

DIVERSES TÈCNiques PROPOSADeS PER A LES DETERMINACIONS DE LA GLUTATIÈMIA

per

M. AMAT I BARGUÉS

GLUCOSA, GLÚCID X I REDUCCIÓ Y

L'any passat vaig portar a la consideració de la Societat una nota prèvia sobre el tema. Avui, després de noves investigacions, he d'insistir, perquè crec que el problema és d'interès.

Segons el procediment adoptat pel dosatge de la glucosa a la sang, els valors obtinguts difereixen en forma tal, que inclús poden arribar a ésser 100 per 100 més elevats. Hi ha més : si després de fer el dosatge, se sotmet una altra part de líquid no manipulat a una fermentació glucolítica, el substràctum resultant acusa un valor positiu de reducció en repetir el dosatge, i, per tant, després d'haver desaparegut la glucosa.

S'ha convingut, i així és, que la quantitat de glucosa ve donada per la pèrdua de reducció després de la fermentació, o directament per la reducció, després de la defecació mitjançant Cu, Zn o Hg. (Mètode de Hagedorn-Jensen, per exemple, i no mètode de Folin-Wu.)

El residu que queda, reductor, és de naturalesa glucida, i ha estat anomenat Glúcid X; la seva fermentació

completa té lloc dintre un termini de tres dies. La seva quantitat ve donada per la resta de reducció després de la fermentació ràpida i també per la diferència de reducció entre els filtrats túngstics i els filtrats de Cu Zn, o Hg, que provenen de la desalbuminització. (Mètodes de Folin-Wu i Hagedorn-Jensen, per exemple.)

S'anomena reducció Y, la reducció en termes de glucosa, donada pel mètode de Ionesco, en més, de la reducció obtinguda pel mètode de Folin-Wu (glucosa veritable més glúcid X) en el mateix filtrat túngstic.

En aquesta reducció Y entra el glutatión i alguna altra substància, fins ara completament desconeguda.

GLUTATION : CONSTITUCIÓ, PROPIETATS FÍSICOQUÍMIQUES I BIOLÒGIQUES

El glutatión és un tripèptid que es troba a la sang i teixits humans (i en els animals), la fórmula del qual es creia que s'havia trobat, però fa poc es va veure que era equivocada.

Vaig a descriure ràpidament l'estat actual de la qüestió.

Aquesta espècie química està constituïda per glicocola, àcid glutàmic i cisteïna. Tractant d'ajuntar aquests cossos, per constituir el tripèptid, són possibles, teòricament, dotze fórmules; però com que, per l'acció d'una sèrie de diastases, com pepsina i papaïna, triptasa pancreàtica, dipeptidasa i polipeptidasa del budell, etc., la hidròlisi queda detinguda quan s'ha separat la glicocola, queden excloses les fórmules de glutatión en les quals la glicina ocupi el centre de la cadena.

El glutatión és hidrolitzat ràpidament per la carboxipolipeptidasa del pàncreas, i com que aquesta dias-

tasa solament allibera àcids aminats que tinguin un grup carboxil lliure, es dedueix que les restes de glicina tenen el COOH lliure, i el NH₂ unit en una combinació peptídica.

Aquests fets estan d'acord amb certes observacions de Kendall, i amb la comprovació que l'ebullició prolongada de les solucions aquoses de glutatión donen la glicilcistina-anhidrid, cosa que posa de manifest la gran probabilitat del veïnatge d'aquests dos aminoàcids en la molècula. El carboxil de la cisteïna estaria, doncs, combinat amb l'amino-grup de la glicocola.

Per part de l'àcid glutàmic, un dels seus carboxils, estaria unit a l'amino-grup de la cisteïna, cosa que corroboren molts fets.

Sembla que de l'examen del glutatión, per la glutamincistina, extreta dels productes de la hidrolisi del pàncreas (noves diastases pancreàtiques, Le Breton), ha de fixar-se definitivament la fórmula de constitució exacta.

En aquest tripeptid es verifica amb facilitat el pas del grup SH, al SS. Això ens indica que pot aparèixer com a sulfhidrat o com a disulfur; el sulfhidrat (cisteïna, més àcid glutàmic, més glicina) és un reductor, perquè cedeix fàcilment hidrogen, per exemple a l'oxigen, per formar aigua; en canvi, el disulfur (cistina, més àcid glutàmic, més glicina) és un oxidant, en el sentit que fàcilment recobra hidrogen, per regenerar el sulfhidrat, agafant-lo de diferents cossos, respecte dels quals actua com a acceptor-donador d'hidrogen o de catalitzador de transport, ja que pren hidrogen, després el cedeix al O per exemple, torna a prendre'l, i així successivament. Per un pH de 6,8, que correspon al modern pR, proposat pel professor Giribaldo Kopaczewsky, de 0,54, el sulfhidrat és estable; per un pH de 7,4 al que correspon un pR de — 0,66 el disulfur és estable. La zona compresa entre

els pR + 0,54 a - 0,66 (que correspon als pH de 6,8 a 7,4, com hem dit) és aquella en la qual el glutatíon presenta reversibilitat de la seva acció òxido-reductora, i, per tant, capacitat d'actuar com a transportador de H.

La importància enorme del glutatíon es dedueix tenint en compte aquestes propietats i la teoria actual de l'oxidació de Wieland, segons la qual, tota oxidació no és sinó una deshidrogenació, precedida, les més de les vegades, d'una hidratació.

Hi ha una sèrie d'activitats reductores que no semblen estar influenciades per ferments. D'aquests cossos als quals ens referim, el més important és el glutatíon d'Hopkins.

L'autoxidació del glutatíon depèn, segons Warburg i Sakuma, de l'acció catalítica d'alguns metalls i especialment del ferro.

Harrison ha demostrat l'íntima relació del glutatíon amb la respiració cel·lular.

La producció de melanines, degut a l'absorció de radiacions ultravioletes pel glutatíon, fou deguda a Waard.

Baker, en un treball interessantíssim, demostra que és possible que el glutatíon i l'hemoglobina, en afavorir la vida i la multiplicació cel·lular, ho facin creant un potencial d'òxido-reducció, el que actualment en diem rH, adequat, que reguli la respiració i les reaccions metabòliques. Demostra, també, que el glutatíon no solament excita el creixement cel·lular, sinó que, estudiant el metabolisme del nitrogen dels fibroblastes, veu que una part del nitrogen del tripèptid es fa servir en la proliferació cel·lular.

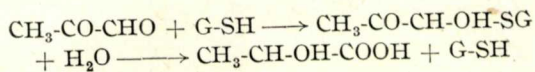
Gabbe comprova, en estudis experimentals sobre el conill, que el glutatíon transporta el H dels teixits cap al pulmó, i allà s'uneix amb el O de l'aire, funció que

col·loca el glutatíon al costat de l'hemoglobina, cosa, per això, que ja es preveu teòricament.

Hirchs ha trobat que la irritació crònica, produïda pel quitrà en un teixit, augmenta la seva quantitat de glutatíon, mentre que disminueix en la sang circulant.

El glutatíon exerceix un paper important en la multiplicació cel·lular. Afavoreix la divisió nuclear i cel·lular a concentracions molt dèbils, el mateix en forma oxidada que reduïda. La seva acció principal sembla ésser sobre les cèl·lules incompletament madures.

Recentment, Jowet i Quastel han demostrat l'acció que, com a codiastasa de la glioxalasa, desenrotlla el glutatíon. La transformació del metilglioxal en àcid làctic l'expliquen:



Els àcids acètics monohalogenats (monoiodoacètic principalment) exerceixen una acció fortament inhibidora, tant sobre la glucocolisi com sobre la fermentació. L'acció d'aquest àcid és nul·la sobre els processos amilolítics (purament diastàsics). En canvi, impedeix la producció d'exosafosfats. El mecanisme d'aquesta acció sembla ésser deguda a la presència, en els sistemes catalítics, dels agrupaments sulfhidrilats del glutatíon reduït; aquest fet fou descobert simultàniament i independentment per Dickens, Quastel, Wheartley i Rapkine.

Litarczec i Dinischiotu han trobat que el «span», interval entre la banda «alfa» de l'oxi i de la carboxihemoglobina, és proporcional a la quantitat de glutatíon intrahemàtica.

El glutatíon redueix en part l'oxihemoglobina. L'hemoglobina, en canvi, impedeix l'oxidació del glutatíon.

GLUTATIÈMIA : DETERMINACIÓ

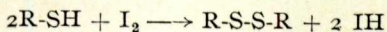
L'estudi dels productes més senzills del metabolisme nitrogenat i especialment dels aminoàcids, en la sang, adquireix cada dia més importància, i sembla que està destinat a un gros desenrotllament en l'esdevenidor.

Rondoni i Marcialis creuen que l'alteració sèrica de la lues no es limita a modificacions solament globulíniques, sinó que l'atribueixen a la presència de constituents anormals que potser podrien incloure's en el grup dels polipèptids.

Les recents investigacions de Tonietti, que troba un augment del nitrogen amínic, en el sèrum luètic, fa presumir l'existència d'aquests aminoàcids.

Els procediments de dosatge del glutatión a la sang són genèricament els de dosatge d'aminoàcids, però aleshores la xifra trobada està elevada pels cossos d'aquesta naturalesa, i com que pel nostre punt de vista no ens interessen, hem de dirigir-nos cap a aquells procediments específics que valorin solament i exclusiva glutatión. Els procediments més interessants coneguts fins ara són els que vaig a anomenar i el valor dels quals analitzarem després, alguns dels quals ja van ésser sumàriament descrits en la meua nota de l'any passat.

Mètode de Tunnicliffe. — Serveix per a dosar el glutatión en la forma reduïda. Es desalbumina la sang amb àcid tricloroacètic al 10 per 100. El producte resultant es titula amb iode $n/100$, i s'utilitza el nitroprusiat de sodi com a indicador al toc. La reacció és la següent:



i es fa el càlcul sabent que cada centímetre cúbic de iode n/100 equival, no a 2'5 mgr. de glutation reduït, com diu ell, sinó a 3'67.

Aquest mètode havia estat utilitzat per diferents autors, i Hopkins creia que donava bons resultats.

Blanchetiere i Melon modificaren el procediment: feren servir engrut de midó com a indicador.

Tècnica de Leon Binet. — Fonament : desalbuminar la sang amb àcid tricloroacètic. Dosificar amb iode n/100, amb engrut de midó com a indicador, i restar la quantitat de iode gastat en un assaig fet en blanc.

Tècnica : En un matràs de 50 cc. es posen 20 cc. d'àcid tricloroacètic al 20 per 100, s'afegeixen 20 cc. de sang i s'acaba d'omplir fins a 50 cc. amb àcid tricloroacètic al 10 per 100. Es remena bé, es filtra i es fa la dosificació, mitjançant el iode n/100, en presència d'engrut de midó i sobre un volum mesurat del filtrat. Com que en afegir iode n/100 a un volum d'aigua i midó, no es coloreja de blau, fins que s'ha gastat certa quantitat, és necessari restar aquesta quantitat gastada de la total.

Tècnica de Perlzweig i Delure. — És una modificació del mètode de Tunnicliffe. Es barregen 5 cc. de sang, amb 5 cc. d'àcid tricloroacètic al 20 per 100, a 5 cc. del filtrat d'aquesta barreja s'afegeixen 1 cc. de IK al 25 per 100, i 1 cc. de solució de iode n/100; als cinc minuts es posen dues gotes d'engrut de midó, i es titula de seguida el iode lliure amb la solució n/200 d'hiposulfit sòdic. Simultàniament es fa una determinació en blanc amb 5 cc. d'àcid tricloroacètic al 20 per 100 i el càlcul es fa seguint les normes que indicaré després.

Mètode d'Abderhalden i Wertheimer. — És un mètode colorimètric. S'igualava el color del filtrat desalbuminat, després d'afegir-hi nitroprusiat sòdic, amb un conjunt

standard de colorants (roig de Burdeos i blau de metilè). L'inconvenient d'aquest mètode és que, malgrat afegir CNK a la barreja, el color del nitroprusiat disminueix de to, tan ràpidament, que els errors poden arribar a ésser importants.

Mètode de Thompson i Voegtlin. — És colorimètric. Emplea el betanaftoquinona-4-sulfonat sòdic (grups SH, vora de NH), però presenta el greu inconvenient de necessitar una hidrolisi prèvia del glutatión, ultra de no ésser ben específic.

Mètode de Flatow. — Fonament: desalbuminar amb àcid acètic i acetat d'urà. Fa primer una determinació d'àcid úric, oxidant amb ferricianur i valorant el que sobri amb sulfoindigotat sòdic.

Es fa bullir després el líquid restant del primer filtrat, amb ClH, que després es neutralitza, i s'afegeix lactat de plata. Es forma un precipitat que conté, junt a la sal doble de lactat i urat de plata, un complex de tiazina i plata i de glutatión i plata. Es fa una nova determinació d'àcid úric en aquest precipitat. Separat l'àcid úric, queda la tiazina i el glutatión, amb què, fentlos passar a solució àcida, es valora el glutatión pel procediment de Folin, determinant el nitrogen amínic. El mètode de Folin consisteix a comparar colorimètricament els colors obtinguts del problema i d'una solució tipus de glicocola que tingui 0'1 mgr. de nitrogen per cada centímetre cúbic (0'5383 gr. de glicocola en 1,000 cc.), després d'afegir betanaftoquinonsulfonat sòdic. Mitjançant la proporció clàssica de la colorimetria, se sap el nitrogen, i d'aquí es dedueix el glutatión.

Mètode de Gabbe. — Fonament: oxidar el glutatión per una solució àcida de ferricianur potàssic i titular l'excés per tiosulfat sòdic. Simultàniament, fer una determinació en blanc amb igual quantitat de reactius.

Càlcul : es resta de la quantitat d'hiposulfit gastada quan s'havia barrejat sang, la que s'ha gastat en l'assaig en blanc; la diferència multiplicada per 50 (havent partit de 10 cc. de sang oxalatada) dóna la quantitat de glutatión, expressada en mil·ligrams i continguda en 100 cc. de sang.

Per aquest mètode — diuen la majoria de treballs publicats en revistes — es dosifica el glutatión total en forma S-S.

Mètode Mason. — Transforma el ferrocianur format en blau de Prússia, emprant una sal fèrrica i tenint el coloid peptitzat i estabilitzat, gràcies a una solució de goma guta, fa el dosatge colorimètric per comparació amb una solució standard.

Mètode de Draver i Marenzi. — El reactiu fosfotúngstic de Folin i Marenzi reacciona quantitativament amb el glutatión, pel grup SH.

Es compara colorimètricament una solució de cistina i la sang desalbuminada per àcid tricloracètic. S'afegeix sulfat sòdic al 20 per 100; després sulfat lític al 20 per 100, carbonat sòdic al 20 per 100 i reactiu fosfotúngstic, es deixa en repòs fins a obtenir el màxim de coloració, i, després de diluir amb sulfat sòdic, es compara de seguida al colorímetre.

Mètode de Delaville-Kowarsky. — Desalbuminar amb àcid tricloracètic, addicionar ClH concentrat (5 cc.) i de 3 a 4 gr. de Zn-Cu. Quan s'ha acabat el desprendiment gasós, es filtra, i en el filtrat es dosa el glutatión reduït emprant l'engrut de midó com a indicador, i el iode com a reactiu, fent el dosatge directe i no el diferencial.

CRÍTICA, CONSIDERACIONS I MODIFICACIONS

De tots els procediments descrits, els colorimètrics sempre resulten inferiors als estequiomètrics, degut a no poder aconseguir moltes voltes una igualtat absoluta dels tons, en el color de les dues solucions. A més a més, de vegades la proporcionalitat entre la intensitat dels dos colors no és l'equació d'una línia recta.

Els procediments que utilitzen el nitroprusiat sòdic com a indicador, tenen el desavantatge que aquest no acusa quantitats inferiors a 125 mgr. de glutatión reduït. I d'entre els procediments iodomètrics que usen midó, el mètode de Gabbe és el que a mi m'ha donat més bons resultats, d'acord amb l'experimentat per altres autors, quant a rapidesa i exactitud. Amb tot, he arreglat aquest procediment en certs detalls, a mesura que he anat treballant amb ell, sobretot en el que fa referència a les últimes investigacions a propòsit de la constitució del glutatión.

TÈCNICA QUE SEGUEIXO

- a) Solució de wolframat sòdic al 10 per 100.
- b) Solució 2/3 n d'àcid sulfúric. S'agafen 18'47 cc. d'àcid sulfúric d'1'84 de densitat, per 1,000 cc. de volum total amb aigua bidestil·lada.
- c) Àcid clorhídric al 25 per 100.
- d) Ferricianur potàssic en solució 0,005 n, addicionada de carbonat sòdic (10'6 gr. de carbonat sòdic calcinat, dissolts en una quantitat d'aigua tal, que el volum en conjunt sigui de 1,000 cc.), i guardar el líquid en flascó de color topazi.

e) Solució recent, que es fa barrejant 40 parts de solució 1/ que té 10 gr. de sulfat de zenc i 50 gr. de clorur sòdic en 160 cc., i 10 parts de solució 2/ que conté 12'50 grams de iodur potàssic en 100 cc. (conservar en flascó topazi).

f) Solució de midó a l'1 per 100.

g) Solució d'hiposulfit sòdic 0,005 n.

Es desalbumina pel procediment de Folin-Wu.

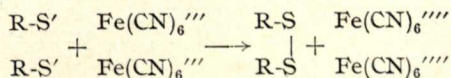
10 cc. de sang recollida amb oxalat, queden convertits, d'aquest mode, en 100 cc. de líquid. Es filtra; a 25 cc. de líquid completament transparent, s'afegeixen 2 cc. del reactiu *c* i 2 cc. del *d* mesurats amb tota exactitud. Es deixa reposar un o dos minuts, i s'afegeixen 2 cc. de l'*e*; es deixa passar cinc minuts, i després d'afegir dues gotes de solució *f*, es titula amb la *g*. Amb els minuts passats hi ha prou temps perquè les reaccions tinguin lloc.

Fem paral·lelament una altra valoració, bo i emprant les mateixes quantitats de reactius, solament que, en lloc de 10 cc. de sang oxalatada, posem 10 cc. d'aigua bides-til·lada.

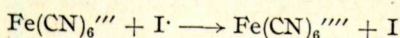
CÀLCUL

Restem les dues quantitats gastades d'hiposulfit, i el que resulta ho multipliquem per 61'4, i així obtenim la quantitat de glutatión continguda en 100 cc. de sang. La quantitat aquesta resulta expressada en mil·ligrams, es refereix a glutatión reduït.

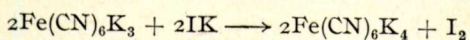
Els càlculs els fem atenent a les dues reaccions següents (expressades en ions):



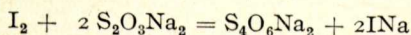
i la resta de ferricianur és valorat de la següent manera:



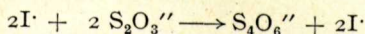
que traduïda a la química antiga és la següent:



Cada ion ferricianhídric equival a 1 molècula de glutatión reduït de pes molecular 307; cada ion ferricianhídric equival a un ion de iode, i a un de tiosulfat.



que en ions és:



per tant,

Mole de glutatión.....	1000 cc. sol. n de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$
307 gr. de glutatión.....	1000 cc. sol. n de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$
307/200 gr. de glutatión.....	1000 cc. n/200 de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$
0,307/200 gr. de glutatión....	1 cc. sol. n/200 de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$
0,001535 gr. de glutatión.....	1 cc. sol. n/200 de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$

Suposem que despesem x cc. de tiosulfat; farem la següent proporció:

$$2,5 \text{ cc. de sang} : 0,001535 x = 100 : i \quad i = \frac{0,1535 x}{2,5} \quad i = 61,4 x$$

o sigui que s'ha de multiplicar el nombre de centímetres cúbics d'hiosulfít trobats per 61'4, per tal d'obtenir en mil·ligrams la quantitat de glutatión expressat en fórmula reduïda que hi ha en 100 cc. de sang total.

Quant a la glutatièmia normal, he de dir que, revisant els treballs apareguts aquests últims temps, donen unes xifres tan diferents com algunes de les que vaig a copiar:

Achard.....	de 50,7 a 70,6 mil·ligrams en 100 cc. de sang
Vilar.....	de 40 a 56
Fournieles.....	de 30 a 45
Fiessinger.....	de 25 a 40
Gabbe.....	de 31 a 37
Gabbe (1929).....	de 24 a 46
Kitamura (H.)....	de 20 a 32
Kitamura (D.)....	de 17 a 30
Delaville (1931)....	de 45 a 60

Altres autors han dit que el límit superior normal pot arribar fins a 76.

Quant a la glutatièmia patològica, direm que, mentre Kitamura troba, en diabètics, el glutation un 20 per 100 més baix que en normals (14 a 29), Vilar troba 39 mil·ligrams per 100. (Cosa que solament pot explicar-se si es tenen al davant les xifres normals que ha donat cada un d'ells.)

No vull citar més casos; diré, com a justificació de tot això, que la causa de tals diferències és la desorientació que hi ha hagut fins ara, no solament quant a la constitució i al pes molecular, del glutation, sinó que també als procediments de valoració, puix que la sola varietat llur ja ens indica que no n'hi ha un que satisfaci plenament. Això ens ha portat a què els valors normals i patològics de glutatièmia trobats per diferents autors, en general no coincideixen.

A més, hi ha qui valora el glutation total, altres el reduït, altres l'oxidat, i que, en expressar els resultats, ho fan en glutation sulfhidrilat, o glutation disulfur, però en donar compte de llurs resultats, no acostumen a dir-ho, sinó que ho expressen sota el nom genèric de glutation, i l'investigador, o el que vol documentar-se, queda completament desorientat. Així mateix puc citar el cas d'una comunicació presentada aquest any 1933 a la Societat de Biologia de Lió, i que es troba extractada en els corresponents comptes rendus, en què l'autor creu

encara que el glutatión és un dipeptid, i sort es té que, en examinar detingudament el treball, hom es dóna compte que li atribueix el pes molecular 250, i així pot fer-se la translació, però no passa el mateix en la majoria dels autors, cosa que, com ha dit, dificulta l'aprofitament dels resultats.

CONCLUSIONS

Per tot el que resta exposat he cregut necessari portar encara aquest tema a la Societat, perquè, degut a la importància que cada dia més va agafant el glutatión, es vagi a una unificació no solament en el que fa referència als procediments de valoració, sinó que també a la manera d'expressar els resultats. Si no, s'arriba a una unificació en aquest sentit, degut a la quantitat d'investigadors que treballen sobre això, dintre poc temps no serà possible d'entendre'ns, car la majoria de resultats difereixen.

Com que no sabem que hi hagi hagut ningú que s'hagi preocupat d'aquesta unificació, jo, amb el temps que porto treballant en aquest sentit, m'inclino a creure que el mètode de Gabbe, en la forma que he exposat, és el que reuneix millors condicions en general, i aquest criteri l'he trobat acceptat per altres autors. Amb tot, he descrit esquemàticament els principals procediments, per si algú vol emprendre investigacions en aquest sentit, i hi troba quelcom aprofitable al seu entendre.

Pel que respecta la forma d'expressar els resultats, crec que la de glutatión reduït és la manera racional, car és la fórmula que correspon al veritable glutatión, i, a més, la de pes molecular baix. Sempre que no es digui una altra cosa, s'entendrà també que es tracta de glutatión total.

Penso continuar les recerques sobre els ja abundants resultats clínics obtinguts, en el sentit de veure la part que en la reducció Y, té el glutatión, precipitant els hematies, sense hemolisar-los, i dosificant després en aquests glòbuls rojos el tripeptid, que és on està contingut exclusivament, i que probablement serà el procediment que s'haurà de seguir en l'esdevenidor per a determinar rigorosament la glutatièmia, tal com ara per ara es veu el problema.

Seguint aquestes normes, m'abstinc de donar resultats de glutatièmia normal, per tal com encara no he pogut recollir un nombre el suficient de dades perquè tinguin valor, i tots sabem el difícil que és procurar-se individus completament normals per a aquesta classe de determinacions.

*Laboratori Químic
del doctor Amat i Bargués,
Barcelona.*

BIBLIOGRAFIA

- Grassmann, Schoenenbeck i Eibeler, Zeits., f. Phy. Chem., cxciv, 124; 1931.
Binet, Paris Médical, 1927.
Giroud, C. R. Soc. Biol., xcvi, 376; 1928.
Pirie, Jour. Biol. Chem., lxxxiv, 321; 1929.
Kendall, Amer. J. Physiol., xc, 409; 1929.
Hopkins, Jour. Biol. Chem., lxxxiv, 269; 1929.
Nicolet, Science, 589; 1930.
Lecloux, C. R. Soc. Biol., xcvi, 1823, 1927.
San Román, Archiv. Esp. Onco., II, 233; 1931-2.
Litarzecz et Dinischiotu, C. R. Soc. Biol., cxii, 1011 i 1014, 1933, i cxiv, 287, 1933.
Delaville i Kowarski, Bioc. Zeits., ccxxx, 353; 1931.
Jowet i Quastel, Bioch. Journ., xxvii, 486; 1933.
Rapkine, C. R. Soc. Biol., cxii, 790; 1933.
Litarzecz, Soc. Biol. de Bucarest, 193; 1932-33.
Braier i Marenzi (Sullivan), Journ. of. Biol. Chem., lxxvii; 1926.
E. Robles Soldevila, Arc. Esp. de Onco., III, 39; 1932.
Yagi i Nakakara, Bioch. Jour., xxi, 6; 1927.
Kitamura, Studien über Glutation. Chem. Zb., xi, 13; 1930.
Okuda, Jour. Bioch., xi, 183; 1929.
Formieles Ulibarri, Arc. Esp. de Onc., I, 349; 1930.
Gebbe, Amer. J. Phys., xc, 354; 1929.