

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CORDOBA

Trabajos presentados en la sesión del 18 de Octubre 1934
(Presidencia del Prof. Ferdinando Strada)

- 1º.) **Dr. Gabriel Brusco:** Razas de bacteriófagos aisladas en Córdoba.
- 2º.) **Alberto Marsal:** Acción de los derivados de la tiro-sina en la hipertireosis: la tirosil-tirosina.
-

RAZAS DE BACTERIOFAGOS AISLADAS EN CORDOBA

Por el Dr. Gabriel R. Brusco

Para aislar el bacteriófago del medio en que se encuentra, he utilizado siempre la filtración. Sin embargo, cuando la procedencia del material en el cual deseamos investigar el bacteriófago, es dudosa o está francamente contaminado, debemos hacer actuar el calor para separar otros posibles virus filtrables que no resisten las temperaturas altas como el bacteriófago. De todos modos, teniendo en cuenta que el calor atenúa la virulencia del agente lítico, hay que recurrir siempre — en lo posible — a la filtración y luego purificarlo por pases sucesivos, ya que las numerosas diluciones a que es sometido el líquido original para ese efecto, a la vez que contribuyen a cultivar el bacteriófago, eliminan los virus asociados por dilución.

Mis investigaciones datan desde el año 1931, tratando de hallar un bacteriófago anti-estafilocócico. El material procedía de forúnculos, abscesos, etc., aislándose diversas cepas de estafilococos. El procedimiento empleado consiste en lo siguiente: una

vez aislada la cepa elegida, se hace una primera cultura en caldo y al cabo de 24 horas se filtra por tierra de infusorios y luego por bujía (1); este filtrado se inocula a una nueva cultura de 24 horas y se hacen pases hasta que obtengamos lisis bacterianas más o menos completas, lo que nos indicará la presencia del bacteriófago. En esta forma no conseguí obtener el agente lítico, ni aun efectuando numerosos pases (hasta 12 en un caso). Posteriormente modifiqué la técnica haciendo las inoculaciones, no en culturas de 24 horas, sino en emulsiones recientes del estafilococo, buscando el momento crítico de la reproducción de los gérmenes como el más apropiado para la bacteriofagia; tampoco he conseguido lisar estas emulsiones. El mismo resultado negativo se obtuvo ampliando considerablemente la cantidad de filtrado añadido a la emulsión. Se operó a 37 grados y a la temperatura del laboratorio. Conviene agregar, que las razas de bacteriófagos así aisladas por otros investigadores, son por lo general, activas solamente para el germen en experiencia y sin acción sobre las cepas de otro origen. Debemos, por el contrario, procurarnos bacteriófagos polivalentes, condición de suma importancia e imprescindible para su aplicación terapéutica.

Investigación y aislamiento del bacteriófago en el agua cloacal. — Este trabajo puede subdividirse en: a) Investigación del bacteriófago del grupo *coli-tifo-paratífico*; b) investigación del bacteriófago anti-estafilocócico, basado en los trabajos de Bulgakov y Sertie que luego mencionaré.

a) Investigación del bacteriófago del grupo *coli-tifo-paratíficos*.

Se utilizaron muestras de agua tomadas a la salida de los tanques sépticos (General Paz).

Las muestras se separan en varias partes. Con una de ellas hacemos una investigación directa: se filtra por tierra de infusorios y luego por bujía. De este filtrado reservamos una parte para comprobar su esterilidad, haciendo siembras en caldo y agar; la otra parte la hacemos actuar sobre emulsiones recientes de cepas distintas de *coli* y estafilococo. Estas emulsiones se hacen

(1) He utilizado en todas mis experiencias la bujía Berkefeld N, montada en frascos de Kitasato y esterilizada al autoclave.

con una concentración de 250.000.000 de gérmenes por c. c. aproximadamente, según aconseja d'Herelle. Se inocula cada tubo con cinco gotas de filtrado de agua, pudiéndose hacer otra serie testigo sin añadirle el filtrado en experiencia. Estufa a 37 grados. Observación a las 24 horas: el tubo de coli 38 y el de las cepas A y B de estafilococo, muy turbios; la emulsión de coli 2, mucho menos turbio. Por pases sucesivos llegué a obtener un principio lítico bastante activo para esa cepa de coli.

La investigación que podríamos llamar indirecta, consiste en sembrar el agua en caldo peptonizado: en dos balones conteniendo cada uno 150 cc. de caldo (2) vierto 30 cc. de agua, directamente del frasco en que ha sido recogida. Estufa a 37 grados, durante 18 horas. Al cabo de ese tiempo los balones muestran un contenido muy turbio y con sedimento abundante. Se filtra por tierra de infusorios (dos veces) y luego por bujía. Este filtrado demuestra ser muy activo para la cepa 2 de coli comuna y en el primer pase lisa una emulsión normal en 14 horas (lisis total). Con los pases sucesivos aumenta su poder lítico (5 horas, lisis total); no se observaron jamás culturas secundarias. Muchos tubos permanecieron a la temperatura del laboratorio durante algunos meses sin enturbiarse y actualmente conservo lisados en ampollas perfectamente lípidos (tres años). En medios sólidos se comportó inhibiendo la cultura de la cepa sensible a diluciones débiles; las diluciones más fuertes, mostraban la formación de las placas características, en mayor o menor número.

Este coli-fago, se comportó con otras razas de coli comuna de esta manera: lisis incompleta y formación de culturas secundarias con dos cepas de cultura de orina; demostró acción débil sobre un coli aislado de materia fecal, atenuándose pronto su virulencia; fué activo sobre otra cepa aislada de orina, sin dar tampoco culturas secundarias (3). No lisa emulsiones o culturas jóve-

(2) He utilizado generalmente el caldo común de carne de vaca, peptonizado al 1%, Ph 7,6 — 7,8.

(3) Como en general el coli se emulsiona muy mal en caldo — todo lo contrario del estafilococo — es preferible y así lo he hecho, preparar culturas jóvenes de pocas horas y esperar el grado de enturbiamiento adecuado a la concentración de gérmenes por cc. Operamos así sobre una cultura joven, bien emulsionada y en pleno estado de multiplicación.

nes de dos cepas de Eberth y una de paratífico A; lisa aunque no completamente una muestra de paratífico B; no tiene acción sobre las cepas A y B de estafilococo.

Por tanto podemos resumir que hemos encontrado un bacteriófago activo para algunas cepas de coli comune y poco virulento o sin acción sobre otras; es inactivo para gérmenes de la misma especie y también para el estafilococo.

Posteriores tomas de agua del mismo origen, demostraron la presencia de un coli-fago, con las mismas características que el anteriormente descrito, comportándose de la misma manera sobre las cepas de coli ya experimentadas, por lo que supongo que la presencia en el agua cloacal sea constante, según lo comunicué oportunamente en una nota previa. (4)

b) Investigación del bacteriófago anti-estafilocócico.

En ocasión de estudiar el agua cloacal investigando el coli-fago y basado en una publicación de Bulgakov y Sertic sobre la presencia de razas muy virulentas de bacteriófagos para el estafilo y esteptococo en aguas de la misma calidad de Dubrovnik (Yugoeslavia) y París, realicé las investigaciones en nuestra ciudad con un resultado halagador, confirmando así la presunción de dichos autores, quienes terminan su comunicación en los siguientes términos: "Nuestras experiencias demuestran que un examen regular de las aguas cloacales permite obtener, no solamente un bacteriófago activo sobre los microbios de la flora intestinal normal o patológica, sino también para las bacterias de las afecciones piógenas y que estos bacteriófagos pueden ser potentes, tanto del punto de vista de la virulencia, como de la polivalencia y de la adaptabilidad a los agentes de destrucción". (5)

En la comunicación de referencia, los autores no mencionan la técnica que han seguido, pero uno de ellos (6), en una

(4) Rev. del Centro de Est. de Medicina. Córdoba, año I, No. 5, 1932.

(5) Sur des races Staphyphages isolées de l'eau d'égout. Nota de Bulgakov y Sertic presentada por F. d'Herelle. Comp. Rendus de la Soc. de Biol. Año 1930, V. 104, pág. 1258.

(6) Sur des races de bacteriophages virulents pour les Streptococques. Nota de V. Sertic presentada por Girard. Comp. Rendus de la Soc. de Biol. Año 1929, V. 102, pág. 982.

nota anterior investigando la presencia de estrepto-fagos también en el agua cloacal, explica el método empleado, método que he modificado algo. En efecto, Sertic emplea el medio de Asheshov, que es un caldo especial a digestión concentrada, cuya principal ventaja es la de poder cultivar grandes cantidades de agua con relativo poco volumen de medio nutritivo (7). Nosotros hemos empleado el caldo común según he anotado antes y siguiendo la técnica que expongo a continuación.

En un balón que contiene 200 cc. de caldo, agrego otros 200 cc. de agua. Se mezcla bien y se lleva a un Ph. de 7,8. Por otro lado tenemos una cultura de 12 horas en caldo (unos 12 cc.) de las cepas A y B de estafilococo, la cual es agregada al balón. Se coloca a 37°. durante 18-20 horas, se filtra por tierra de infusorios y por bujía y se busca en el filtrado la presencia del agente lítico.

El filtrado así obtenido, se inocular en cantidades diversas, 5, 10 y 15 gotas a emulsiones recientes de las cepas A y B de estafilococo, dispuestas en seis tubos. A las 24 horas se observa lisis parcial en todos los tubos. Se filtra el contenido de todos por bujía y se inocular la mezcla de nuevo a otras emulsiones recientes (5 gotas). Esta vez se obtiene una lisis casi total al cabo de 18 horas; filtro de nuevo y así sucesivamente hago numerosos pases, los cuales a la vez que exaltan la virulencia del bacteriófago, lo ponen en contacto con nuevas cepas de gérmenes sensibles purificándose a expensas de ellas.

Las características del bacteriófago hallado son las siguientes:

Polivalencia. — Hasta la fecha nuestro bacteriófago ha sido experimentado con 72 cepas distintas de estafilococos. Estas cepas son de procedencia variada: forúnculos, ántrax, abscesos (de mama, perinefríticos, subcutáneos, etc.), osteomielitis, piodermis, un caso de pleuresía (Dr. Rennella), etc. Cada cepa ha sido aislada convenientemente y clasificada como estafilococo aureus. Del total antes apuntado, 70 han sido lisadas y

(7) Este medio se encuentra descrito en el V 92, año 1925, pág. 360 de Comptes Rendus.

en los otros dos casos, ambos diabéticos (8) se comportó de esta manera: en uno de ellos con enorme ántrax de espalda, no demostró la menor acción lítica; el otro caso, se trataba de un enfermo anciano, con periostitis y absceso de la pierna, cuyo germen resistente al principio, después de algunos pases terminó por ser lisado aunque dando culturas secundarias. De modo que sobre 72 razas diferentes experimentadas, en 70 casos fué activo (lisis total), dando por lo tanto un porcentaje de 97,1 de razas sensibles al bacteriófago.

Acción en medios líquidos. — Siempre he trabajado con emulsiones recientes o cultivos muy jóvenes en caldo y por lo general a la temperatura de 35 — 37 grados. Las emulsiones deben ser hechas de culturas sobre gelosa, de no más de 24 ó 36 horas.

El principio lítico se comportó como un verdadero ultravirus, exaltándose o atenuándose su virulencia según las condiciones del medio y mostrándose más activo para unas razas de estafilococos que para otras. En la gran mayoría de los casos, al primer pase obteníamos ya una lisis total y solamente en contadas ocasiones han dado los lisados sin filtrar, lugar al desarrollo de culturas secundarias (he conservado durante meses y años tubos y ampollas conteniendo culturas lisadas, sin pasar por bujía, perfectamente lípidas). Esta es una condición esencial para hablar de un bacteriófago muy virulento.

Titulando una suspensión de corpúsculos bacteriófagos por el procedimiento de las diluciones, obtengo que la última dilución activa es de 10^{-7} . Lisis total en 19 horas, no hay formación de cultura secundaria. Esta dilución corresponde a una diezmilésima de cc. (d'Herelle).

Respecto a la titulación, no he encontrado diferencia apreciable entre un lisado filtrado por bujía y uno no filtrado. Ha-

(8) Este año, en un diabético portador de un enorme ántrax de espalda operado por el Dr. de Goicoechea, he observado también esta resistencia del germen con respecto al bacteriófago, aunque en este caso después del tercer pase fué lisado sin dar cultura secundaria. A la par que es interesante llamar la atención sobre el hecho que he anotado, es indudable que "in vitro" el germen aislado de un proceso supurado de un diabético, presenta una cierta resistencia a la acción lítica del bacteriófago.

go esta salvedad porque sabemos que ciertas substancias, entre las cuales se encuentra la tierra de infusorios (de la que están hechas las bujías Berkefeld), tienen la propiedad de adsorber o retener un cierto número de corpúsculos. En efecto, la adsorsión es uno de los múltiples factores que intervienen en la filtración, operación muy compleja y mal conocida. Por esta causa algunos autores substituyen la filtración, por la ultrafiltración a través de sacos de colodion, pero esta es de una manipulación más delicada y no de práctica corriente.

Acción en medios sólidos. — Empleo la gelosa al 2 %, Ph 7,8. Las placas características, que son verdaderas colonias de bacteriófagos, se presentan en mayor o menor número según la dilución de la cultura lisada. Opero diseminando sobre la gelosa una fina capa de gérmenes y luego de una estadía en la estufa hasta de cuatro horas, agrego con el asa de platino, mezclando bien en superficie la dilución de bacteriófago. También puede pasarse simplemente el asa en una sola dirección para apreciar mejor la parte en que han sido depositados los corpúsculos y según la virulencia y el número de ellos obtendremos, o bien la formación de placas en cantidad variable, o bien la falta de desarrollo de la cultura. Se puede también inocular previamente una cultura joven o una emulsión con un bacteriófago específico y después hacer la diseminación sobre la gelosa.

Nuestro bacteriófago impide el desarrollo de la bacteria sensible diluído a la concentración de 10^{-2} ; a la concentración de 10^{-3} y 10^{-4} se observan algunas pocas colonias; en diluciones mayores aparecen las placas hasta 10^{-7} (muy escasas). A mayor dilución, la cultura se desarrolla normalmente.

Resistencia al calor. — En ampollas cerradas a la lámpara, el estafilo-fago se inactiva a 70 grados durante 50 minutos.

Octubre de 1934.

**CATEDRA DE QUIMICA BIOLOGICA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA****Prof. Dr. Guillermo V. Stuckert****ACCION DE LOS DERIVADOS DE LA TIROSINA EN LA
HIPERTIREOSIS: LA TIROSIL-TIROSINA**

P O R

Alberto Marsal

(Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra)

Después de la síntesis de la tiroxina por Harington y Barger, numerosos investigadores estudiaron los efectos fisiológicos de diversos productos que poseían una fórmula parecida a la de la hormona tiroidea: Abderhalden y Wertheim estudiaron la tiroxamina, diyodotirosina, 3—5 diyodotironina, tetrabromotiroxina, etc.; Romeis la 3—5 diyodotirosina; Gaddum la isotiroxina, diyodotirosina, tiroxamina, acetyl y diacetyl tiroxina, la gliciltiroxina y la alaniltiroxina; Abderhalden y Schwab la leuciltiroxina, etc. Todos estos investigadores llegaron a la conclusión de que la molécula de tiroxina representaba la constitución química más favorable para el efecto fisiológico deseado, cualquier variación que se introducía en la fórmula de la hormona, hacía decrecer la acción biológica de ésta y se llegó a establecer como ley, que solamente eran activos los productos tetrahalogenados que llevasen iodo, por lo menos en la posición 3 y 5 del anillo aromático.

Abelin ha vuelto a estudiar la 3—5 diyodotirosina, que se había mostrado muy poco activa en los trabajos de Romeis, Abderhalden y Wertheim y en los de Gaddum, quienes encontraron que su efecto sobre la metamorfosis de los renacuajos era 200 veces menor que el obtenido con tiroxina. Abelin en sus estudios usó animales previamente tratados, de manera que sus tiroides se

encontraban excitados; frente a estas hipertirosis experimentales la 3—5 diyodotirosina demostró la propiedad de moderar la hiperfunción tiroidea. Posteriormente el mismo Abelin ha estudiado la acción de la 3—5 dibromotirosina que resultó también activa frente al tiroides hiperfuncionante. Abelin y Wegelin y por otra parte Elmer, demostraron que el tiroides de cobayos infantiles tratados con diyodotirosina y simultáneamente con la fracción tirotrópica del extracto de lóbulo anterior de hipófisis no presentaba las alteraciones histológicas que son comunes en los animales que reciben únicamente tiro-estimulina. Como consecuencia de estos trabajos se ha empleado en Clínica la diyodotirosina y se ha visto que en los enfermos hipertiroideos, esta droga produce una sedación de los síntomas tirotóxicos.

En vista de esta acción sobre el tiroides de los dos derivados de la tirosina, hemos estudiado en este trabajo la posible acción similar de una combinación no halogenada de la tirosina, deseando observar si el efecto de la diyodotirosina era debido al núcleo tirosina. El deseo de usar un producto muy soluble en el agua que nos permitiera el empleo de la vía parenteral y que a su vez poseyera una elevada proporción de tirosina, nos llevó al empleo del dipéptido tirosil-tirosina.

Hemos preparado la tirosil-tirosina por el mismo procedimiento usado por Emil Fischer y Walter Schrauth para su primera síntesis en el año 1907 ⁽¹⁾ y con ella preparábamos una solución acuosa

(1) El procedimiento comprende cuatro etapas: A) Preparación del clorhidrato del ester metílico de la tirosina: 10 gr. de tirosina son suspendidos en alcohol metílico anhidro y luego se hace pasar una corriente de ácido clorhídrico gaseoso y seco, hasta disolución de la tirosina; previa concentración, cristaliza el clorhidrato del ester metílico.

B) Obtención del ester metílico de la tirosina: El clorhidrato del ester metílico de la tirosina es disuelto en la menor cantidad de agua posible y se la añade un exceso de solución concentrada de carbonato de potasio, obteniéndose así la precipitación del ester libre, el cual es extraído mediante agitación con éter acético. La solución obtenida es destilada al vacío, de tal manera que queda el ester metílico de la tirosina.

C) Preparación del anhídrido tirosínico: El ester metílico de tirosina es calentado en baño de aceite a 135-140 grados durante media hora, con lo cual la masa funde y toma un color rojizo. El producto es lavado con ácido clorhídrico diluido y luego disuelto en amoníaco concentrado a la temperatura de la ebullición. La so-

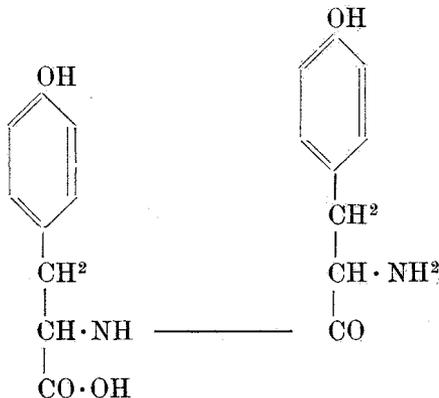
sa que contenía 0.20 gr. del dipéptido por centímetro cúbico, la cual repartida en ampollas era esterilizada por ebullición a 100 grados en tres días seguidos; estas ampollas se conservan bien a condición de haber eliminado perfectamente el anhídrido tirosínico que siempre impurifica el dipéptido.

ESTUDIO DE LA ACCION DE LA TIROSIL-TIROSINA SOBRE EL GLUCOGENO

Es un hecho muy conocido que la tiroxina, aún a dosis mínimas moviliza el glucógeno hepático, de tal manera que poco después de una inyección de esta hormona a una laucha blanca, no se encuentra glucógeno en su hígado. Nosotros deseamos investigar si la tirosil-tirosina era capaz de impedir este efecto de la tiroxina y para ello tomamos una cantidad de lauchas blancas de igual peso (15 a 20 gr.) y sometidas a la misma alimen-

lución amoniacal es decolorada con carbón animal y luego hervida hasta que por evaporación del amoniaco se precipite el anhídrido tirosínico.

D) Obtención de la tirosil-tirosina: 2 gr. de anhídrido tirosínico son disueltos en 19 cc. de solución 3,50 veces normal de hidrato sódico y 20 cc. de agua; la solución obtenida se mantiene durante 7 días a una temperatura de 37 grados. Luego es neutralizada con 19 cc. de ácido sulfúrico 3,50 veces normal y la solución es vertida en 300 cc. de alcohol etílico absoluto, con lo cual precipita el sulfato de sodio. La solución alcohólica del dipéptido es evaporada al vacío y el residuo que queda es disuelto en 10 cc. de agua, se filtra y se vuelve a evaporar. Este último producto constituye la tirosil-tirosina que hemos empleado en nuestro trabajo. Greenstein atribuye a este dipéptido la siguiente fórmula:



tación de pan con leche. A un lote de 6 lauchas se les inyectó por vía intraperitoneal 0.0005 gr. de tiroxina diariamente, durante 2 días y simultáneamente 0.10 gr. de tirosil-tirosina a cada animalito. Otro lote de 6 lauchas recibió 0.0002 gr. de tiroxina y 0.10 gr. de dipéptido. Finalmente otros dos animales sólo recibieron 0.0005 gr. de tiroxina, diluída de tal modo de que el volumen de líquido inyectado era igual en todos los animales. Seis horas después de la última inyección, todos los animalitos fueron privados de nuevo alimento y dos horas después sacrificados mediante cloroformo. El hígado de cada animal fué sometido inmediatamente al reconocimiento del glucógeno por el método clásico de Pflüger. No pudimos demostrar la existencia de glucógeno en el hígado de los animales tratados con la mezcla tiroxina y tirosil-tirosina, ni tampoco, claro está, en el de los testigos tratados con tiroxina solamente.

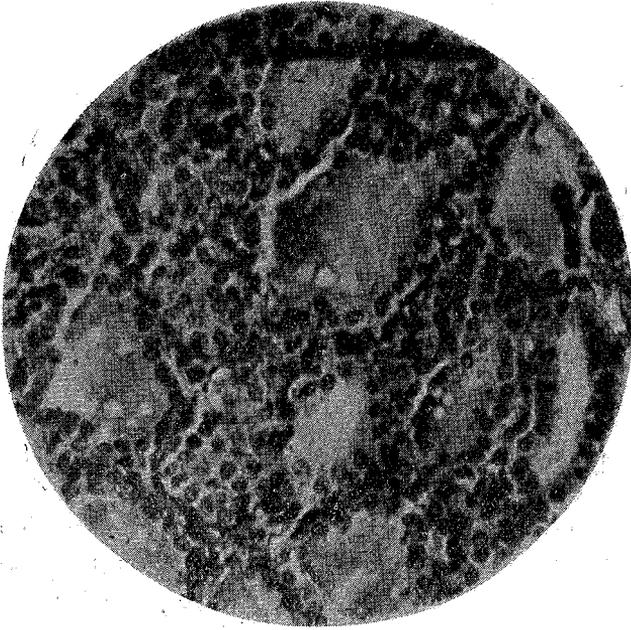
Conclusión de la experiencia: La tirosil-tirosina no impide la desaparición del glucógeno hepático en la hipertireosis experimental de la laucha.

ACCION DE LA TIROSIL-TIROSINA EN EL CUADRO HISTOLOGICO DE LA HIPERTIREOSIS EXPERIMENTAL

Loeser ha podido separar del extracto de lóbulo anterior de hipófisis una fracción que presenta una acción específica sobre el desarrollo del tiroides, esta fracción es conocida con el nombre de hormona tirotrópica y produce un rápido cambio de la histología del tiroides del cobayo infantil. Si se hacen cortes histológicos de tiroides de cobayos pequeños cuyo peso no pase de 150 gr., se observa el aspecto de la microfotografía N° 1 donde los folículos tiroideos presentan abundante coloide que se tiñe muy bien con la eosina, el epitelio aparece de tipo aplanado; todo lo cual indica el estado de reposo de la glándula.

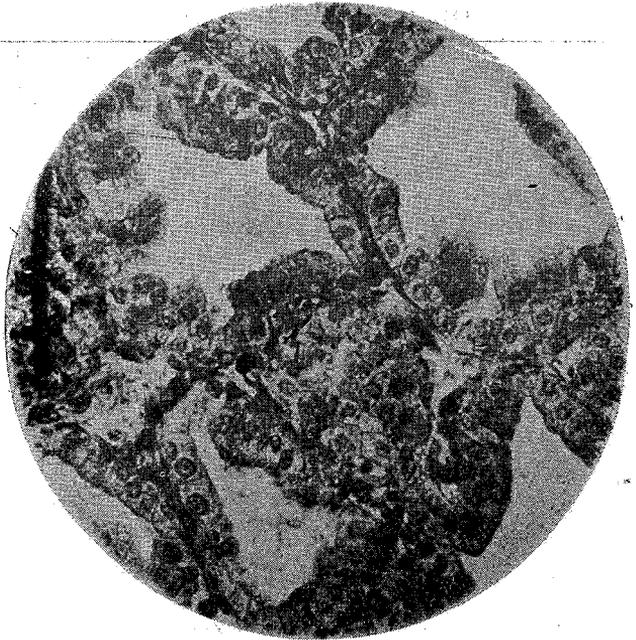
A un lote de tres cobayos de igual peso que los anteriores, se les inyectó diariamente 0.02 gr. de fracción tirotrópica preparada por el procedimiento de Loeser (2) y estas inyecciones se re-

(2) Preparada en los Laboratorios Zimasa de Buenos Aires.

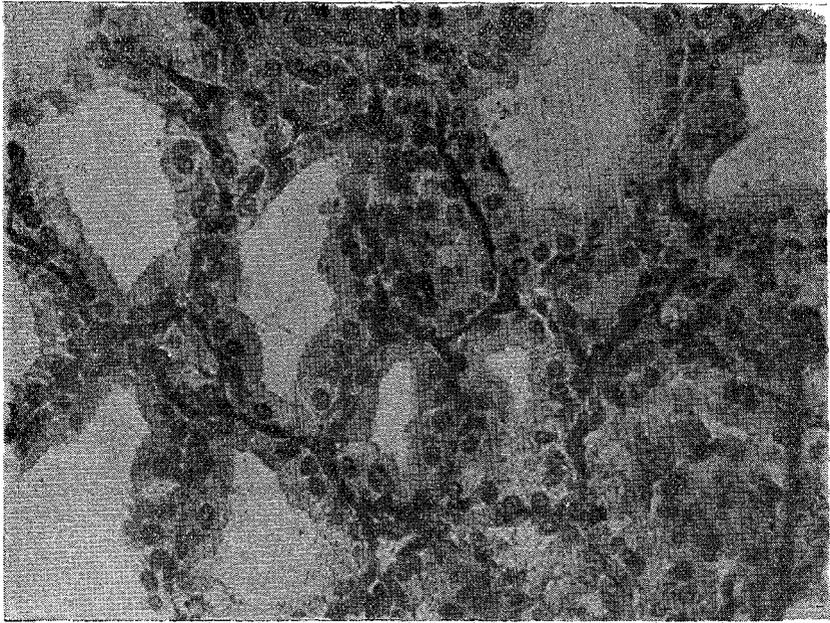


Microfotografía
N° 1. — Colo-
ración: Eosina-
hematoxilina. —
Aumento: 800
diámetros.

Microfotografía
N° 2. — Misma
coloración y au-
mento microscó-
pico.



pitieron durante tres días consecutivos, al cabo de los cuales se hicieron cortes histológicos de sus tiroides previa fijación en líquido de Bouin. La microfotografía N° 2 corresponde a uno de estos animales y en ella pueden apreciarse las imágenes que según los estudios de Loeb, Mac Carrinson y otros autores, corresponden al estado de hiperfunción tiroidea: Disminución o ausencia de coloi-
de que se colorea mal por la eosina, epitelio muy desarrollado con forma cúbica, aumento de la irrigación sanguínea, etc.



Microfotografía N° 3.

A otro lote de tres cobayos de iguales condiciones que los anteriores, se les inyectó diariamente 0.02 gr. de hormona tirotrópica y simultáneamente 0.10 gr. de tirosil-tirosina, durante tres días seguidos. En la microfotografía N° 3 se pueden apreciar los caracteres de la hiperfunción tiroidea descriptos más arriba.

Conclusiones de la experiencia: La tirosil-tirosina no impide el cambio del cuadro histológico del tiroides del cobayo tratado con hormona tirotrópica.

Conclusiones finales: La tirosina administrada a fuertes dosis, en forma de dipéptido y por vía parenteral, es inactiva frente a las modificaciones del glucógeno hepático y de la histología tiroidea en la hipertireosis experimental. No es posible explicar la acción de la diiodotirosina por su simple contenido en tirosina..

BIBLIOGRAFIA

- Harington:** The Thyroid Gland. London 1933.
- Abderhalden und Wertheim:** Studien über den Einfluss von Substitutionen im Thyroxinmolekül auf dessen Wirkung. — Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin 1928, Bd. 63 S. 557 bis 577.
- Abderhalden und Schwab:** Studien über das Verhalten von Polypeptiden an deren Aufbau Thyroxin beteiligt ist, gegenüber Ferment und Prüfung ihres biologischen Verhaltens. Fermentforschung. J. 1930 Bd. XI S. 164 bis 169.
- Gaddum:** Quantitative observations on Thyroxine and allied substances. The Journal of Physiology 1927 Vol. 64 pág. 246-254.
- Gaddum:** Quantitative observations on Thyroxine and allied substances. II effects on the oxygen consumption of rats. The Journal of Physiology 1930. Vol. 68 pág. 383-405.
- Emil Fischer und Walter Schrauth:** Aufspaltung von Diketopiperazinen und Dipeptiden des Tyrosins. Annalen der Chemie und Pharmazie. Bd. 354 J. 1907. S. 21.
- Emil Fischer:** Synthese von Polypeptiden XXIII. Berichte der Deutsch. Chem. Gesellschaft. B. 41 J. 1908 S. 850.
- Abelin:** Varios artículos: Klinische Wochenschrift. Bd. X J. 1931. S. 2201 und S. 2205.
- Abelin und Wegelin:** Dijodtyrosin und Schilddrüsenaktivität. Klinische Wochenschrift. Bd. XI J. 1932. S. 2103.
- Loeser:** Darstellung thyreotrop wirksamer Extrakte aus Hypophysenvorderlappen Klinische Wochenschrift. J. 1932. Bd. XI S. 1271.
- Greenstein:** Studies of the peptides of trivalent amino acids. The Journal of Biological Chemistry. Vol. XCV. Año 1932. pág. 465.
- Canzanelli and Rapport:** The comparative effects upon metabolism of intravenously injected tyrosine, diiodotyrosine and tyrosine. The American Journal of Physiology. Vo. 103. February 1933, pág. 279.