

Der Glutathionstatus der Rattenleber in Abhängigkeit vom Lebensalter und von akuter Belastung

The Status of Glutathione of the Rat Liver and its Dependence on the Age and Acute Stress

Günther Harisch und Jürgen Schole *

Institut für Physiologische Chemie, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover

(Z. Naturforsch. **29 c**, 261–266 [1974]; eingegangen am 2. Januar 1974)

Glutathione Status, Age Dependence, Stress, Rat Liver

The status of glutathione in the liver of male rats as a function of their age and acute stress was investigated. Total glutathione (TG), which is measured after the reduction of liver homogenate with NaBH_4 , reduced glutathione (GSH) and disulfide glutathione (GSSG) increase with advancing age of the test animals (weights from 15 g to 350 g).

The mixed glutathione disulfides [$\text{XSSG} = \text{TG} - (\text{GSH} + 2 \text{GSSG})$] of all ages amount to $2.0 \mu\text{mol/g}$ liver. Subsequent to the application of a stress with Vaccineurin III i.p. (weight of 120 g), the TG values remain the same over a period of 24 hours; GSH decreases 30 min after the stress has been applied, whereas GSSG and XSSG increase. 60 min after the application of Vaccineurin, all values are within the controlled limits. 24 hours after the stress has been applied, GSH has increased and XSSG has decreased to $0.76 \mu\text{mol/g}$ fresh weight, whereas GSSG remains within the controlled limits. The causes of these changes in the status of glutathione are discussed.

Experimentalarbeiten der letzten Jahre weisen in zunehmendem Maße auf die Bedeutung des Glutathions für die Regulierung des Zellstoffwechsels hin. Insbesondere scheint sich der Glutathionquotient [reduziertes Glutathion (GSH) zu oxydiertem Glutathion (GSSG)] als Maß für die zelluläre Stoffwechsellage zu bewähren, die hier als Verhältnis der Synthese- zur Oxydationsaktivität verstanden wird¹. In diesem Zusammenhang ist von besonderem Interesse, daß der Glutathionquotient nach akuter Belastung absinkt^{2–4}. Bei diesen Versuchen ist allerdings bisher nicht berücksichtigt worden, daß das Glutathion nicht nur als GSH und GSSG, sondern auch als gemischtes Disulfid (XSSG) vorliegen kann^{5–13}. Bei diesem handelt es sich entweder um Verbindungen des Glutathionrestes mit niedermolekularen Thiolen oder aber mit SH-Gruppen der zellulären Proteine. Modig unterzog diesen Glutathionanteil bei Aszites-Tumorzellen einer eingehenden Untersuchung und kam dabei zu dem Schluß, daß hier ein Reservoir vorliegt, aus dem bei bestimmten Stoffwechselsituationen SH-Glutathion freigesetzt werden kann⁹. Über Art und Weise dieser Frei-

setzung herrscht noch keine völlige Klarheit. Es kommt eine enzymatische Spaltung der Disulfide durch Glutathionreduktase (GR)^{5, 7, 10}, durch eine NADPH-abhängige Proteindisulfidreduktase^{11, 14} oder durch eine Transhydrogenase¹¹ in Frage. Für die Reduktion niedermolekularer gemischter Glutathiondisulfide wird auch eine Spontanreaktion mit GSH diskutiert¹⁵. Ein sinnvolles Zusammenspiel mehrerer dieser Möglichkeiten scheint jedoch am ehesten den Erfordernissen des Zellstoffwechsels zu entsprechen.

In der vorliegenden Arbeit wird das Verhalten der drei Glutathionparameter (GSH; GSSG; XSSG) bei fortschreitendem Alter und bei akuten Belastungen an der Ratte überprüft.

Material und Methodik

Es wurden ausschließlich männliche Wistar-Ratten des SPF-Stammes Han/Bö (Zuchtstation Extortal) verwendet (von 15 g bis 350 g Körpergewicht). Die Tiere wurden mit handelsüblichem Versuchstierfutter (Zusammensetzung sh.⁵) und Wasser ohne Mengenbeschränkung versorgt und eine Woche nach der

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. Dr. J. Schole, Institut für Physiologische Chemie, D-3000 Hannover, Bismarckstrasse 15.

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Personal- und Sachbeihilfe.

Abkürzungen: GR, Glutathionreduktase; GSSG, Disulfidglutathion; GSH, SH-Glutathion; NNR, Nebennierenrinde; TG, Gesamtglutathion; XSSG, gemischte Glutathiondisulfide.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Tab. I. Die Wiederfindungsrate von GSH- bzw. GSSG-Zusätzen im Rattenleberhomogenat und das Gesamtglutathion (TG) der Rattenleber nach unterschiedlicher Inkubationszeit mit NaBH₄ (Tiergewichte 145–160 g).

min nach Homogenatbereitung				min nach Homogenatbereitung mit NaBH ₄			1	30	60
	1	30	60	TG [μmol/g Leber]	8,91 ± 0,16	8,78 ± 0,16			
GSH [μmol/g Leber]	6,30 ± 0,21 n 6	6,16 ± 0,16 6	4,94 ± 0,14 6	TG [μmol/g Leber]	8,91 ± 0,16	8,78 ± 0,16	7,37 ± 0,64 6	6	6
GSH-Zusatz [μmol/g Leber]	3,15	3,15	3,15	GSSG-Zusatz [μmol/g Leber]	1,50	1,50	1,50		
GSH + Zusatz [μmol/g Leber]	9,23 ± 0,13	9,08 ± 0,23	7,36 ± 0,13	TG + Zusatz [μmol/g Leber]	11,67 ± 0,19	11,54 ± 0,22	9,92 ± 0,28		
Wiederfindungsrate [%]	93	93	77	Wiederfindungsrate [%] *	92	92	85		
min nach Homogenatbereitung mit NaBH ₄	0 **	1	5	10	20	30	40	60	
TG [μmol/g Leber]	6,30 ± 0,15 n 6	8,72 ± 0,48 20	8,71 ± 0,41 15	8,70 ± 0,45 12	8,59 ± 0,56 16	8,47 ± 0,63 13	7,31 ± 0,56 6	6,98 ± 0,29 12	

* GSSG als 2 GSH.

** Ohne NaBH₄-Zusatz.

Lieferung in den Versuch genommen. Die Narkotisierung und die Art und Weise der Probenahme sowie die Weiterverarbeitung der tiefgefrorenen Leberprobe ist schon beschrieben worden⁵. Alle Versuchsreihen wurden an der bluthaltigen Leber durchgeführt. Die aus diesem Grunde erforderliche Blutkorrektur erfolgte nach den Vorschriften von Hohorst *et al.*¹⁶.

Zur Reduktion der gemischten Glutathiondisulfide bedienten wir uns im wesentlichen des von Modig angegebenen NaBH₄-Verfahrens⁸. Um jedoch die Gewißheit zu erhalten, daß die von diesem Autor an Aszites-Tumorzellen erarbeitete Methode auf die Verhältnisse des Leberhomogenates übertragbar ist, führten wir einige Kontrollreihen durch, deren Ergebnisse aus Tab. I entnommen werden können. Abweichend von Modigs Verfahren fügten wir zu 5 ml Trispuffer (pH 7,4; 0,01 M), die 100 mg NaBH₄ enthielten, 200 mg Leberpulver hinzu und bereiteten dann das Homogenat. Anders als bei Aszites-Tumorzellen genügte im Leberhomogenat bereits eine Inkubationszeit mit Borhydrid von 1 min, um eine quantitative Reduktion der Disulfide zu erzielen (Tab. I). Danach wurde enteiweißt (HClO₄, 0,6 M) und der 3000 × g-Überstand als Probe verwendet.

SH-Glutathion und Disulfidglutathion wurden nach dem von Klotzsch u. Bergmeyer angegebenen Verfahren gemessen¹⁷.

Als Gesamtglutathion (TG) bezeichnen wir den nach Reduktion des Gesamthomogenates mit NaBH₄ erhaltenen Glutathionanteil. In diesem Wert ist auch GSSG enthalten, das durch NaBH₄ mitreduziert wird. Das in der Zelle vorliegende reduzierte Glu-

tathion, das durch sofortige Enteiweißung des Leberpulvers erhalten wird, bezeichnen wir als GSH; Disulfidglutathion (GSSG) wurde ebenfalls nach sofortiger Enteiweißung gemessen. Die gemischten Glutathiondisulfide (XSSG) errechneten wir nach der folgenden Formel: TG – (GSH + 2 GSSG) = XSSG. Bei der von uns gewählten Reduktion des Gesamthomogenates enthalten diese Werte sowohl die an niedermolekulare Thiole als auch die an Protein-SH-Gruppen gebundenen Glutathionanteile.

Für die Belastungsversuche wurde jedem Versuchstier eine Ampulle Vaccineurin III i.p. verabreicht (Südmedica München). Bei diesem Präparat handelt es sich um ein Bakterienautolysat.

Um die tageszeitlichen Schwankungen der Glutathionwerte auszuschließen^{18, 19}, wurden die Versuchstiere jeweils um 9 Uhr vormittags getötet. Damit fernerhin die jahreszeitlichen Einflüsse gering gehalten werden konnten, haben wir die Testreihen für die Altersabhängigkeit in den Monaten April und Mai und die Testreihen der Belastungsversuche in den Monaten Juni bis August durchgeführt. Die jahreszeitlichen Schwankungen werden z.Z. genau untersucht.

Ergebnisse

Einfluß des Lebensalters auf die Glutathionwerte der Leber

1. TG-, GSH- und GSSG-Werte

Aus den in Tab. II zusammengestellten Ergebnissen kann ersehen werden, daß in der Leber der männlichen Wistar-Ratte TG, GSH und auch GSSG

Tab. II. Der Glutathionstatus der Leber männlicher Ratten unterschiedlichen Körpergewichts.

Körpergewicht [g]	15	40	85	120	150	200	350
TG [$\mu\text{mol}/\text{g Leber}$]	6,79 ± 0,34 n 6 p zu 15 g —	7,97 ± 0,09 n 6 p < 0,001	8,49 ± 0,39 n 6 p < 0,001	8,68 ± 0,14 n 7 p < 0,001	8,94 ± 0,16 n 8 p < 0,001	9,02 ± 0,17 n 8 p < 0,001	9,15 ± 0,55 n 6 p < 0,001
GSH [$\mu\text{mol}/\text{g Leber}$]	4,59 ± 0,09 n 10 p zu 15 g —	5,67 ± 0,14 n 9 p < 0,001	6,28 ± 0,14 n 6 p < 0,001	6,53 ± 0,13 n 6 p < 0,001	6,54 ± 0,09 n 6 p < 0,001	6,72 ± 0,08 n 8 p < 0,001	6,77 ± 0,23 n 6 p < 0,001
GSSG [$\mu\text{mol}/\text{g Leber}$]	0,058 ± 0,005 n 8 p zu 15 g —	0,104 ± 0,009 n 6 p < 0,001	0,128 ± 0,004 n 6 p < 0,001	0,147 ± 0,005 n 6 p < 0,001	0,153 ± 0,011 n 6 p < 0,001	0,160 ± 0,014 n 6 p < 0,001	0,187 ± 0,007 n 6 p < 0,001
XSSG [$\mu\text{mol}/\text{g Leber}$]	2,08 n —	— n —	2,09 n 2,09	1,95 n 1,95	1,86 n 1,86	2,09 n 2,09	1,98 n 2,01

mit zunehmendem Alter ansteigen. Wird ein Körpergewicht von etwa 180 g erreicht, so nehmen TG und GSH nur noch wenig zu; das Disulfidglutathion hingegen steigt bis zu einem Tiergewicht von 350 g an. Diesen letztgenannten Befund erobt auch schon Oeriu²⁰. Der Autor verglich allerdings nur junge Ratten mit alten Tieren, ohne die dazwischenliegenden Altersstufen zu untersuchen.

In der Abb. 1 haben wir den prozentualen An-

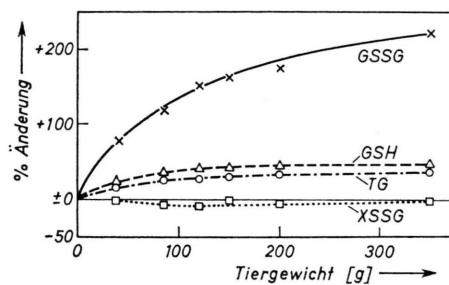


Abb. 1. Die prozentuale Änderung der einzelnen Glutathionparameter der Leber männlicher Ratten mit dem Tiergewicht (Werte bei 15 g schweren Ratten = 0).

stieg der einzelnen Glutathionanteile gegen das Versuchstiergegewicht aufgetragen. Die Werte, die bei 15 g schweren Ratten gemessen worden sind, wurden willkürlich = Null gesetzt. Die von uns früher mit Hilfe einer anderen Methode erhaltenen Gesamtglutathionwerte stimmen mit den hier angegebenen Werten gut überein⁵. Die höheren GSH- und GSSG-Werte erklären sich durch eine Verbesserung der Extraktionsmethode.

2. Gemischte Glutathiondisulfide (XSSG)

Dieser Glutathionanteil liegt offensichtlich im April und Mai während des gesamten Lebensbereiches der Versuchstiere bei etwa 2,0 $\mu\text{mol/g}$ Leber (Tab. II). Dies entspricht bei 15 g schweren Ratten einem prozentualen Anteil – bezogen auf Gesamtglutathion – von etwa 31%, bei alten Tieren (350 g) einem solchen von 22%. Modig findet bei Aszites-Tumorzellen 35% Glutathion in Proteinbindung vor⁸. Harrap⁷ gibt für Lebergewebe an, daß der Anteil an gemischten Disulfiden etwa einem Drittel der säurelöslichen Thiole entspricht. Bei den dort verwendeten Versuchstieren handelt es sich um weibliche Ratten im Alter von 6 – 8 Wochen.

3. Der Glutathionquotient (GSH : GSSG)

Dieser Redoxquotient des Glutathions fällt in der Rattenleber von 79 (Tiergewicht 15 g) auf 36 (Tiergewicht 350 g) (Abb. 2). Hohls hat diesen Quotien-

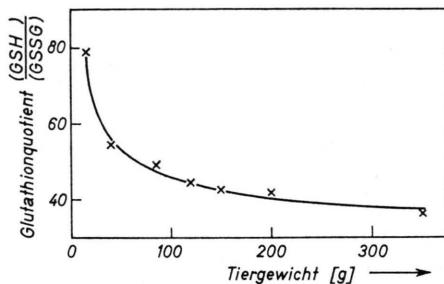


Abb. 2. Der Glutathionquotient der Rattenleber bei männlichen Versuchstieren unterschiedlichen Körpergewichts.

ten bei unterschiedlich schnell wachsenden Hühnerrassen gemessen und ein dem hier aufgezeichneten Verlauf entsprechendes Bild gefunden²¹. Auch Kosower spricht von einem zellulären Thiol-Disulfid-Verhältnis, dessen Schwankungen biologisch bedeutsam sind²².

Einfluß einer akuten Belastung auf die Glutathionwerte der Rattenleber

Aus der Tab. III geht hervor, daß 30 min nach einer Belastung mit Vaccineurin der zelluläre Gesamtglutathionspiegel genau so hoch ist wie bei unbelasteten Kontrolltieren. Da jedoch die GSH-

Werte zu diesem Zeitpunkt sehr niedrig liegen, läßt sich unter Einbeziehung des mengenmäßig kaum ins Gewicht fallenden Disulfidanteiles ein XSSG-Gehalt errechnen, der um fast 50% über demjenigen der Kontrolltiere liegt. Nach weiteren 30 min liegen wieder annähernd Normalwerte vor. 24 Stunden nach der Vaccineurin-Applikation wird dann ein GSH-Wert erreicht, der um mehr als 1 μmol über der Kontrolle liegt. Dementsprechend liegt XSSG, da TG gleichgeblieben ist, sehr niedrig. Damit ist deutlich gezeigt, daß der unter Normalverhältnissen so konstante XSSG-Anteil unter den Bedingungen einer akuten Belastung zu einer außerordentlichen Dynamik befähigt ist. Der gegenüber Tab. II erhöhte Kontrollwert ist offensichtlich jahreszeitlich bedingt.

Eine Verabreichung von 20 IE ACTH/Versuchstier ergab nach bisher vorliegenden Ergebnissen 10 min nach der Applikation ein GSH-Minimum und ein gleichzeitiges GSSG-Maximum. Gesamtglutathion bleibt auch hier im Normbereich, so daß ein XSSG-Anstieg errechnet werden kann. Die zeitliche Vorverlegung der Reaktion hängt offensichtlich mit dem Wegfall der ACTH-Mobilisierungszeit zusammen²³. Über diese Ergebnisse wird in Kürze ausführlich berichtet werden.

Diskussion

Vergleicht man die mit zunehmendem Lebensalter ansteigenden TG-, GSH- und GSSG-Werte mit

Tab. III. Der Glutathionstatus der Rattenleber zu verschiedenen Zeitpunkten nach Verabreichung von 1 ml Vaccineurin III/Tier i.p. bzw. einer entsprechenden Menge physiologischer NaCl-Lösung. Tiergewichte 120 g; K, unbelastete Kontrolle; n.s., nicht signifikant.

Stunden nach der Applikation	K	1/2	1	3	24
TG [$\mu\text{mol/g Leber}$]	8,98 \pm 0,12 n p zu K	8,83 \pm 0,41 — n.s.	8,75 \pm 0,21 7 n.s.	8,98 \pm 0,20 7 n.s.	8,62 \pm 0,30 18 n.s.
GSH [$\mu\text{mol/g Leber}$]	6,43 \pm 0,23 n p zu K	5,15 \pm 0,49 16 — $<0,001$	6,70 \pm 0,26 13 $<0,05$	5,54 \pm 0,29 8 $<0,01$	7,58 \pm 0,66 9 $<0,001$
GSH/NaCl [$\mu\text{mol/g Leber}$]	6,43 \pm 0,23 n p zu K	6,56 \pm 0,10 16 — n.s.	6,66 \pm 0,20 7 n.s.	6,66 \pm 0,28 7 n.s.	6,43 \pm 0,21 19 n.s.
GSSG [$\mu\text{mol/g Leber}$]	0,131 \pm 0,012 n p zu K	0,174 \pm 0,015 22 — $<0,001$	0,138 \pm 0,023 24 n.s.	0,164 \pm 0,019 8 $<0,001$	0,141 \pm 0,021 6 n.s.
GSSG/NaCl [$\mu\text{mol/g Leber}$]	0,131 \pm 0,012 n p zu K	0,131 \pm 0,010 22 — n.s.	0,132 \pm 0,007 6 n.s.	0,133 \pm 0,009 6 n.s.	0,135 \pm 0,009 14 n.s.
XSSG [$\mu\text{mol/g Leber}$]	2,29	3,33	1,78	3,11	0,76

der von Waldschmidt u. a.²⁴ in Lebermitochondrien der Ratte gemessenen Radikalkonzentration, so stellt man übereinstimmende Verlaufstendenz fest. Entstehungsort dieser Radikale dürfte in erster Linie der Isoalloxazinanteil mitochondrialer Flavoenzyme sein, der während der katalytischen Tätigkeit eine Radikalstufe durchläuft. Nach Schole¹ erfolgt die Absättigung der auf diese Weise entstandenen N-Radikale an SH-Gruppen der mitochondrialen Umgebung. Da reduziertes Glutathion in der Leberzelle in hoher Konzentration angetroffen wird, ist es wohl vorwiegend dessen Thiolgruppe, die nach Abgabe eines Elektrons ein GS-Radikal ausbildet. Dieses kann mit einem weiteren GS-Radikal GSSG oder mit einem S-Radikal anderer Herkunft ein gemischtes Glutathiondisulfid bilden. Wie gezeigt werden konnte, wird die Aktivität der gelben Fermente durch die katabolen Hormone der Nebennierenrinde (NNR) erhöht, durch synthesesteigernde Hormone aber offensichtlich vermindert¹. Deshalb dürfte der stoffwechselwirksame Funktionszustand dieser Enzymgruppe meßbares Ergebnis der zwischen diesen beiden Hormongruppen erfolgenden Resultantenstellung sein. Berücksichtigt man, daß die NNR-Aktivität mit dem Lebensalter ansteigt, unter gleichzeitiger Verminderung der zellulären Synthesetätigkeit, so wird man mit einer stetig zunehmenden Oxydationsbelastung rechnen müssen, die von den Flavinradikalen ausgeht und auf die cytoplasmatischen SH-Gruppen gerichtet ist. Die Glutathionsynthese paßt sich offensichtlich diesen Gegebenheiten an, was durch die mit dem Lebensalter ansteigenden TG- und GSH-Konzentrationen demonstriert wird.

Der Anstieg des Disulfidglutathions im Verlaufe des Lebens ist verglichen mit dem niedrigen Ausgangswert bei 15 g schweren Ratten sehr groß, obgleich der Disulfidanteil am Gesamtglutathion gering ist. Deshalb erhält man den dargestellten Verlauf des Glutathionquotienten mit hohen Ausgangswerten und niedrigen Endwerten. Die hohen Werte der jungen Tiere sind Kennzeichen des zugunsten der Synthese verschobenen Stoffwechsels, während das Einschwenken auf einen Plateauwert bei älteren Tieren ein Ausgewogensein von Synthese und Abbau andeutet. Abweichungen von diesem Normverlauf zeigen also Verschiebungen des stationären Redoxzustandes des Glutathionsystems und damit of-

fensichtlich Änderungen der zellulären Stoffwechselregulation an. Aus diesem Grunde ist die Messung des Quotienten von praktischem Wert.

Der unter normalen Verhältnissen konstant bleibende XSSG-Anteil folgt unter den Bedingungen einer akuten Belastung den Bewegungen des Disulfidglutathions, wenn man von dem 24-Stunden-Wert zunächst einmal absieht. Man kann annehmen, daß es als Folge der akuten Belastung zu einer Aktivierung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems kommt, was in der ersten Phase⁴ wohl zu einer starken Erhöhung der Radikalkonzentration der Mitochondrioberfläche führt, deren Konsequenz eine Vermehrung der GS-Radikale ist. Die GSH-Konzentration nimmt 30 min nach der Belastung ab, der GSSG-Anteil wird vermehrt. Die Tatsache, daß auch XSSG stark ansteigt, weist darauf hin, daß zahlreiche andere zelluläre Thiole Schwefelradikale ausgebildet und sich mit GS-Radikalen verbunden haben. Aus der nach weiteren 30 min deutlich gewordenen abermaligen Verschiebung des zellulären Redoxzustandes kann auf eine Überlagerung der NNR-Phase durch entgegengesetzt wirkende hormonelle Faktoren geschlossen werden, so daß es zu einer Verringerung der Flavinenzymaktivität und damit zu einer Verminderung der auf das Zellplasma wirkenden Oxydationsbelastung kommt.

Es wäre auch an die gemischten Glutathiondisulfide zu denken, die nach Flohé²⁵ und Little *et al.*²⁶ während der Glutathionperoxydasereaktion entstehen, zumal die Aktivität dieser Enzyme mit dem Lebensalter in vergleichbarer Weise ansteigt²⁷ wie die mitochondriale Radikalkonzentration und das Disulfidglutathion. Allein der Befund, daß 24 Stunden nach der Belastung wesentlich niedrigere XSSG-Konzentrationen gefunden werden, spricht gegen diese Erklärungsmöglichkeit.

Da solche Bewegungen des Glutathionstatus mit entsprechenden Aktivitätsänderungen der Disulfid spaltenden Enzyme einhergehen könnten, haben wir ebenfalls die Verlaufskurve der Glutathionreduktase-Aktivität nach Vaccineurin-Belastung untersucht. Wir werden in Kürze darüber berichten. Außerdem ist es erforderlich, die Konzentration der mitochondrialen Radikale nach einer akuten Belastung zu messen. Diese Untersuchungen befinden sich in Vorbereitung.

¹ J. Schole, Theorie der Stoffwechselregulation, unter besonderer Berücksichtigung der Regulation des Wachstums, Paul Parey, Berlin-Hamburg 1966.

² G. Harisch, A. Dey-Hazra, K. Enigk u. J. Schole, Zbl. Veterinärmed. B, **18**, 211 [1971].

- ³ G. Harisch, A. Dey-Hazra, K. Enigk u. J. Schole, Zbl. Veterinärmed. B, **18**, 359 [1971].
- ⁴ G. Harisch, A. Dey-Hazra, K. Enigk u. J. Schole, Zbl. Veterinärmed. B, **18**, 527 [1971].
- ⁵ G. Harisch u. J. Schole, Strahlentherapie **142**, 494 [1971].
- ⁶ Z. M. Bacq u. P. Alexander, Nature [London] **203**, 162 [1964].
- ⁷ K. R. Harrap, R. C. Jackson, P. G. Riches, C. A. Smith u. B. T. Hill, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **310**, 103 [1973].
- ⁸ H. G. Modig, Biochem. Pharmacol. **17**, 177 [1968].
- ⁹ H. G. Modig, M. Edgren u. L. Revesz, Int. J. Radiat. Biol. **22**, 257 [1971].
- ¹⁰ S. K. Srivastava u. E. Beutler, Biochem. J. **119**, 353 [1970].
- ¹¹ F. Tietze, Arch. Biochem. Biophysics **138**, 177 [1970].
- ¹² G. S. Tarnowski, R. K. Barclay, I. M. Mountain, M. Nakamura, H. G. Satterwhite u. E. M. Solney, Arch. Biochem. Biophysics **110**, 210 [1965].
- ¹³ N. S. Kosower, G. A. Vanderhoff u. E. M. Kosower, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **272**, 623 [1972].
- ¹⁴ C. A. Appfel u. J. Walker, J. nat. Cancer Inst. **51**, 575 [1973].
- ¹⁵ B. Mannervik, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **354**, 831 [1973].
- ¹⁶ H. J. Hohorst, F. H. Kreutz u. Th. Bücher, Biochem. Z. **332**, 18 [1959].
- ¹⁷ K. Klotzsch u. H. U. Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse (H. U. Bergmeyer, ed.), Verlag Chemie, Weinheim 1962.
- ¹⁸ L. V. Beck, V. D. Rieck u. B. Duncan, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **97**, 229 [1958].
- ¹⁹ G. Calcutt u. S. M. Ting, Naturwissenschaften **56**, 419 [1969].
- ²⁰ S. Oeriu, Acta biol. med. german., Suppl. **1964**, 341.
- ²¹ H. W. Hohls, Arch. Geflügelkde. **31**, 184 [1967].
- ²² E. M. Kosower, W. Correa, B. J. Kinon u. N. S. Kosower, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **264**, 39 [1972].
- ²³ J. Schole, G. Harisch, A. Dey-Hazra u. K. Enigk, Zbl. Veterinärmed. B, **19**, 776 [1972].
- ²⁴ M. Waldschmidt, H. Mönig u. J. Schole, Z. Naturforsch. **23 b**, 798 [1968].
- ²⁵ L. Flohé, Klin. Wschr. **49**, 669 [1971].
- ²⁶ C. Little, R. Olinescu, K. G. Reid u. P. J. O'Brien, J. biol. Chemistry **245**, 3632 [1970].
- ²⁷ R. E. Pinto u. W. Bartley, Biochem. J. **112**, 109 [1969].