewicht unserer weiteren Versuche und Überlegungen gilt daher der Analyse von Stroma und der «endogenen» Lysophosphatidentstehung.

Proben und Kontrollen parallel extrahiert und aufgearbeitet werden. Die Art der Lipidextraktion spielt für die quantitative Ausbeute eine maßgebliche Rolle.

Wir gehen heute so vor, daß Serum mit dem 20fachen Volumen Bloorscher Lösung 10 min heiß und anschließend noch zweimal mit dem 5fachen Volumen bei Zimmertemperatur extrahiert wird. Die vereinten Extrakte werden eingeengt, in Chloroform/Methanol 1:1 aufgenommen und dünnschichtchromatographisch mit Chloroform/Methanol/Wasser 65:40:10 getrennt. Die Lysolecithinfraktion, die nach dem ersten Lauf noch nicht völlig von Begleitsubstanzen getrennt ist, wird meist nochmals chromatographiert und dann eluiert. Die quantitative Bestimmung erfolgt durch den *biologischen Hämolysetest bei 0°* (s. weiter unten), *durch Phosphorbestimmung* und durch einen von *Ferber* ausgearbeiteten *spezifischen enzymatischen Test* [12].

Der enzymatische Test beruht auf der Acylierung von LL durch C^{14}-markierte Ölsäure, eine Reaktion, die durch das Enzym Acyltransferase katalysiert wird. Die Auszählung der Impulse im C^{14}-aktiven Lecithin nach der Inkubation ermöglicht eine genaue Bestimmung des umgesetzten LL, da ebenso viele Moleküle C^{14}-Ölsäure eingebaut werden, wie LL-Moleküle vorhanden waren.

Tabelle 1 gibt das Resultat eines Versuches mit Serum vor und nach C′-Aktivierung. (s. Fußnote S. 469)

Tabelle 1
Lysolecithingehalt nach C′-Aktivierung durch Human-γ-Globulin

	C'_{H50} pro ml	Hämolysetest 4° C o. D. 546 mμ	LL-Phosphor in γ/ml nach Lowry	Enzymatische Bestimmung mit Acyltransferase
Humanserum	160	0,322	1,48	1,48
Humanserum + Human-γ-Globulin (30 min bei 63° C)	0	1,050	2,46	2,42

Tabelle 2 zeigt das Ergebnis der LL-Bestimmung aus dem Stroma C′-gelöster Erythrocyten im Vergleich zu einer Kontrolle.

Tabelle 2
Enzymatische Bestimmung von Lysolecithin in Stroma nach Hämolyse

	LL-Phosphor in γ pro ml Erythrocytensediment Versuch Nr. 1	Versuch Nr. 2
Kontrollstroma:		
EA + H_2O + C'_{EDTA}	0,54	0,36
C′-Stroma:		
EA C′1,4,2,3 + C'_{EDTA} + physiol. NaCl	0,93	0,91

Die mit verschiedenen Methoden erhaltenen Resultate haben uns davon überzeugt, daß eine enge Korrelation zwischen C′-Aktivierung und LL-Vermehrung besteht. Der experimentelle Nachweis, ob diese Vermehrung mit einer der letzten C′-Reaktionsstufen zusammenfällt, steht leider noch aus.

Zusammen mit *Götze* wurden dazu erste Ansätze geschaffen: Ausgehend von den Beobachtungen von *Klein* und *Wellensiek* [13], daß bei der Sephadex-G-200-Gelfiltration von Meerschweinchenserum die Komponenten C′3, 5, 6 und 7 im mittleren Gipfel und die Komponente C′8 und eventuell weitere im dritten Gipfel eluiert werden, haben wir persensibilisierte Zellen der Reaktionsstufe EA C′1,4,2,3,5,6,7 hergestellt. Diese Zellen können mit Material aus dem 3. Elutionsgipfel (C′8) aufgelöst werden. Als Ausgangsmaterial dient uns Schweineserum. Die

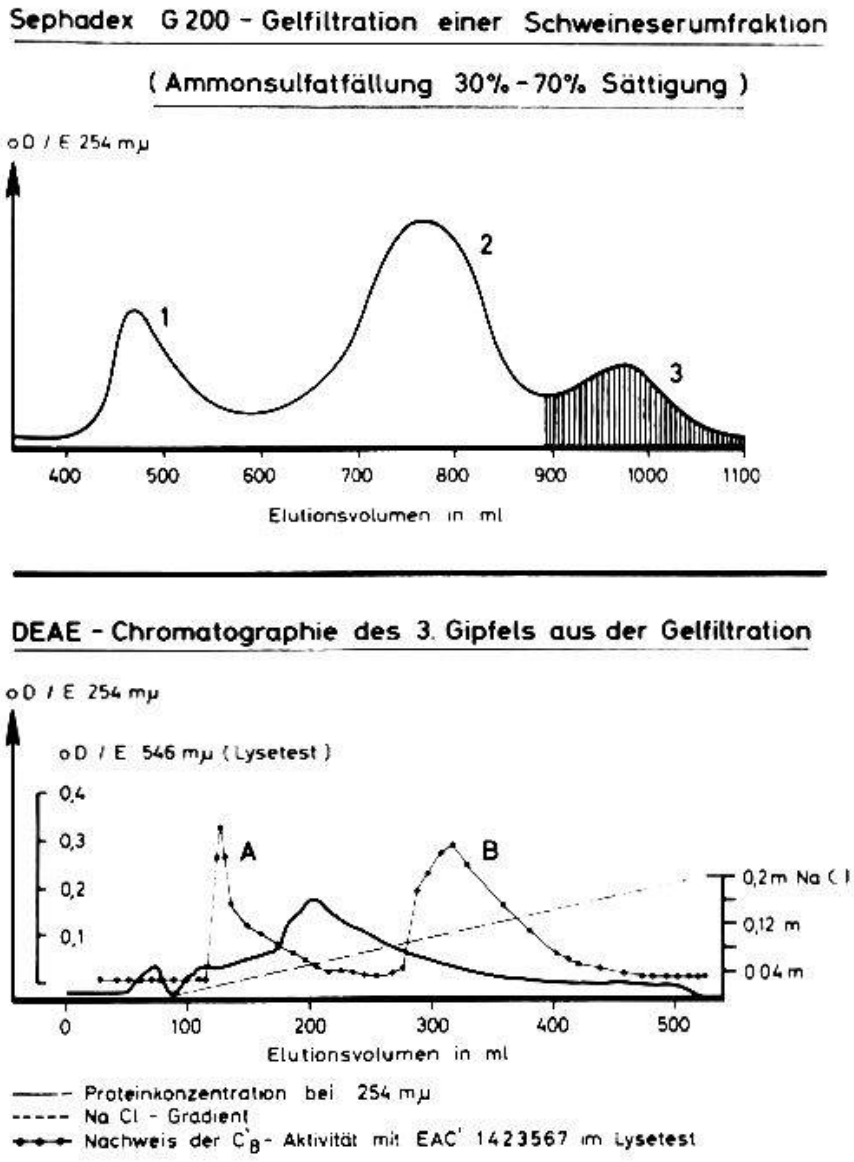

Abb. 1. Erklärung siehe Text.

weitere Fraktionierung der C′8 enthaltenden Proteine erfolgte durch Chromatographie an DEAE-Cellulose. Wie aus dem unteren Diagramm von Abb. 1 hervorgeht, finden wir an zwei verschiedenen Stellen C′8-Aktivitäten, die als A und B bezeichnet wurden. Ob es sich dabei um Kunstprodukte, die bei der Aufarbeitung entstanden sind – Di- oder Polymere des gleichen Stoffes –, oder um funktionsanaloge Substanzen handelt, muß noch geklärt werden.

Das Faszinierende an der Lyse von EA C′1,4,2,3,5,6,7-Zellen durch die Gipfelfraktion A ist, daß bei optimal persensibilisierten Zellen die Lyse nach einer Latenzphase, die nur wenige Sekunden dauert, einsetzt. Für diese Messungen benützen wir eine automatische Schreibung des Hämolysevorganges [14]. Verwendet man in der gleichen Versuchsanordnung EA-Zellen und Vollserum, so ist die Latenzphase auch bei sehr hohem C′-Titer nie kürzer als 1 min. Gegenwärtig haben wir noch nicht genügend C′8-aktives Material, um prüfen zu können, ob es ein Enzym ist, welches Substrat in Frage kommt und was das Reaktionsprodukt ist.

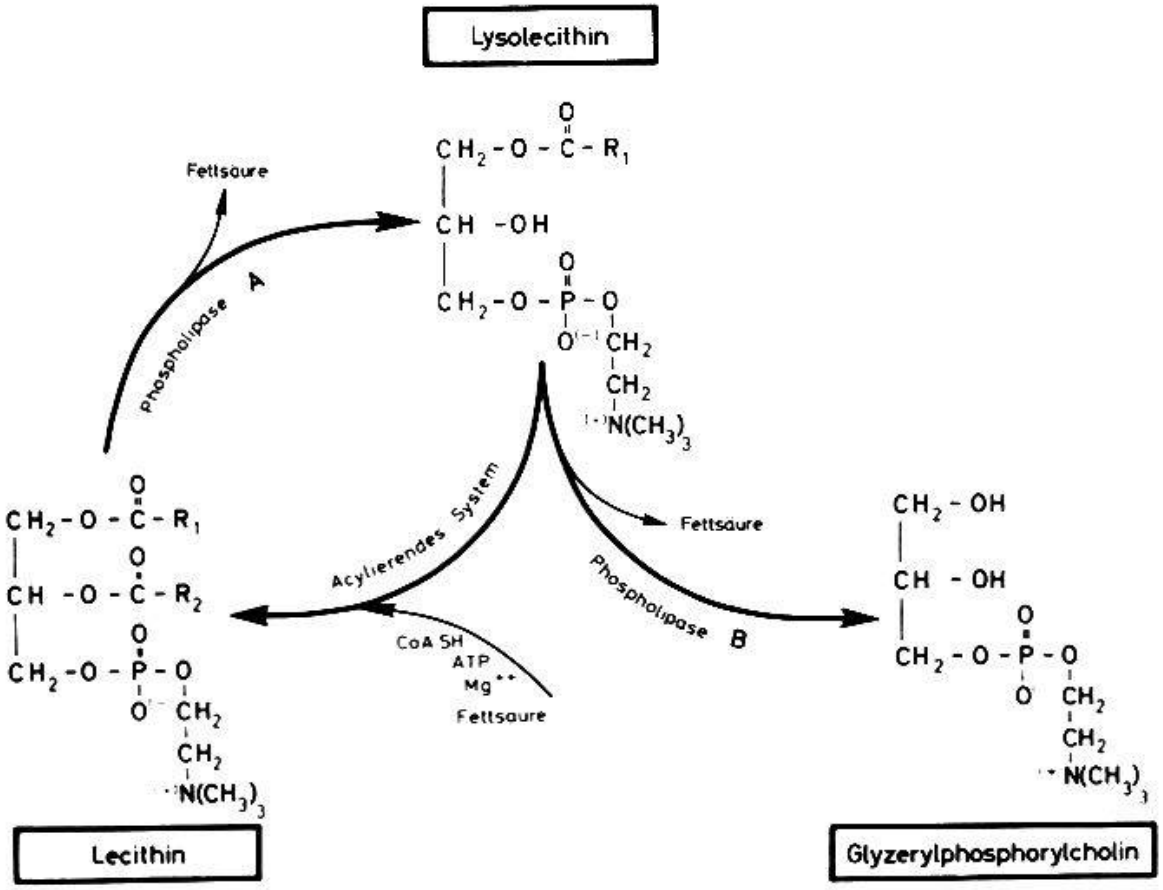

Abb. 2. Modifiziertes Schema nach *Lands*. Erklärung siehe Text.

Seit kurzem weiß man, daß Lysophosphatide metabolisiert werden, und zwar, wie in Abb. 2 schematisch dargestellt, entweder zu Lecithin aufgebaut (Acylierungsreaktion) oder in Glycerophosphorylcholin abgebaut (Phospholipase-B-Reaktion [15, 16]) werden können. Acyltransferase und Phospholipase sind gewissermaßen «safety enzymes», die die Zelle vor der lytischen Wirkung einer gewissen Menge Lysophosphatid zu schützen vermögen.

Die Blockierung oder der Ausfall dieser «safety enzymes» sollte Zellen gegenüber exogenem LL sehr viel empfindlicher machen und sie, auch ohne exogenes LL, dann schädigen, wenn «endogenes Lysophosphatid» angestaut wird. Um diese Vermutung zu prüfen, haben wir [12] die Enzymaktivitäten in verschiedener Weise beeinflußt:

Zunächst durch Variation der Temperatur (Abb. 3).

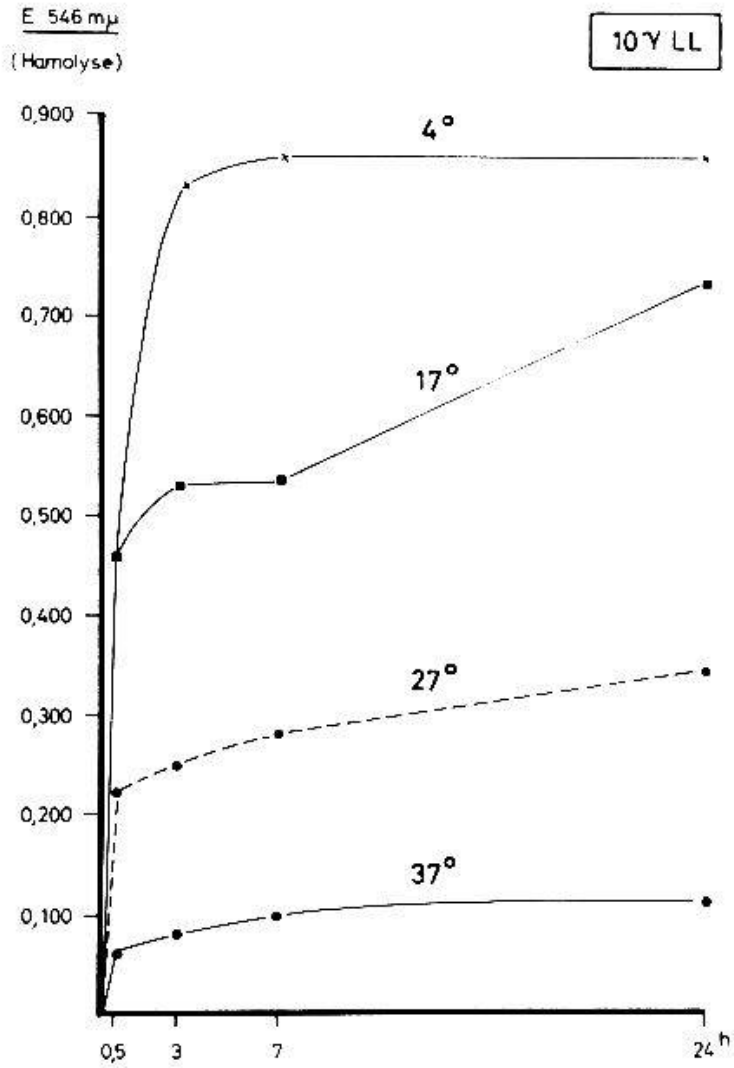

Abb. 3. Belastung von Erythrocyten mit Lysolecithin bei verschiedenen Temperaturen. Erklärung siehe Text.

Dabei zeigte sich, daß eine bestimmte Menge Erythrocyten bei 37° C wesentlich mehr Lysolecithin «tolerieren» als bei 4° C. Wie aus der Abbildung hervorgeht, ist das Ausmaß der Hämolyse in der Kälte etwa 10mal so groß wie in der Wärme.

Eine praktische Konsequenz dieses Versuches ist, daß man kleine LL-Mengen im Lysetest bei 4° C viel empfindlicher nachweisen kann. Zur Bestimmung von C′-Lysolecithin benutzen wir daher den Kältetest (s. oben).

Viel wichtiger ist das Ergebnis im Hinblick auf die klassischen Vorstellungen über die Lysolecithinwirkung. Bisher wurde LL ausschließlich als «powerful lytic agent» betrachtet, jedoch kaum als biologisches Substrat des Membranstoffwechsels in Betracht gezogen.

Mit C^{14}-markiertem LL haben wir geprüft, unter welchen Bedingungen bevorzugt Lecithin aufgebaut und wann ein Abbau zu Glycerophosphorylcholin erfolgt. Ein solcher Versuch mit intakten Erythrocyten ist in Abb. 4 dargestellt. Er zeigt, daß bei ATP-verarmten (längere Zeit ge-

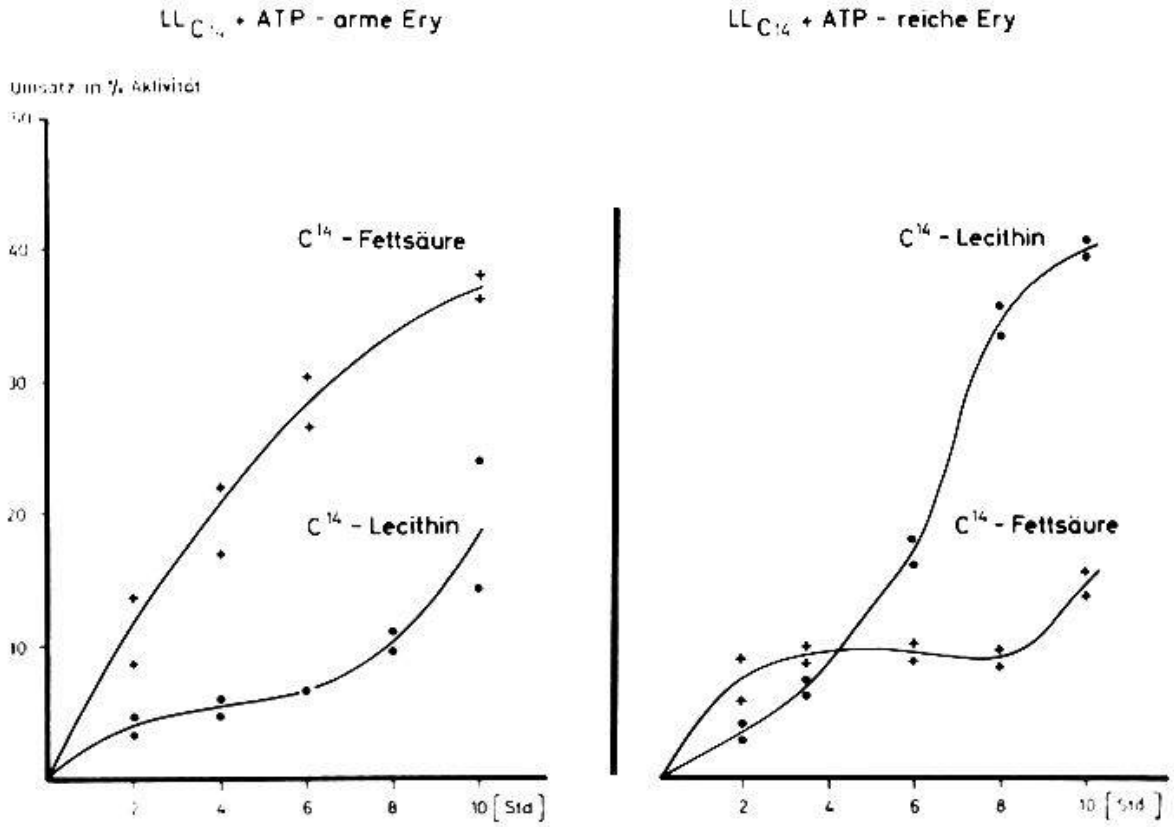

Abb. 4. Vergleich des LL-C^{14}-Metabolismus in ATP-armen und ATP-reichen Erythrocyten. Erklärung siehe Text.

lagerten) Erythrocyten LL abgebaut, bei ATP-reichen dagegen bevorzugt zu Lecithin aufgebaut wird. Es ergibt sich hier die zunächst paradox erscheinende Situation, daß mit Hilfe des Cytolyticums Lysolecithin die

Membran und damit die mechanischen Eigenschaften des Erythrocyten «verbessert» werden können [12].

Der Nachweis, daß die LL-metabolisierenden Enzyme membranständig, d. h. leicht von außen zugänglich sind, konnte unter anderem mit Hilfe von p-Chloromercuribenzoat (PMB) geführt werden. Dieser SH-Inhibitor kann nach *Jakob* und *Jandl* [17] nicht in die Zellen eindringen. PMB hemmt sowohl das Acyltransferasesystem wie auch Phos-

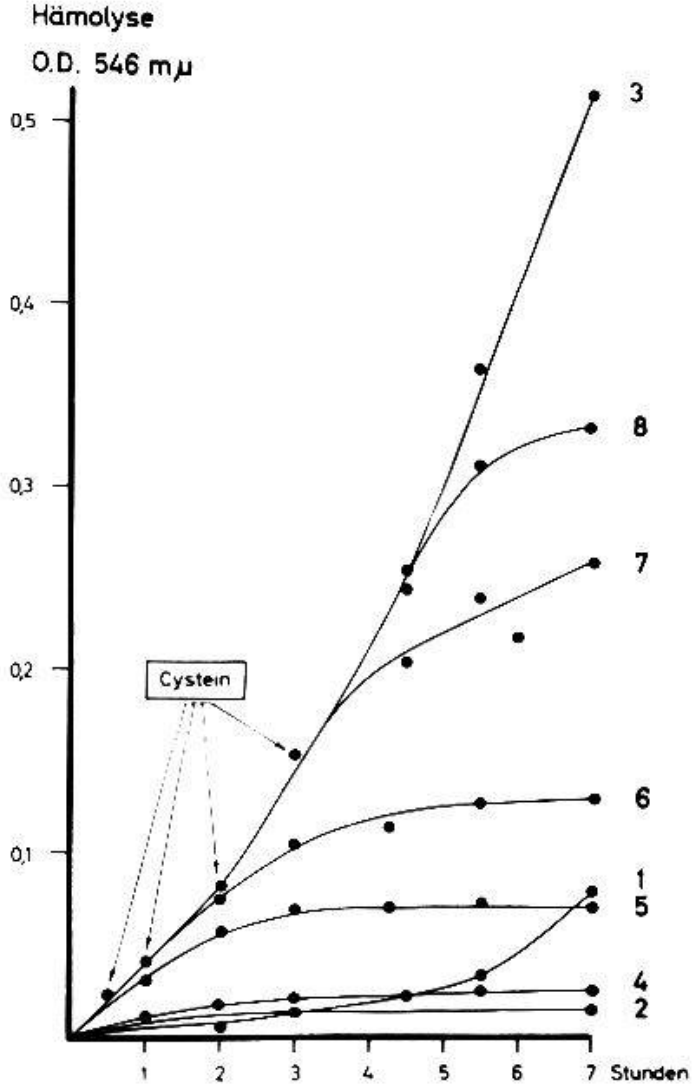

Abb. 5. Hämolyse durch PMB und LL; Reversibilität durch Cystein. Erklärung siehe Text.

Ansatz 1: 2 ml Erythrocytensuspension 0,5% + 5 mM PMB
Ansatz 2: 2 ml Erythrocytensuspension 0,5% + 10 γ LL
Ansatz 3: 2 ml Erythrocytensuspension 0,5% + 5 mM PMB + 10 γ LL
Ansatz 4: 2 ml Erythrocytensuspension 0,5% + 5 mM PMB + 10 γ LL — 50 mM Cy-SH (sofort)
Ansatz 5: wie 4, jedoch Cy-SH nach 30 min
Ansatz 6: wie 4, jedoch Cy-SH nach 60 min
Ansatz 7: wie 4, jedoch Cy-SH nach 120 min
Ansatz 8: wie 4, jedoch Cy-SH nach 180 min

pholipase B. Mit dem Hemmstoff vergiftete Zellen sind außerordentlich empfindlich gegenüber Lysolecithin. Reaktiviert man die blockierten Enzyme durch Zugabe von Cystein oder anderen SH-Donatoren, so kann man damit auch die verstärkte Lysolecithinempfindlichkeit – je nach Zeitpunkt der Zugabe – völlig beheben oder verbessern. Ein Versuch dieser Art ist in Abb. 5 dargestellt.

Da Acyltransferase und Phospholipase B leicht von außen zugänglich und in ihrer Aktivität beeinflußbar sind, ergab sich zwangsläufig die Fragestellung, ob nicht auch die Belegung der Zelloberfläche mit bestimmten Antikörpern und mit C′-Komponenten zu einer Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber LL führt. Eine meßbare Enzymhemmung ist bei der topochemischen Fixierung der Immunkörper an einen Bruchteil der gesamten Zelloberfläche kaum zu erwarten, wohl aber eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber LL. Tatsächlich erwiesen sich antikörperbesetzte Zellen und besonders auch «persensibilisierte» EA C′1,4,2,3,5,6,7-Zellen als empfindlicher; nach Inkubation (bei 37° C) mit unterschwelligen LL-Mengen ist der Hämolysegrad gegenüber E-Zellen deutlich erhöht (Abb. 6).

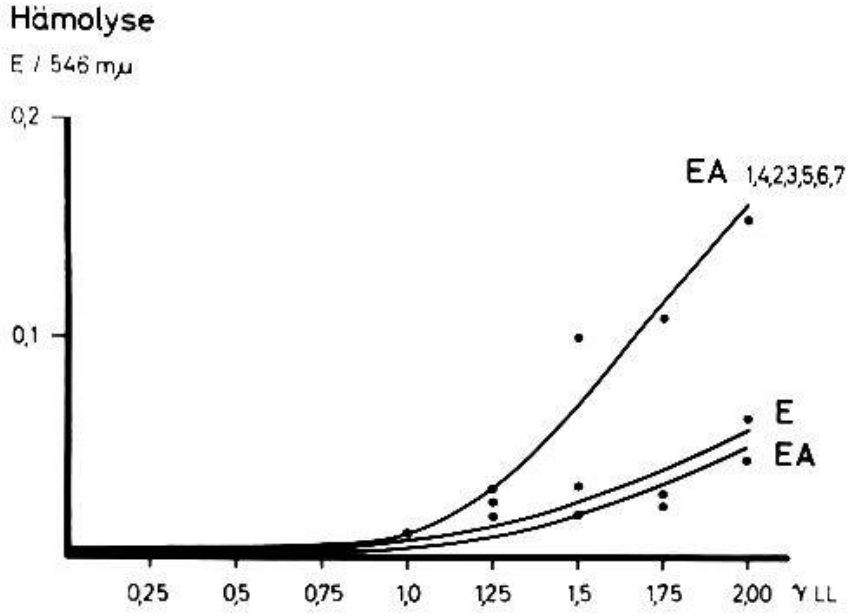

Abb. 6. Empfindlichkeit von E, EA und persensibilisierten Zellen gegenüber LL. Erklärung siehe Text.

Wir haben hier und auch im Falle der PMB-vergifteten Erythrocyten die Situation, daß Zellen mit partiell blockierten Lysophosphatidenzymen beim Zusammentreffen mit sonst nicht-lytischen Mengen Lysolecithin zugrunde gehen.

Sollten diese und ähnliche Experimente nicht dazu stimulieren, nach weiteren Parallelen und Zusammenhängen mit den Zellschädigungen bei Immunreaktionen – mit und ohne C′-Beteiligung – zu suchen?

Es wird noch viel Mühe kosten, dies zu unterbauen. Fest steht jedoch schon heute, daß das Studium der Lysophosphatide und ihrer Dynamik im Serum und in der Zellmembran erste Einblicke vermittelt hat in Mechanismen, die für die Regulierung der Zellpermeabilität von allgemeiner Bedeutung sein dürften.

Zusammenfassung

Die Zellauflösung durch Antikörper und Serumkomplement geht – wie elektronenoptisch gezeigt wurde – mit der Bildung kraterförmiger Membrandefekte einher [1]. Diese Defekte entstehen während des letzten Reaktionsschrittes der C′-Reaktion, dessen Natur noch unbekannt ist. Eigene Versuche zur Reinigung von C′8 werden mitgeteilt. Ferner werden weitere Argumente für die Lysolecithinhypothese der C′-Wirkung beigebracht, die auf methodischen Verbesserungen des LL-Nachweises im Stroma beruhen.

Neue Gesichtspunkte für die Pathogenese von Zellschädigungen werden durch Untersuchungen über die Bedeutung von lysophosphatidmetabolisierenden Membranenzymen (Acyltransferase, Phospholipase B) gegeben. Beide Enzyme schützen Zellen gegenüber der lytischen Aktivität von Lysolecithin. Die Minderung ihrer Aktivität bei Zellalterung, durch Vergiftung und auch Belegung der Zelloberfläche durch Antikörper und Komplementkomponenten führt zur Labilisierung gegenüber der lytischen Wirkung von LL.

Die Ergebnisse stellen die in den dreißiger Jahren von *Bergenhem* und *Fåhraeus* [18] postulierte und neuerdings von *Jeannet* und *Hässig* [19, 20] diskutierte Bedeutung von Lysophosphatiden als Regulatoren der Hämo- und Cytodynamik wieder in den Vordergrund.

Résumé

La destruction de la cellule par les anticorps et complément (C′) sérique se fait par la formation de lésions de la membrane sous forme de cratères, comme l'a montré le microscope électronique [1]. Ces lésions apparaissent au cours de la dernière phase de la C′-réaction, dont l'on ne connaît pas encore la nature. L'auteur décrit quelques expériences personnelles pour obtenir la purification de C′8. Puis, il avance quelques arguments nouveaux pour appuyer la théorie du rôle de la lysolécithine

(LL) dans l'action de C′, qui se basent sur les progrès des méthodes de détermination de la LL dans le stroma cellulaire.

Les recherches sur le rôle des enzymes de la membrane cellulaire (acyltransférase, phospholipase B) ont permis de nouvelles hypothèses sur la pathogénèse des lésions cellulaires. Ces deux enzymes protègent les cellules contre l'action lytique de la lysolécithine. La diminution de leur activité par vieillissement cellulaire, par inhibition ou en chargeant la surface cellulaire par des anticorps et l'action des compléments provoquent un affaiblissement contre l'action lytique de la lysolécithine.

Ces résultats confirment à nouveau la conception de *Bergenhem* et *Fåhraeus*, émise dans les années trente et reprise récemment par *Jeannet* et *Hässig* qui discutent du rôle des lysophosphatides comme régulateurs de l'hémo- et de la cytodynamique.

Riassunto

La decomposizione cellulare mediante anticorpi e complemento del siero provoca sulla membrana – come fu dimostrato al microscopio elettronico – la formazione di difetti a forma di cratere [1]. Questi difetti appaiono durante l'ultima fase della cosidetta «reazione C′», la cui natura ancora non si conosce. Si accenna in seguito ad alcuni tentativi per purificare il «C′8». Inoltre si fanno valere altri argomenti riguardanti l'ipotesi della lisolecitina nell'azione del «C′». Questi si basano sul miglioramento dei metodi per determinare la lisolecitina nello stroma.

In seguito alle ricerche riguardanti l'importanza degli enzimi della membrana atti a metabolizzare i lisofosfati (acetiltransferasi, fosfolipasi B), sorgono nuovi punti di vista sulla patogenesi delle lesioni cellulari. Entrambi gli enzimi proteggono la cellula contro l'attività litica della lisolecitina. La diminuzione della loro attività durante l'invecchiamento della cellula, in seguito ad avvelenamento o anche quando la superficie cellulare viene occupata da anticorpi e componenti del complemento, conduce ad una vulnerabilità di fronte all'azione litica della lisolecitina.

Questi risultati fanno risaltare nuovamente l'importanza dei lisofosfati come regolatori della dinamica del sangue e della cellula, ciò che già fu postulato verso il 1930 da *Bergenhem* e *Fåhraeus* [18] come pure recentemente da *Jeannet* e *Hässig* [19, 20].

Summary

Cell disintegration by antibody and serum complement (C′)—as shown electron-microscopically—proceeds by the formation of crater-like de-

fects in the membrane. These defects arise during the last step of C′-reaction whose nature is yet unknown. Experiments are reported on the purification of the terminal C′-component C′8. Furthermore, new arguments in favour of the lysolecithin (LL) hypothesis of the C′ action are presented which are based mainly on refined and specific methods for the determination of LL in the stroma.

New aspects of cellular damage as induced by antibody and C′ are given by investigations on the role of lysophosphatide-metabolizing membrane enzymes (acyltransferase, phospholipase B). Both enzymes protect the cell against the lytic activity of lysolecithin. The diminution of their activity by ageing, by enzyme inhibitors, or by coating the cell surface with antibodies and complement components, leads to an enhanced sensitivity towards the lytic action of LL.

These results emphasize the possible significance of lysophosphatides as regulators of the hemo- and cytodynamics, as postulated in the early thirties by *Bergenhem* and *Fåhraeus* [18] and recently discussed by *Jeannet* and *Hässig* [19, 20].

1. *Borsos T., Dourmashkin R. R.* und *Humphrey J. H.:* Nature *202*, 251 (1964). – 2. *Ways P.* und *Hanahan D. J.:* J. Lipid. Res. 5, 318 (1964). – 3. *De Gier J.* und *van Deenen L. L. M.:* Biochim. biophys. Acta (Amst.) *49*, 286 (1961). – 4. *Fischer H.* und *Haupt I.:* Z. Naturforsch. *16b*, 321 (1961). – 5. *Fischer H.:* Ann. N.Y. Acad. Sci. *116*, 1063 (1964). – 6. *Fischer H.:* 15. Mosbacher Kolloquium Dtsch. Ges. physiol. Chem. 1964. Springer-Verlag (in Vorbereitung). – 7. *Haupt I.* und *Fischer H.:* Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haematol., Wien 1961, S. 498. Karger, Basel/New York 1962. – 8. *Kabat E. A.* und *Mayer M. M.:* Experimental Immunochemistry. Ch. C. Thomas, Springfield, Ill., 1961. – 9. *Haupt I., Fischer H., Rother U.* und *Rother K.:* Nature (Lond.) *200*, 686 (1963). – 10. Persönl. Mitteilung und Diskussion zu [5]. – 11. *Phillips G. B.* und *Middleton jr. E.:* J. Immunol. *94*, 40 (1965). – 12. *Munder P. G., Ferber E.* und *Fischer H.:* Z. Naturforsch. *20b*, 1048 (1965). – 13. *Klein P.:* 15. Mosbacher Kolloquium Dtsch. Ges. physiol. Chem. 1964. Springer-Verlag (in Vorbereitung); persönl. Mitteilung. – 14. *Siedentopf H. G., Lauenstein K.* und *Fischer H.:* Z. Naturforsch. *20b*, 569 (1965). – 15. *Robertson A. F.* und *Lands W. E. M.:* Lipid. Res. *5*, 88 (1964). – 16. *Mulder E., De Gier J., van Deenen L. L. M.:* Biochim. biophys. Acta (Amst.) *70*, 94 (1963). – 17. *Jakob H. S.* und *Jandl J. H.:* J. clin. Invest. *41*, 779 (1962). – 18. *Bergenhem B.* und *Fåhraeus R.:* Z. ges. exp. Med. *97*, 555 (1936). – 19. *Jeannet M.* und *Hässig A.:* Helv. med. Acta *30*, 756 (1963). – 20. *Jeannet M.* und *Hässig A.:* Vox Sang. (Basel) *9*, 113 (1964).