

4

Originalarbeiten

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/Main, Abteilung für Gastroenterologie, (Leiter: Prof. Dr. med. W. Siede)

Die Verteilung von Gallensäuren in der Leberzelle bei extrahepatischer Cholostase (II)* **)

Von U. LEUSCHNER, W. KURTZ, A. ALFURAYH und W. ERB

(The distribution of bile acids in the hepatic cells in extrahepatic cholestasis [II])

Summary:

Bile acid content and concentration in sub-cellular hepatic fractions were determined in male Wistar rats following a 17-day extrahepatic cholestasis. Gas chromatography was used for determination. The average bile acid content in the liver cell homogenate of a liver weighing 13.5 gms amounted to 157.6 µg. 13.1 µg (8.3 %) were found in the mitochondrial fraction, 36.9 µg (23.4 %) in the microsome fraction and 107.6 µg (68.3 %) in the cytoplasm. Thus, compared to a group of newly-operated rats, the total bile acid content had dropped 69 %. In the mitochondrial fraction the decrease amounted to 34 %, in the microsome fraction to 88.4 % and in the cytoplasm the content rose by 102 %. It is assumed that the rise in trihydroxy-cholic acids impaired the synthesis in the hepatic cells.

7
Zeitschrift für Gastroenterologie

Jahrgang 12 (1974)

Heft 3

163-168

II

(The distribution of bile acids in the hepatic cells in extrahepatic cholestasis [II])

Summary:

Bile acid content and concentration in sub-cellular hepatic fractions were determined in male Wistar rats following a 17-day extrahepatic cholestasis. Gas chromatography was used for determination. The average bile acid content in the liver cell homogenate of a liver weighing 13.5 gms amounted to 157.6 μg . 13.1 μg (8.3 %) were found in the mitochondrial fraction, 36.9 μg (23.4 %) in the microsome fraction and 107.6 μg (68.3 %) in the cytoplasm. Thus, compared to a group of newly-operated rats, the total bile acid content had dropped 69 %. In the mitochondrial fraction the decrease amounted to 34 %, in the microsome fraction to 88.4 % and in the cytoplasm the content rose by 102 %. It is assumed that the rise in trihydroxy-cholic acids impaired the synthesis in the hepatic cells.

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/Main, Abteilung für Gastroenterologie, (Leiter: Prof. Dr. med. W. Siede)

Die Verteilung von Gallensäuren in der Leberzelle bei extrahepatischer Cholestase (II)* **)

Von U. LEUSCHNER, W. KURTZ, A. ALFURAYH und W. ERB

In einer vorangegangenen Arbeit (15) wurde über die Verteilung der Gallensäuren in der Leberzelle der normalen Ratte berichtet. Im folgenden sollen Ergebnisse bei extrahepatischer Cholestase nach Gallengangligatur mitgeteilt werden. Das methodische Vorgehen entsprach dem der früheren Versuche; auf die Bestimmung des Phospholipid-Phosphors und die Verwendung von zwei weiteren Methoden der Differentialzentrifugation, glaubten wir diesmal verzichten zu können.

Material und Methode

Wir untersuchten 17 männliche Wistar-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 217 g. Unter sauberen, allerdings nicht sterilen Bedingungen wurde durch doppelte Gallengangligatur und anschließende Durchtrennung unmittelbar vor der Einmündung in den Darm eine extrahepatische Cholestase erzeugt (4). 17 Tage später wurden die Tiere zwischen 8 und 9 Uhr vormittags in Äthernarkose entblutet und die Leber entnommen. Die dilatierten extrahepatischen Gallengänge wurden entfernt, die größeren intrahepatischen Gallengänge durch leichte Kompression entleert, und die Leberoberfläche von abgelaufener Galle sorgfältig gereinigt. Auf eisgekühlten Platten wurde das Organ von der Lebervene her mehrfach mit dem zur Differentialzentrifugation verwendeten Suspensionsmedium durchspült (0,3 M-KCl-0,05 M-EDTA-K). Hinsichtlich der weiteren Präparation verweisen wir auf die vorausgegangene Arbeit (2, 11, 15, 24, 25).

Ergebnisse

Nach 17tägiger extrahepatischer Cholestase hatten die Tiere ein durchschnittliches Körpergewicht von 217 g und ein durchschnittliches Lebergewicht von $13,5 \pm 1,28$ g. Der extrahepatische Gallengang war auf einen Durchmesser von 7–15 mm erweitert, die vergrößerte Leber war grünlich-braun und ließ eine betonte Läppchenzeichnung erkennen. Das Serum der Tiere war ikterisch. Alle Ratten hatten die Operation komplikationslos überstanden.

Die nach Differentialzentrifugation isolierten Organellenfraktionen und der flüssige Überstand waren makroskopisch von der gleichen Beschaffenheit wie die Fraktionen der nichtoperierten Tiere (15). Das Durchschnittsgewicht der Mitochondrienfraktionen betrug $0,88 \pm 0,12$ g, der Mikrosomenfraktionen $1,50 \pm 0,13$ g und des Zytoplasmas 7,1 g. Dies entsprach einem Verhältnis von 1 : 1,7 : 8. Licht- und elektrooptisch ließen die Fraktionen einen hohen Reinheitsgrad und eine sehr gute Strukturhaltung erkennen.

*) Herrn Prof. Dr. med. W. Siede zum 65. Geburtstag gewidmet.

**) Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft sowie die Harry und Peter Fuld-Stiftung durchgeführt.

Die Verteilung von Gallensäuren in der Leberzelle bei extrahepatischer Cholostase (II)

Von U. Leuschner, W. Kurtz, A. Alfurayh und W. Erb

In dem nach Abtrennung der Vor- und Kernfraktion untersuchten Leberzellhomogenat einer Leber fanden wir durchschnittlich 157,57 μg Gallensäuren. Davon lagen 13,1 μg (8,3 %) in der Mitochondrienfraktion, 36,9 μg (23,4 %) in der Mikrosomenfraktion und 107,6 μg (68,3 %) im flüssigen Überstand, dem sog. Zytoplasma. Die Gallensäurekonzentration betrug in der Mitochondrienfraktion 14,8 $\mu\text{g}/\text{g}$, in der Mikrosomenfraktion 24,6 $\mu\text{g}/\text{g}$ und im Zytoplasma 15,2 $\mu\text{g}/\text{g}$ (Tab. 1). Die durchschnittlichen Absolut- und Relativwerte der 5 wichtigsten Gallensäuren (Cholsäure [C], β -Muricholsäure [β -MC], Desoxycholsäure [DC] und Lithocholsäure [LC]) finden sich in Tabelle 2—4.

Es fiel auf, daß Cholsäure in allen 3 Fraktionen sowohl absolut als auch relativ überwog. Während Cholsäure in der Mikrosomenfraktion und im flüssigen Überstand am höchsten konzentriert war, waren die β -MC sowie die LC am stärksten in der Mitochondrien- und Mikrosomenfraktion vertreten. Für die β -MC war der Unterschied zwischen den Konzentrationen der Mitochondrien- und Mikrosomenfraktionen einerseits und dem Zytoplasma andererseits statistisch gering signifikant bis

*Relative (mit chole
Rang C + β MC
als Trihydroxy*

Tab. 1: Gallensäurenkonzentration und Gallensäuregehalt in subzellulären Fraktionen der Rattenleber nach Gallengangsligatur (n = 17)

	Mitochondrien	Mikrosomen	Überstand	Gesamt
\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{g}$)	14,8	24,6	15,2	
s	10,6	11,2	15,2	
\bar{x} (μg)	13,1	36,9	107,6	157,6
s	8,8	16,9	108,4	
Verteilung (%)	8,3	23,4	68,3	

Tab. 2: Gallensäurenspektrum der Mitochondrienfraktion nach Gallengangsligatur (n = 17)

	C	β -MC	DC	CDC	LC
\bar{x} (μg)	8,02	0,64	0,59	0,07	0,68
\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{g}$)	9,12	0,75	0,67	0,08	0,78

Tab. 3: Gallensäurenspektrum der Mikrosomenfraktion nach Gallengangsligatur (n = 17)

	C	β -MC	DC	CDC	LC
\bar{x} (μg)	23,50	2,01	1,22	0,07	1,10
\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{g}$)	15,67	1,34	0,81	0,05	0,73

Von U. Leuschner, W. Kurtz, A. Alfurayh und W. Erb

Tab. 4: Gallensäurenspektrum im flüssigen Überstand (sog. Zytoplasma) bei extrahepatischer Cholestase (n = 17)

	C	β-MC	DC	CDC	LC
\bar{x} (μg)	80,51	1,54	1,43	0,11	1,31
\bar{x} (μg/g)	11,35	0,22	0,20	0,02	0,18

signifikant ($p < 0,05$, $p < 0,005$). Für die LC nur der Unterschied zwischen Mitochondrienfraktion und Überstand ($p < 0,05$), für Cholsäure der Unterschied zwischen Mitochondrien- und Mikrosomenfraktion ($p < 0,025$), für DC der Unterschied zwischen Mitochondrienfraktion und Überstand ($p < 0,05$) sowie zwischen Mikrosomenfraktion und Überstand ($p < 0,005$). Die Verteilung der Chenodescholsäure zeigte keine statistisch signifikanten Differenzen. Die Summe dihydroxylierter Gallensäuren (DC, CDC) war in allen Fraktionen stets geringer als 1/100 des jeweiligen Anteils trihydroxylierter Gallensäuren (C, β-MC).

Diskussion

Vergleicht man die Gewichte der Organellenfraktionen nach 17-tägiger extrahepatischer Cholestase mit denen nicht operierter Tiere (15), so fällt auf, daß die Mitochondrienfraktion um 50 % und die Mikrosomenfraktion um 29 % abgenommen, während das Zytoplasma um 129 % und das durchschnittliche Lebergewicht um 35 % zugenommen haben ($p < 0,0005$). Vergleichbare Daten sind uns aus der Literatur nicht bekannt. Zwar wurde von Schaffner u. Mitarb. (19) nach 4-tägiger Gallengangsligatur ein Rückgang des mikrosomalen Gesamtproteins um etwa 12 % beobachtet, doch war die Differenz statistisch nicht signifikant. Bei einer 2. Versuchsreihe betrug der Rückgang 14 %. Bei der Maus soll es im Hunger, bei Mangelernährung beim Karzinom zum Rückgang der Mitochondrienzahl um 75 %, nämlich auf 710 pro Zelle kommen (8). Popper erwähnt einen nicht durch abgelagerte Substanzen bedingten Anstieg des Lebergewichtes bei extrahepatischer Cholestase (18). Daten zeigen, daß sich der Organellengehalt der Zelle unter extremen Bedingungen deutlich verändern kann, und daß der von uns nach 17-tägiger Cholestase erhaltene Befund größenordnungsmäßig mit den erwähnten Angaben vergleichbar ist.

17 Tage nach Gallengangsligatur war der Gallensäuregehalt im Leberzellhomogenat im Vergleich zum nichtoperierten Tier um 69 %, von 512,8 μg auf 157,6 μg abgenommen. In der Mitochondrienfraktion betrug der Rückgang 67 %, in der Mikrosomenfraktion 92 %. Im Zytoplasma fanden wir jedoch einen Anstieg um 365 %. Diese Veränderungen wurden einmal durch die Änderungen im Organellengehalt der Zelle, anderen aber auch durch die der Gallensäurenkonzentrationen in den Fraktionen hervorgerufen. Gegenüber dem nicht operierten Tier (15) war die Gallensäurenkonzentration in der Mitochondrienfraktion um 34 % und in der Mikrosomenfraktion um 88,4 % zurückgegangen, wohingegen sie im Zytoplasma um 102 % angestiegen war. Die morphologisch und Konzentrationsbedingungen Änderungen zwischen dem Gallensäuregehalt der operierten und nichtoperierten Ratte sind in Tabelle 5 gegenübergestellt.

zellhomogenat
von Organellen-
fraktionen. Die
Mikrosomen-
fraktion
mittlichen
β-Muri-
sich in

über-
stand
in der
inter-
frak-
at bis

Relative (mittl. Wert)
Anteil C + β-MC
des Trihydroxy

der

Die Verteilung von Gallensäuren in der Leberzelle bei extrahepatischer Cholestase (II)

Von U. Leuschner, W. Kurtz, A. Alfurayh und W. Erb

Tab. 5: Gallensäuregehalt und -konzentration bei normalen Ratten (n = 13) (15) und nach Gallengangsligatur (n = 17)

	Mitochondrien		Mikrosomen		Überstand	
	µg	µg/g	µg	µg/g	µg	µg/g
1. normales Tier	39,6	22,5	450,0	212,0	23,2	7,5
2. bei Cholestase	13,1	14,8	36,9	24,6	107,6	15,2
Signifikanz der Differenz zwischen 1 und 2 P <	0,005	0,01	0,0025	0,005	0,01	0,01
Verschiebung zwischen 1 und 2 (%)	-67	-34	-92	-88,4	+365	+102

Im Gegensatz zu unseren an Organellenfraktionen ermittelten Ergebnissen wurde im Lebergesamthomogenat der Ratte nach Gallengangsligatur ein Anstieg des Gallensäuregehaltes beschrieben (7, 10, 14), der zum überwiegenden Teil durch Trihydroxygallensäuren, hauptsächlich β -Muricholsäure, bedingt war. Die Chenodesoxycholsäure fiel nach vorübergehendem Anstieg 4 Tage nach Gallengangsligatur wieder ab und entsprach 8—10 Tage nach der Operation dem Ausgangswert. Auch der zunächst beobachtete Anstieg der Cholsäure blieb vom 3. Tag an wieder aus. Es liegt nahe (12), daß die Ursache dieses Verhaltens in einer durch dihydroxylierte Gallensäuren bedingten kompetitiven Hemmung der Typ I-Bindung von Substrat an den Lipoproteinanteil des im endoplasmatischen Retikulum gelegenen Cytochrom P-450 zu suchen ist. Die erforderliche Hemmdosis soll bei 100 bzw. 300 nMol/g-Lebergewebe liegen, für Trihydroxygallensäuren aber erst bei 4000 nMol/g. Da das Cytochrom P-450 für die Einführung verschiedener Hydroxylgruppen am Sterinringssystem verantwortlich ist (5, 26, 30, 31), sind Störungen des Gallensäurenstoffwechsels bei Aktivitätsänderungen durchaus vorstellbar. Der ungeachtet dieser Hypothese beobachtete Anstieg der β -Muricholsäure wurde von den Autoren (10) durch Umwandlung der Chenodesoxycholsäure über einen Cytochrom P-450-unabhängigen Schritt, nämlich die 6 β -Hydroxylierung der Ursodesoxycholsäure, dem 7 β -Epimer der Chenodesoxycholsäure, erklärt.

CBC - 24,72, Bilirubin
Uno - 32,73, -
pnc - 32,61, 73

Die Tatsache, daß nach Untersuchungen von Greim u. Mitarb. (10) die Hemmdosis von 100 nMol/g Leber bei extrahepatischer Cholestase nur am 3. Tag erreicht wird, schon am 8.—10. Tag ist die Konzentration auf den Ausgangswert zurückgegangen, und daß sogar bei intrahepatischer Cholestase nach ANIT (7), für die eine primäre Schädigung der im endoplasmatischen Retikulum gelegenen Enzymsysteme diskutiert wird (20), die Summe dihydroxylierter Gallensäuren 15 nMol/g Lebergewebe nicht überschritt, läßt auch uns die Bedeutung von Dihydroxygallensäuren bei der Ratte bezweifeln. Wir möchten eher annehmen, daß zumindest bei länger dauerndem Gallengangsverschluß der von allen Autoren (7, 10, 14, 23) beobachtete Anstieg trihydroxylierter Gallensäuren im Gesamthomogenat und die von uns beschriebene relative Zu-

Von U. Leuschner, W. Kurtz, A. Alfurayh und W. Erb

nahme bei gleichzeitiger Verschiebung von der Mikrosomenfraktion in das Zytoplasma, eine entscheidende Rolle für die Verminderung des Gallensäuregehaltes spielen.

Schersten (21) sowie Lee u. Mitarb. (13) konnten z. B. zeigen, daß Cholsäure sowohl zur Aktivierung der mitochondrialen ATP-ase als auch zur Blockierung der Atmungskettenenzyme in den Mitochondrien führen kann. Um diese Wirkung zu erzielen, müssen Trihydroxygallensäuren allerdings 10fach höher konzentriert sein als Dihydroxygallensäuren, von denen die Desoxycholsäure wieder eine stärkere Wirkung als die Chenodesoxycholsäure erkennen ließ. Vergleicht man Tabelle 2 mit den von uns bei gesunden Ratten ermittelten Werten (15), so fällt auf, daß die Summe der Trihydroxygallensäuren in den Mitochondrienfraktionen nach Gallengangsligatur auch tatsächlich mehr als das Zehnfache der Summe dihydroxylierter Gallensäuren betrug, während es beim nichtoperierten Tier genau umgekehrt war. Es ist denkbar, daß diese Verschiebung im Verhältnis zwischen Di- und Trihydroxygallensäuren zu einer Energieverknappung in der Zelle und damit zum Rückgang der Gallensäurensynthese führen kann.

Die von uns beim operierten Tier beobachtete Verlagerung von Gallensäuren aus der Mikrosomenfraktion in das Zytoplasma, könnte zu einer Hemmung der mikrosomalen Konjugation von Gallensäuren mit Taurin und Glycin führen. Erste Hinweise hierfür lieferte Bremer bereits 1956 (6), Untersuchungen von Schersten (21) bestätigten diese Befunde. Bremer konnte zeigen, daß die Konjugationsrate von Lebermikrosomen nach Zugabe von Tauro- bzw. Glycocholol deutlich zurückging. Schersten fand, daß die Trennung von Zytoplasma und Mikrosomen bei Patienten mit Cholelithiasis die im Homogenat eingeschränkte Konjugationsrate wieder voll herstellte, so daß die Verminderung der Konjugationsrate nur durch im Hyaloplasma gelegene Gallensäurenkonjugate hervorgerufen worden sein konnte. Wie Gallensäuren bei extrahepatischer Cholestase in das Zytoplasma gelangen, wissen wir nicht. Möglicherweise spielt hier die von Schersten (22) vermutete und von Björkerud u. Mitarb. (1) demonstrierte Labilisierung der Lysosomenmembranen, und damit der Austritt von in diesen Organellen gelegenen Gallensäuren in das Zytoplasma eine Rolle. Vielleicht handelt es sich aber auch nur um rückgestaute Substanzen aus den intrahepatischen Gallengängen.

Ein Rückgang des Gallensäuregehaltes im Lebergewebe kann nur dann eintreten, wenn bei verzögerter Neubildung und Konjugation die weitere Ausscheidung aus der Zelle möglich ist. Da die Ratte nach Gallengangsligatur die Galle nur für 2 Minuten im Gallengangssystem zu speichern vermag (17), erfolgt bei Fortbestehen der Ligatur zunächst die Ablagerung gallepflichtiger Substanzen in der Zelle, schließlich aber ihre Ausscheidung ins Blut. Dementsprechend fanden Boyd u. Mitarb. (4) bereits 30 Minuten nach der Unterbrechung des Galleflusses einen Anstieg der Gallensäurenkonzentration im Serum auf das 20fache, mit einem Plateau ab der 8. Stunde, und mit zeitlicher Verzögerung einen Anstieg des Gallensäuregehaltes im Urin (4). Vermutlich führt die Ausscheidung der nach Gallengangsligatur in geringerer Menge synthetisierten Gallensäuren auf diesem Weg schließlich zum allmählichen Rückgang der Gesamtkonzentration im Lebergewebe.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß auch bei Leberzirrhose, chronischer Hepatitis und im Coma hepaticum eine Verminderung der Gallensäurenkonzentration im Lebergesamthomogenat sowie eine Verkleinerung des Gallensäurenpools beschrieben worden sind (3, 9, 16, 27—29). Wollte man daher den Vorstellungen folgen, wonach bei Cholestase die Gallensäurenkonzentration in der Leber ansteigt, so wäre die Cholestase die einzige Form einer Leberkrankheit, bei der es zu einer Vermehrung des Gall-

CCC - 24,78, 24,78
 CMC - 34,78
 CMC - 34,78

Die Verteilung von Gallensäuren in der Leberzelle bei extrahepatischer Cholestase (II)

Von U. Leuschner, W. Kurtz, A. Alfurayh und W. Erb

säuregehalten in der Zelle kommt. Da aber die Cholestase auch der einzige Zustand ist, bei dem Gallensäuren in größerem Ausmaß im intrahepatischen Gallengangssystem abgelagert werden, liegt der Gedanke nahe, daß der in der Literatur beschriebene Konzentrationsanstieg durch Gallensäuren des Gangsystems hervorgerufen wurde.

Zusammenfassung:

Nach 17tägiger extrahepatischer Cholestase wurden bei männlichen Wistar-Ratten Gallensäuregehalt und Gallensäurenkonzentration in subzellulären Fraktionen der Leber bestimmt. Die Untersuchungen erfolgten gaschromatographisch. Der durchschnittliche Gallensäuregehalt im Leberzellhomogenat einer 13,5 g schweren Leber betrug 157,6 µg. In der Mitochondrienfraktion fanden sich 13,1 µg (8,3 %), in der Mikrosomenfraktion 36,9 µg (23,4 %) und im Zytoplasma 107,6 µg (68,3 %). Damit war der Gesamtgallensäuregehalt gegenüber dem Vergleichskollektiv nichtoperierter Ratten um 69 % abgefallen. In der Mitochondrienfraktion betrug der Rückgang 34 %, in der Mikrosomenfraktion 88,4 %, im Zytoplasma ist es jedoch zum Anstieg um 102 % gekommen. Es wird vermutet, daß die Anreicherung von Trihydroxygallensäuren zu einer Synthesestörung in der Leberzelle geführt hat.

Frl. S. Linnenkohl danken wir für ihre Mitarbeit bei der Durchführung der Experimente und bei der Anfertigung der Arbeit.

Literatur:

1. Björkerud, S., P. Björntorp u. T. Scherstén: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29 (1967) 224. — 2. Blankenhorn, D. H. u. E. H. Ahrens: *J. Biol. Chem.* 212 (1965) 69. — 3. Bollman, J. L. u. F. C. Mann: *Amer. J. Physiol.* 116 (1936) 214. — 4. Boyd, G. S., M. A. Eastwood u. N. MacLean: *J. Lipid. Res.* 7 (1966) 83. — 5. Boyd, G. S. u. I. W. Percy-Robb: *Amer. J. Med.* 51 (1971) 580. — 6. Bremer, J.: *Akad. Trykningsentral, Blindern, Oslo* (1965). — 7. Czygan, P., H. Greim, D. Trülzsch, F. Hutterer, F. Schaffner u. H. Popper: *Bile acids in human liver diseases*, F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York (1972) 135. — 8. David, H.: *Mitochondrien*; in: *Molekulare Biologie der Zelle*, G. Fischer Verlag, Stuttgart (1969) 469. — 9. Erb, W., A. Haase u. U. Leuschner: *Z. Gastroenterol.* 11 (1973) 203. — 10. Greim, H., D. Trülzsch, P. Czygan, F. Hutterer, F. Schaffner u. H. Popper: *Bile acids in human liver diseases*, F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York (1972) 131. — 11. Haslewood, G. A. D.: *Bile salts*; Barnes and Noble, New York; Methuen, London (1967). — 12. Hutterer, F., P. G. Bacchin, I. H. Raisfeld, J. B. Schenkman, F. Schaffner, u. H. Popper: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 133 (1970) 702. — 13. Lee, M. J. u. M. W. Whitehouse: *Biochem. Biophys. Acta* 100 (1965) 317. — 14. Leinweber, W., B. Lauterbach u. W. Erb: *27. Tgg. Dsch. Ges. Verd. u. Stoffwechsellkhtn.*, Frankfurt/M., Okt. 1972. — 15. Leuschner, U., A. Alfurayh, W. Uhlmann, H. J. Wildgrube u. W. Erb: *Z. Gastroenterol.* (im Druck). — 16. McLeod, G.M.: *Gut* 11 (1970) 979. — 17. Popper, H. u. F. Schaffner: *Liver. Structure and function*; McGraw-Hill Book Co., New York (1957) 227. — 18. Popper, H. u. F. Schaffner: *Hum. Path.* 1 (1970) 1. — 19. Schaffner, F., G. P. Bacchin, F. Hutterer, H. H. Scharnbeck, L.L. Sarkozi, H. Denk u. H. Popper: *Gastroenterology* 60 (1970) 888. — 20. Schaffner, F. u. H. Popper: *The Lancet* 2 (1969) 335. — 21. Scherstén, T.: *Scand. J. Gastroent.* 2 (1967) 49. — 22. Scherstén, T.: *Acta Chir. Scand. Suppl.* 373 (1967) 1. — 23. Schwenk, B.: *Inaug. Diss.*, Frankfurt/M. (1973). — 24. Sjövall, J.: *Acta Chem. Scand.* 16 (1962) 1761. — 25. Sjövall, J., C. R. Meloni u. D. A. Turner: *J. Lipid Res.* 2 (1961) 317. — 26. Trülzsch, D., H. Greim, P. Czygan, J. Roboz, J. Rudik, F. Hutterer, F. Schaffner u. H. Popper: *Gastroenterology* 62 (1972) 879. — 27. Vlahcevic, Z. R., C. C. Bell, I. Buhac, J. T. Farrar u. L. Swell: *Gastroenterology* 59 (1970) 165. — 28. Vlahcevic, Z. R., I. Buhac, C. C. Bell u. L. Swell: *Gut* 11 (1970) 420. — 29. Vlahcevic, Z. R., I. Buhac, J. T. Farrar, C. C. Bell u. L. Swell: *Gastroenterology* 60 (1971) 491. — 30. Voigt, W., S. L. Hsia, D. Y. Cooper u. O. Rosenthal: *FEBS Letters* 2 (1968) 124. — 31. Voigt, W., P. J. Thomas und S. L. Hsia: *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 3493. —