



Over enkele vraagpunten betreffende fibrine en fibrinogene stof

<https://hdl.handle.net/1874/233812>

1940/192

Recd. 10 Jan. 1894

J. J. FREDERIKSE.

OVER ENKELE VRAAGPUNTEN

BETREFFENDE

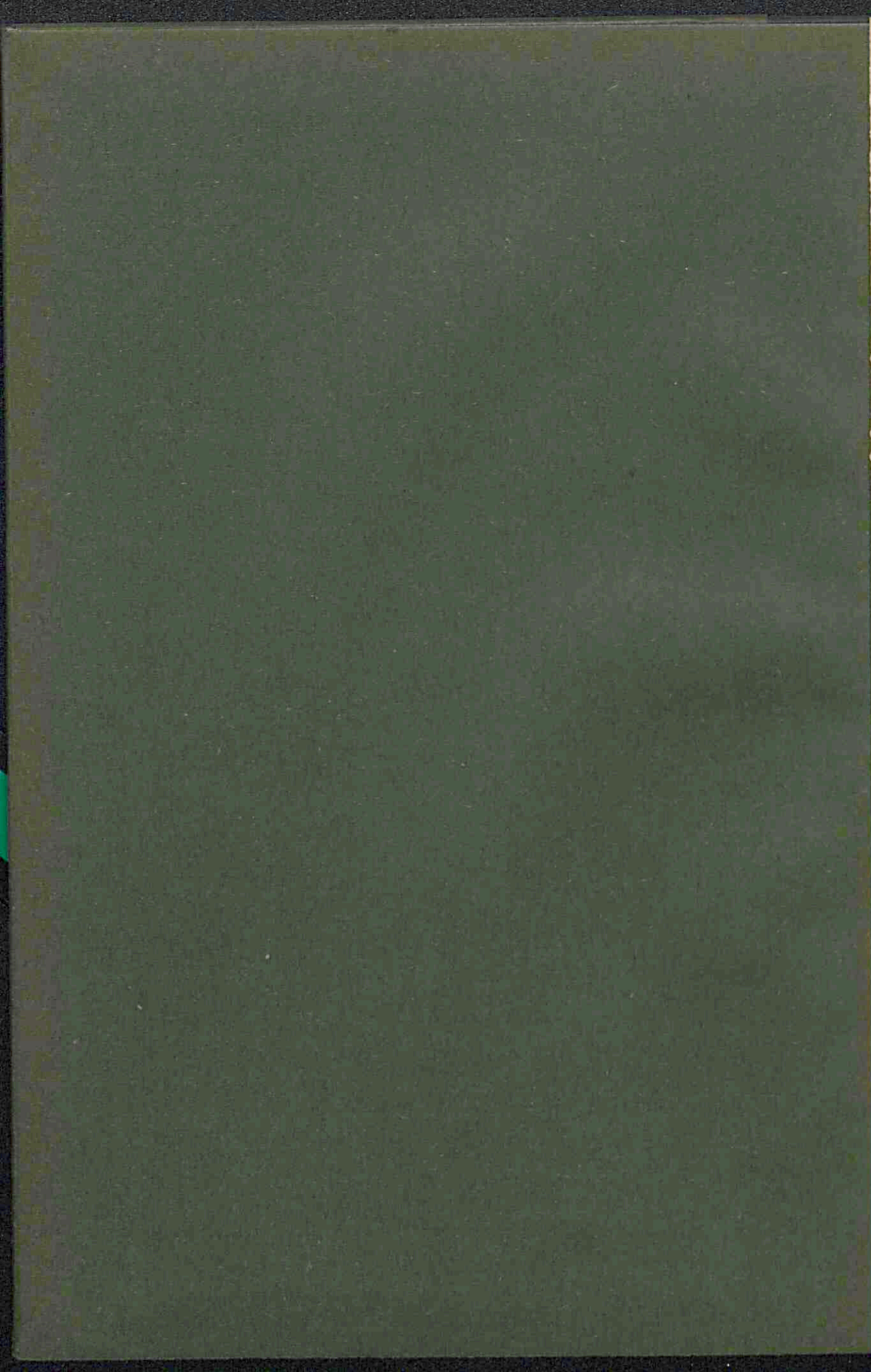
FIBRINE EN FIBRINOGENE STOF.



UTRECHT,
C. H. E. BREIJER.
1894.

A. qu.
192





OVER ENKELE VRAAGPUNTEN
BETREFFENDE
FIBRINE EN FIBRINOGENE STOF.

OVER ENKELE VRAAGPUNTEN
BETREFFENDE
FIBRINE EN FIBRINOGENE STOF.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD

VAN

Doctor in de Geneeskunde

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

NA MACTIGING VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS

MR. M. S. POLS,

Hoogleeraar in de Faculteit der Rechtsgeleerdheid,

VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN

DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Woensdag 10 Januari 1894, des namiddags te 4 uren,

DOOR

JAN JACOB FREDERIKSE,

ARTS,

GEBOREN TE ALMEN.

UTRECHT,
C. H. E. BREIJER.
1894.

BOEK- en HANDELS-DRUKKERIJ
VAN DE
FABRIEK VAN LITHOGRAPHIE STIJL
PROF. SCHRIJVER

Doctor in de Geneeskunde
VAN DE RIJSD-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
MR. M. S. POLS
DE EERSTTE DER GENEESKUNDE
IN VERBANDEN
op Wapen 10 Januarij 1894, het ambt van 4 jaren

MR. JACOB FRIEDRICKS
1894

Aan mijne Ouders.

Aan het einde van mijne Academische loopbaan is het mij eene zeer aangename taak, U, Professoren en Lectoren der Medische en Philosophische faculteit, mijn' dank te brengen voor het onderwijs, dat ik van U heb mogen genieten.

Voor al is het mij eene behoefte, U, Hooggeleerden Pekelharing, zeer gewaardeerden Promotor, te danken voor Uwe welwillende hulp, mij bij mijn onderzoek en het publiceeren daarvan in zoo ruime mate verleend. Uwe vriendschappelijke leiding en steun zullen mij steeds in dankbare herinnering blijven.

Ook kan ik niet nalaten, U, Klinische Professoren, mijn' diepgevoelden dank te betuigen voor hetgeen Gij gedaan hebt, om mij tot een praktisch medicus te vormen.

Inleiding.

Tot ongeveer op het einde der vorige eeuw was men gewoon aan te nemen, dat de stolling van het bloed veroorzaakt werd door het aaneenkleven van de in het bloed aanwezige lichaampjes.

Een van de eersten die aan deze beschouwing een einde maakte was *Hewson*, die aantoonde dat onder sommige omstandigheden, koude o. a. het bloed vloeibaar bleef; werd dan het plasma gescheiden van de bloedlichaampjes zoo stolde de vloeistof toch.

Eenige jaren later ontdekte *Buchanan*, dat vele se-reuse vochten, die spontaan niet stolden, door toevoeging van een deel van de crusta phlogistica tot stolling gebracht konden worden en daar deze crusta grootendeels uit witte bloedlichaampjes bestond, nam hij aan dat er een verband moest bestaan tusschen die lichaampjes en de stolling zelve.

Door onderzoekingen in 1858 van den Franschen physioloog *Denis* ¹⁾ werd gevonden, dat bloedplasma verzadigd met NaCl een neerslag gaf, hetwelk afgewaschen met verzadigde NaCl-oplossing oplosbaar in water was. Wanneer de zoo verkregene oplossing aan zich zelve werd overgelaten, stolde zij. Daaruit bleek dus dat in het bloedplasma geen fibrine als zoodanig voor-

1) Memoire sur le sang, 1859. p. 32.

komt, maar dat zij ontstaat uit door verzadiging met NaCl praecipiteerbaar eiwit, waaraan door *Denis* de naam van „plasmine” gegeven werd.

Spoedig daarna werd door *Alexander Schmidt* eene theorie omtrent de stolling van het bloed gegeven, die meer in bijzonderheden afdaalde.

Hij vond — hetgeen vroeger reeds door *Buchanan* ontdekt was — dat hydrocele vocht, dat spontaan niet stolde, door toevoeging van serum tot stolling gebracht kon worden. Daar noch het serum, noch het hydrocelevocht alleen stolden, zoo kwam *Schmidt* ¹⁾ tot de onderstelling dat in ieder dezer vloeistoffen bestanddeelen aanwezig zouden zijn, door welker samenwerking eerst fibrine zou kunnen ontstaan. Inderdaad gelukte het hem uit serum en uit hydrocelevocht door middel van verdunning met water en doorleiding van koolzuur eiwitpraecipitaten te verkrijgen, welke oplossingen ieder voor zich niet stolden, maar met elkander gemengd fibrine leverden. Hij gaf aan het uit het serum neergeslagen eiwit den naam van fibrinoplastische, aan het uit hydrocelevocht gepraecipiteerde den naam van fibrinogene stof.

Verder onderzoek bracht hem tot het besluit dat door de vermenging van deze twee stoffen alleen nog geen fibrine kon ontstaan, maar dat daarvoor nog de tuschenkomst van een op de wijze der enzymen werkende stof, het fibrineferment, vereischt werd.

Volgens *Schmidt* zouden dus fibrinogene en fibrinoplastische stof zich in het buiten de vaten gekomen bloed op het oogenblik vóór de stolling in oplossing bevinden met het fibrineferment. Door de werking van

1) Reichert und du Bois-Reymond's Archiv, 1861.

het ferment zouden zich dan deze twee eiwitstoffen tot fibrine, een oplosbaar of althans moeielijk oplosbaar eiwit, verbinden.

Ofschoon deze opvatting langen tijd bij velen als goed gegroundvest gegolden heeft, zijn daartegen toch al aanstonds door verschillende onderzoekers, *Eichwald*, *Heijnsius*, *Hammarsten* en anderen bedenkingen geopperd. In het bijzonder werd door hen de juistheid van *Schmidt's* opvatting bestreden dat de fibrine haar oorsprong vinden zou in de verbinding van twee globulinen, fibrinogene en fibrinoplastische stof, met elkander.

Dat de paraglobuline, *Schmidt's* fibrinoplastische stof, niet noodig is voor de vorming van fibrine, is door *Hammarsten* op overtuigende wijze aangetoond.

Aangezien echter *Schmidt*, blijkens zijn laatste werk ¹⁾, nog altijd aan zijne oude opvatting blijft vasthouden en het ook door *Hammarsten* zelven eenigermate in het onzekere gelaten is of bij de stolling van het bloed de paraglobuline al dan niet geheel onwerkzaam is, heb ik eenige proeven verricht met het doel iets tot de kennis van de rol der paraglobuline bij te dragen. Voordat ik tot de mededeeling daarvan overga, zal ik eerst de hoofdpunten uit den tusschen *Hammarsten* en *Schmidt* gevoerden strijd in korte trekken vermelden.

1) Zur Blutlehre, Leipzig 1892.

HOOFDSTUK I.

Historisch Overzicht.

Volgens *Schmidt's* hypothese zou de fibrine uit het bloed ontstaan door eene chemische verbinding van twee eiwitstoffen, de fibrinoplastische stof (*Schmidt*) of serumglobuline (*Weyl*) of paraglobuline (*Kühne*) en de fibrinogene stof onder invloed van een ferment.

De meening dat paraglobuline voor de vorming van fibrine onontbeerlijk zou zijn, steunde vooral op de volgende twee feiten.

1°. dat er sommige hydrocelevochten zijn, die noch alleen, noch door toevoeging van ferment stollen, maar wel bij toevoeging van paraglobuline met ferment.

2°. dat door toevoeging van paraglobuline aan eene fibrinogeen bevattende vloeistof het gewicht van de fibrine vermeerderd kon worden, ja zelfs tot 6 maal het oorspronkelijk gewicht.

Het eerste feit was schijnbaar een hechte steunpilaar voor *Schmidt's* theorie, maar door *Hammarsten's* ¹⁾ onderzoekingen kwam het aan 't licht, dat ook andere stoffen hetzelfde tot stand brachten als de paraglobuline.

Hammarsten verkreeg n. l. in die sereuse vochten, welke noch spontaan, noch door toevoeging van fer-

1) Nova Acta Reg. Soc. Ups. Ser. III. Vol. X. 1879.

ment alleen stolden, door toevoeging van CaCl_2 of caseïne of door de vloeistof te neutraliseeren, stolling.

Hoewel door deze onderzoeken van *Hammarsten* *Schmidt's* hypothese onwaarschijnlijker was geworden, was daarmede nog niet zijn hypothese omvergeworpen, want tot nu was door niemand bewezen dat er geen paraglobuline in de hydrocelevochten zelve aanwezig was.

Om nu te beslissen of de vorming van fibrine mogelijk is zonder medewerking van paraglobuline, moest eerst een middel gevonden worden om zoowel fibrinogeen als ferment volkomen vrij van paraglobuline te bereiden.

Schmidt ¹⁾ had steeds het fibrinogeen bereid door uit bloedplasma de paraglobuline door koolzuur neer te slaan, en dan uit het filtraat het fibrinogeen door opnieuw koolzuur door te voeren; uit den vorm van den neerslag werd besloten wanneer de paraglobuline volkomen neergeslagen was.

Het is echter duidelijk dat het bij deze methode onmogelijk is de grens aan te geven, wanneer de paraglobuline geheel neergeslagen is; *Schmidt* had geen enkelen waarborg, dat op deze manier door hem zuiver fibrinogeen verkregen werd.

Alleen dan kon een positief antwoord op de vraag verkregen worden, wanneer uitsluitend van stoffen die zeker vrij waren van paraglobuline, gebruikt gemaakt werd.

Door onderzoeken van *Eichwald*, *Heijnsius*, en anderen waren ondertusschen de eigenschappen der eiwitstoffen nader bestudeerd, waardoor het *Hammarsten*

1) Reichert und du Bois-Reymond's Archiv. 1862. S. 428.

gelukte zuiver fibrinogeen te bereiden, nadat *Eichwald* reeds gedeeltelijk den weg gebaad had.

Eichwald had n. l. reeds gevonden dat fibrinogeen door NaCl van minder concentratie neergeslagen wordt dan paraglobuline. Door uitgebreide onderzoekingen vond *Hammarsten* dat NaCl van 12—16 pCt. fibrinogeen praecipiteert, terwijl paraglobuline geensdeels neergeslagen wordt. Nadat dit *Hammarsten* gebleken was, gaf hij de volgende methode om zuiver fibrinogeen te bereiden. ¹⁾

Bloed werd opgevangen in $\frac{1}{4}$ volumen verzadigde $MgSO_4$ -oplossing; het aldus vloeibaar gebleven bloed werd door filtreeren van de bloedlichaampjes bevrijd. Het nu verkregen plasma werd neergeslagen met een gelijk volumen verzadigde keukenzoutoplossing, het praecipitaat uitgeperst tusschen filtreerpapier, daarna opgelost in NaCl van 6—8 pCt. Opnieuw werd nu deze oplossing neergeslagen en ook weer uitgeperst en opgelost. Was deze manier van handelen drie maal herhaald zoo werd de laatste neerslag opgelost in gedestilleerd water met behulp van het er nog aanhangende zout.

Zoo verkreeg *Hammarsten* eene zuivere, niet spontaan stollende fibrinogeenoplossing, in welke noch serumalbumine, noch paraglobuline meer aangetoond kon worden. Door de onderzoekingen van *Eichwald* was het reeds bekend geworden, dat fibrinogeen verzadigd met NaCl volkomen neergeslagen wordt, indien er geen paraglobuline in de fibrinogeenoplossing meer aanwezig is. Aangezien nu de door *Hammarsten* bereide oplossing van driemaal neergeslagen fibrinogeen door verzadiging met NaCl volkomen van eiwit bevrijd werd,

1) Pflüger's Archiv. Bd. XIV, S. 220.

kon er dus van verontreiniging van deze oplossing met paraglobuline geen sprake zijn.

Gelijk boven is opgemerkt was het, om het bewijs te leveren dat fibrine door de werking van het ferment, zonder meer, kan ontstaan, noodzakelijk niet alleen de oplossing van fibrinogeen, maar ook die van het ferment volkomen van paraglobuline te bevrijden.

Tot dusver was op *Schmidt's* voetspoor het ferment steeds bereid op de volgende manier: 1 deel bloed-serum werd met 15—20 deelen sterken alcohol behandeld, waardoor de eiwitstoffen met het ferment gepraecipiteerd werden. De vloeistof bleef gedurende 14 dagen met den alcohol in aanraking, waardoor de eiwitstoffen *gecoaguleerd* werden. Nadat de vloeistof van het praecipitaat verwijderd was, werd dit boven zwavelzuur gedroogd. Deze gedroogde massa werd nu met water uitgetrokken en daarna gefiltreerd; zoo verkreeg *Schmidt* eene fermentoplossing, die wel zeer arm was aan eiwit, maar toch bij het doorleiden van koolzuur, dikwijls nog eenig praecipitaat van globuline leverde.

Deze methode volgde *Hammarsten* ook om eene fermentoplossing te maken, alleen met het onderscheid dat hij het serum minstens 3 weken met den alcohol in aanraking liet en wel met alcohol van 97 pCt.; zoo verkreeg *Hammarsten* eene zuiverder fermentoplossing, aangezien, tengevolge van de langdurige behandeling met alcohol, de coagulatie der eiwitstoffen vollediger had plaats gehad.

Hoewel *Hammarsten* nu wellicht paraglobulinevrij ferment verkregen had, vond hij, dat er nog steeds eene eiwitstof, welke ook, in aanwezig was; dus kon hij nooit met zekerheid zeggen, gewerkt te hebben met fermentoplossing vrij van paraglobuline. Om dit

bezwaar te ontgaan, bereidde *Hammarsten* ¹⁾ het ferment volgens eene nieuwe methode, daarbij uitgaande van de door hem ontdekte eigenschap der paraglobuline, volkomen uit hare oplossingen te worden neergeslagen door verzadiging met magnesiumsulfaat.

Serum van paardebloed werd bij 30° C. volkomen met magnesiumsulfaat verzadigd en gefiltreerd. Nadat gebleken was, dat het filtraat ook na toevoeging van magnesiumsulfaatkristallen helder bleef, werd het met 3 volumina water verdund en met kaliloog behandeld. Daardoor ontstond een volumineus praecipitaat van magnesiumhydroxyde, waardoor het ferment mechanisch werd medegesleept. Dit praecipitaat werd afgefiltreerd en opgelost in azijnzuur onder toevoeging van water. Door dialyse werd vervolgens het magnesiumacetaat verwijderd.

Het op deze wijze door *Hammarsten* bereide ferment was niet alleen volkomen vrij van paraglobuline, maar vertoonde bovendien eene krachtiger werking dan het ferment volgens de methode van *Schmidt* verkregen. Werd nu het fibrinogeen met het ferment vermengd, dan vertoonde de vloeistof eene volmaakte typische stolling, ofschoon er hier, uit den aard der zaak, geen sprake kon zijn van eenige medewerking van paraglobuline.

Nu was nog slechts uit te maken of het stolsel ook fibrine was. Daar toch allerlei eiwitstoffen onder verschillende omstandigheden gemakkelijk van een' oplosbaren in een' onoplosbaren vorm overgaan, moest eerst nog worden onderzocht of het hier gevonden stolsel inderdaad uit dezelfde stof bestond die bij de stolling

1) Pflüger's Archiv. Bd. XVIII, S. 89.

van het bloed gevormd wordt. Daar het zich echter afscheidde en later samentrok geheel op de wijze van uit bloedplasma verkregen fibrine, en ook in onoplosbaarheid geheel daarmede overeenstemde, zoo mocht *Hammarsten* besluiten dat het product van de stolling fibrine was.

Door deze jaren lang voortgezette schoone en uitgebreide onderzoekingen had *Hammarsten* dus bewezen, dat paraglobuline niet noodig is bij de stolling en dat er dus slechts 2 factoren in het spel komen: het *fibrinogeen* en het *ferment*.

Alex. Schmidt opperde vele bezwaren tegen de bewijskracht van *Hammarsten's* proefnemingen. Hij trachtte te betoogen dat de stoffen, waarmede *Hammarsten* gewerkt had, paraglobuline bevatten.

Schmidt ¹⁾ zelf drukt zich op de volgende wijze uit:

„War es nicht denkbar, dass die fibrinoplastische Substanz im Plasma leichter fällbar ist als im Serum, weil sie dort sich vielleicht unter anderen, die Fällung erleichterenden Bedingungen gelöst befindet und lag es nicht noch näher daran zu denken, dass das Plasma im Bezug auf die in ihren chemischen Verhalten so übereinstimmende Globulinsubstanzen viel reicher ist als das Serum, weil die ganze Masse des Faserstoffes in der Gestalt dieser Substanzen in ihm noch erhalten ist.”

En om *Hammarsten's* ²⁾ eigen woorden te gebruiken, die hij tot zijne verdediging aanbracht op de bezwaren, die *Schmidt* hem voorgelegd had, zoo zegt hij:

„In wie weit das Paraglobulin im Allgemeinen im Plasma leichter fällbar ist als im Serum, darüber

1) *Pflüger's Archiv*. Bd. XIII, S 152.

2) *Ibidem*, Bd. XIV, S 226.

wissen wir gegenwärtig nichts, aber dies ist auch von untergeordneter Bedeutung, denn ich fälle nie das normale, sonder stets das mit Magnesiumsulfatlösung verzetzte Plasma. Es fragt sich also, wie dieses Salzplasma im Bezug auf das Paraglobulin zu dem gleichen Volum gesättigter Kochsalzlösung sich verhält." ¹⁾

Hammarsten toonde nu aan, dat serum of neutrale paraglobulineoplossingen, waarbij $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ Mg SO₄ oplossing gevoegd was, door toevoeging van een gelijk volumen geconcentreerde NaCl-oplossing, slechts een onbeduidend neerslag gaven en dat slechts door toevoeging van paraglobuline in die oplossingen, een neerslag te voorschijn kwam.

Nu is volgens *Hammarsten*, in tegenstelling met *Schmidt*, in serum meer paraglobuline aanwezig dan in het plasma, zoodat wanneer in het serum een onbeduidend neerslag te voorschijn komt, in het plasma zelfs geene troebelheid behoeft te voorschijn te komen. En om de waarheid te staven, dat er in het serum meer paraglobuline voorkomt dan in het plasma, haalde *Hammarsten* zeer vele proeven aan, met welke hij bewees, dat bij de vorming van fibrine uit fibrinogeen slechts een gedeelte hiervan verbruikt wordt en wel hoogstens 92 pCt. en dat de rest omgezet wordt in eene andere globuline, die opgelost blijft. ²⁾ En mocht dan ook de eerste neerslag, die door de toevoeging van het geconcentreerde zout ontstond, een weinig paraglobuline bevatten, deze werd door de herhaalde zuivering met zekerheid uit de fibrineoplossing verwijderd.

1) Pflüger's Archiv, Bd. XIV, S. 226.

2) Pflüger's Archiv, XXX, S. 460.

Hammarsten wees er weder op dat zijne oplossingen altijd volkomen neergeslagen werden bij verzadiging met NaCl, hetgeen niet het geval geweest zou zijn, wanneer er nog paraglobuline in aanwezig was geweest.

Evenwel, zoo al toegegeven moest worden, dat fibrine zonder medewerking van paraglobuline *kan* ontstaan, toch kon men nog eenigen grond vinden voor de meening, dat *bij de stolling van het bloed* de paraglobuline tot de vorming van fibrine inderdaad bijdroeg. Immers, volgens *Schmidt*, werd uit eene voor stolling vatbare vloeistof door toevoeging van paraglobuline veel, soms zelfs zes maal meer fibrine verkregen dan zonder die toevoeging.

Schmidt heeft zijne proeven niet met zuivere oplossingen van fibrinogeen verricht maar met transsudaten, waarvan sommigen volgens hem geen en andere wel paraglobuline bevatten.

In ééne proef b. v. nam hij pericardiaalvloeistof van het paard, waar paraglobuline oorspronkelijk in de vloeistof aanwezig was. Deze vloeistof gaf bij toevoeging van een gelijk volumen fermentoplossing 0.034 pCt. fibrine. Van deze vloeistof werden 3 deelen à 100 cM³ genomen; bij een deel werd gevoegd 0.576 gram paraglobuline; bij een 2e deel 1.152 gr. en bij een 3e deel 1.727 gr. paraglobuline.

En het resultaat was dat in: ¹⁾

vloeistof I fibrine ontstaan was met een gewicht van 0.133 gr.

vloeistof II fibrine ontstaan was met een gewicht van 0.175 gr.

vloeistof III fibrine ontstaan was met een gewicht van 0.206 gr.

1) Pflüger's Archiv. XI, S 322.

Het laatste was dus 6 maal zoo groot als het gewicht van de fibrine uit de vloeistof zonder toevoeging van paraglobuline.

Om nog eene proef te citeeren, waarin het transsudaat volgens *Schmidt* geen paraglobuline bevatte, zij de volgende vermeld ¹⁾.

Hydrocelevocht verdeeld in 4 deelen ieder van 100 cM³.

Bij vloeistof I wordt gevoegd 0.462 gr. paraglobuline
fibrinegewicht 0.087 gr.

Bij vloeistof II wordt gevoegd 0.924 gr. paraglobuline, fibrinegewicht 0.098 gr.

Bij vloeistof III wordt gevoegd 1.386 gr. paraglobuline, fibrinegewicht 0.106 gr.

Bij vloeistof IV wordt gevoegd 1.848 gr. paraglobuline, fibrinegewicht 0.116 gr.

Hammarsten ²⁾ heeft *Schmidt's* proeven gecontroleerd echter niet met transsudaten, maar met de gezuiverde stoffen. In eene proef b. v. voegde hij bij fibrinogeenoplossing en fermentoplossing eene hoeveelheid paraglobuline met een gewicht van 0.450 gr., terwijl bij eene andere even groote hoeveelheid fibrinogeenoplossing en fermentoplossing dezelfde hoeveelheid zoutoplossing gevoegd werd als die waarin de paraglobuline opgelost was. De vloeistof zonder paraglobuline gaf een gewicht aan fibrine van 0.372 gr. die met paraglobuline eene hoeveelheid van 0.413 gr.

Bij eene andere proef vond *Hammarsten* een gewicht aan fibrine van 0.550 gr. in de vloeistof waarin geen

1) Pflüger's Archiv. XI. S 322.

2) Nova Acta. Reg. Soc. Ups. Ser. III Vol. X. S 60.

paraglobuline gedaan was en in die met paraglobuline (gewicht = 0.460 gr.) een gewicht van 0.561 gr. aan fibrine.

Hammarsten vond dus ook, wel is waar, vermeerdering van fibrine door toevoeging van paraglobuline, maar toch veel geringer dan *Schmidt*, zoodat de vermeerdering van de fibrine door de toevoeging van paraglobuline anders verklaard moest worden dan door eene chemische verbinding van de toegevoegde paraglobuline met het fibrinogeen, zooals *Schmidt* aannam.

Door *Hammarsten's* proeven verloor dus *Schmidt's* argument voor zijne theorie veel van zijn kracht.

Bij zijne proeven wees *Hammarsten* op de moeielijkheid om te bepalen wanneer het stollingsproces afge-loopen is. Dit was echter geen overwegend bezwaar, want indien na eenigen tijd de fibrinevlokken verwijderd waren, werd de vloeistof weggezet en gezien of er opnieuw vlokken in te voorschijn kwamen.

Intusschen werd door *Hammarsten* gewezen op eene andere moeielijkheid, die bij deze soort van proeven in aanmerking genomen moest worden ¹⁾. Het is namelijk de vraag of door paraglobuline of andere stoffen, die in de oplossing aanwezig zijn, niet de afscheiding van fibrine belemmerd, ja zelfs reeds afgescheiden fibrine weer opgelost kan worden.

Over de oplosbaarheid van de fibrine worden vele tegenstrijdige opgaven in de litteratuur gevonden. Waar *Denis* mededeelt dat de fibrine verkregen uit spontaan stollend veneus bloed in NaCl-oplossing oplosbaar is en wel geheel afgezien van eenigerlei bijmengselen, die als verontreinigingen moeten worden beschouwd, zegt *Eichwald* juist het tegendeel. Hij neemt aan dat *Denis*

1) Nova Acta Reg. Soc. Ups. Ser. III, Vol. X S. 52.

de bijmengselen voor de stof en de stof voor de bijmengselen gehouden had.

Denis onderscheidde reeds, wat de oplosbaarheid betreft, 3 soorten van fibrine:

1. *Fibrine concrète modifiée*, welke verkregen wordt door veneus bloed op te vangen in natriumsulfaatoplossing en met water te verdunnen. Deze is onoplosbaar in NaCl-oplossing van 5—10 pCt., in zeer verdund zoutzuur (0.1 pCt.) of natronloog 0.05—0.1 pCt. Dezelfde fibrine wordt ook verkregen uit arterieel bloed, door deze bij de stolling voortdurend te kloppen.

Het eenig verschil is, dat bij deze laatste bij digestie eene onoplosbare stof overblijft, dyspepton.

2. *Fibrine concrète globuline*, de fibrine uit veneus bloed door dit te laten stollen. De eigenaardigheid van deze fibrine is dat zij in NaCl-oplossing van 10 pCt. opzwellt. De mogelijkheid is echter niet uitgesloten dat deze eigenaardigheid slechts op verontreiniging berust. Door *Denis* was reeds gevonden, dat de roode bloedlichaampjes van het vogelbloed eene stof bevatten, die bij toevoeging van NaCl 10 pCt. opzwellt. In de roode bloedlichaampjes van den mensch, het paard, het rund is deze stof niet aanwezig, maar wel in de witte bloedlichaampjes (*Schmidt*), in ettercellen (*Denis*) en in lymphcellen (*Wooldridge*).

Hammarsten meent, dat de opzwellling van de fibrine concrète globuline door toevoeging van NaCl-oplossing 1 pCt. het gevolg is van het insluiten van vele witte bloedcellen door de fibrine.

3. *Fibrine concrète pure s. fibrine à l'état de pureté* verkregen door veneus bloed, tijdens het stollen te kloppen. Zij is gekenmerkt door hare oplosbaarheid in NaCl-oplossing.

De oplosbaarheid van de fibrine in zoutsoluties, hangt nu volgens *Kühne* en *Plosz* ¹⁾ af van de wijze waarop de fibrine met het NaCl behandeld wordt. Wordt de fibrine met het zout eerst uitgetrokken en dan met het zout gedigereerd, zoo lost zij niet op, terwijl bij directe digestie zonder voorafgegane extractie, dikwijls oplossing is waar te nemen. Volgens genoemde schrijvers is bij de fibrinevorming nu eene stof, wellicht paraglobuline, medegesleept, die een oploosend vermogen zou bezitten en daar deze paragobuline oplosbaar is in NaCl-solutie, is wel in te zien dat bij voorafgegane uittrekking met het zout, geen oplossing van de fibrine in NaCl is waar te nemen, daar de oploosende stof (wellicht paraglobuline) er niet meer in aanwezig is. *Hammarsten* nu heeft het oploosend vermogen van de paraglobuline nagegaan door bij fibrinogeenoplossing en fermentoplossing paraglobuline te voegen en werkelijk zag hij ook meermalen oplossing van de fibrine, terwijl de fibrine uit de paraglobulinevrije oplossing nog geen spoor van opzwellling vertoonde.

Hammarsten nu meent evenals *Plosz* dat het oploosend vermogen aan de paraglobuline gebonden is en wel niet aan de paraglobuline qua talis, maar aan een stof, die op de tegenwoordige manier van bereiding van zuivere paraglobuline nog niet te scheiden is. Dat de paraglobuline zoo zuiver mogelijk bereid is, bewijst *Hammarsten* daardoor, dat hij de reeds zuivere paraglobuline nog eenige malen neergeslagen, opgelost en gedialyseerd heeft, waarbij hij intusschen toch nog oplossing der fibrine waarnam.

1) Pflüger's Archiv. VII S. 371.

Terwijl nu paraglobuline aan den eenen kant, waar schijnlijk ten gevolge van verontreiniging, in staat is fibrine op te lossen, kan de juist tegenovergestelde werking, bevordering van de afscheiding der fibrine, volgens *Hammarsten*, wellicht eene verklaring vinden door de gelijktijdige aanwezigheid van zout of alkali in de vloeistof.

Reeds hadden verschillende auteurs aangetoond, dat zouten en alkaliën het stollingsproces konden onderdrukken en daar nu juist de hydrocelevochten deze twee stoffen in betrekkelijk groote hoeveelheid bevatten, zoo ging *Hammarsten* den invloed hiervan nader na, nadat *Alex. Schmidt* de meening had uitgesproken, dat de alkaliën en zouten het stollingsproces tegengingen, door de fibrinoplastische stof in oplossing te houden.

Daar nu bewezen was, dat de paraglobuline niet noodig was bij de stolling, moest naar eene andere verklaring gezocht worden.

Het alkali-gehalte ¹⁾ kan vooreerst de fermentwerking tegengaan daar hierdoor het stollingsproces verlangzaamd wordt; wordt het alkali geneutraliseerd, zoo begint de stolling direct. De snelheid van stolling hangt van het ferment af, volgens *Schmidt*, maar nu door het alkali-gehalte ook het fibrinegewicht afneemt, moest ook aangenomen worden, dat of het fibrinogeen of de fibrine eenige werking van het alkali-gehalte ondervond. Eene werking van het alkali op het fibrinogeen mag niet aangenomen worden, daar door neutralisatie dadelijk de stolling begint.

Het alkali moest dus de fibrine oplossen en wel in statu nascenti om de volgende reden.

Liet *Hammarsten* eene neutrale en eene alkalische

1) Nova Acta Reg. Soc.Ups. Ser. III. Vol. X, S. 64.

fibrinogeenoplossing stollen zoo ontstond in beide, in de neutrale eerder, na eenigen tijd fibrine. Na verloop van ongeveer 20 uur was de fibrine in de alkalische oplossing, na eerst eenigszins geleachtig geworden te zijn, langzamerhand weer opgelost. Werd de fibrine uit de neutrale oplossing in eene vloeistof met een even groot alkali-gehalte gedaan als de oorspronkelijk alkalische oplossing, zoo loste de fibrine toch niet op.

Alkalisch reageerend bloedserum loste de fibrine niet op, maar wel serum, dat bevrijd was van de paraglobuline en een alkali-gehalte bezat, even groot als het oorspronkelijk serum zelf.

Even zoo min als het alkaligehalte het ferment en het fibrinogeen veranderen, even zoo min doen het de zouten. Zij houden ook de gevormde fibrine in oplossing.

Hierbij moet nog opgemerkt worden, dat *Hammarsten* bewees, dat er wel degelijk een met de stolling overeenkomend proces plaats had gehad, door in de vloeistof na de stolling veranderd fibrinogeen aan te toonen.

Steunende op deze en dergelijke ervaringen, trachtte *Hammarsten* zoowel den invloed van paraglobuline als die van CaCl_2 , caseïne en neutralisatie op de hydrocelevochten te verklaren.

Paraglobuline lost gemakkelijk op in zouten en alkaliën; aan deze stoffen moest dus eene zekere affiniteit tot de paraglobuline toegeschreven worden en daar ze als het ware door de paraglobuline gebonden worden, kunnen ze niet meer het stollingsproces tegengaan.

Deze hypothese verkreeg vooral daardoor kracht, dat paraglobulinevrij serum het vermogen bleek te bezitten om fibrine op te lossen, terwijl met gewoon serum dit geenszins het geval was.

Dat neutralisatie dus dezelfde werking als paraglobuline uitoefende, behoefde verder geen betoog.

Wat de werking van de caseïne betreft, moet ik vooaf zeggen dat *Hammarsten* steeds gebruik maakte van met serum verontreinigde caseïne, die dus veel ferment bevatte en alzoo door de groote hoeveelheid stolling kon teweegbrengen.

Nu echter door de onderzoekingen van professor *Pekelharing* bewezen is, dat de caseïne, eene nuclealbumine, een stof is die door opneming van kalk zelf fibrine-ferment wordt, zoo moet de invloed van de caseïne op hydrocelevochten verklaard worden als de toevoeging van eene hoeveelheid ferment zelf.

Wat ten slotte den invloed van CaCl_2 aangaat, meende *Hammarsten* daarvan deze verklaring te mogen aannemen, dat de alkalische reactie der transsudaten toe te schrijven is aan het gehalte aan koolzure en phosphorzure zouten en dat nu na toevoeging van CaCl_2 phosphozure en koolzure kalk en chlooralkali gevormd wordt.

Nu hebben volgens *Hammarsten* de koolzure alkaliën niet denzelfden storenden invloed op de stolling, als de kaustische en zoo is het waarschijnlijk dat de koolzure en phosphorzure kalk nog minder storend werken.

Sedert echter, door de nasporingen van verschillende onderzoekers de belangrijke invloed aangetoond is die kalkzouten altijd op de vorming van fibrine hebben, sedert gebleken is dat zoowel het fibrine-ferment als de fibrine zelve kalkverbindingen zijn, moet de verklaring van CaCl_2 op de stolling van transsudaten wel op andere wijze gezocht worden, waarover hier echter niet nader gesproken behoeft te worden.

Zonder twijfel moet het bevreemding wekken, dat *Schmidt* blijkens zijn jongste werk „Zur Blutlehre,”

waarin hij de door *Hammarsten* tegen hem ingebrachte bezwaren ter nauwernood aanroert, nog altijd de meening voorstaat als [zou de paraglobuline inderdaad op den naam van fibrinoplastische stof aanspraak hebben. Dat deze meening afdoende door *Hammarsten* weerlegd is, kan wel niet meer ontkend worden.

Maar het bleef, ook na *Hammarsten's* onderzoekingen een nog niet geheel duidelijk beantwoorde vraag of de paraglobuline bij de stolling van het bloed op eenigerlei wijze een rol speelt.

Het scheen mij onder deze omstandigheden niet geheel nutteloos toe opnieuw een onderzoek in te stellen naar deze vraag, en na te gaan of bij de vorming van fibrine uit fibrinogeen van de aanwezigheid van paraglobuline in de stollende vloeistof eenige invloed op de hoeveelheid der afgescheiden fibrine kan worden waargenomen.

In de volgende bladzijden deel ik den gang van mijn onderzoek en de daarbij verkregen uitkomsten mede.

HOOFDSTUK II.

Over de vraag of paraglobuline bijdraagt tot de vorming van fibrine.

Bij de bepaling van de hoeveelheid fibrine die uit eene fibrinogeen bevattende vloeistof met of zonder toevoeging van paraglobuline verkregen kan worden, ging *Schmidt* op de volgende wijze te werk. ¹⁾

Na afloop der stolling werd de fibrine, door omroeren met een glazen staaf, tot samentrekking gebracht, door gewogen filters, vrij van asch, gefiltreerd, met water gewasschen „bis zur völliger Beseitigung aller gelösten Bestandtheile der Flüssigkeit,” met alcohol en ether uitgetrokken, gedroogd en gewogen.

Deze methode lijdt, gelijk *Hammarsten* opgemerkt heeft, ²⁾ aan een bron van fouten van groot gewicht. Wanneer, na afloop der stolling, fibrine met een glazen staaf wordt omgeroerd, trekt de gelei zich meestal wel belangrijk samen, maar zij blijft eene tamelijk weeke gelei, die door uitwasschen met water zeker uitermate moeielijk van de in water oplosbare bijmengselen te bevrijden is.

Maar gesteld al dat het *Schmidt* gelukte door het uitwasschen de in het water oplosbare zouten uit de

1) Pflügers's Archiv. Bd. XI, S. 321.

2) Nova Acta Reg. Soc. Ups. Ser. III. Vol. X, S. 125.

fibrine te verwijderen, zeker bleef de fibrine verontreinigd met de in water onoplosbare paraglobuline. Daarvoor zou uitwasschen met eene zoutoplossing noodig geweest zijn. Het behoeft daarom ook geene verwondering te wekken dat *Schmidt* altijd meer fibrine vond naarmate hij meer paraglobuline aan de oplossing toegevoegd had, tengevolge waarvan de fibrine die gevonden werd sterker verontreinigd moest zijn.

Hammarsten vergenoegde zich dan ook niet met de samentrekking, die de fibrine door haar eigen elasticiteit ondergaat, maar waschte de fibrine uit onder voortdurend krachtig kneden met een spatel ¹⁾.

Later ging hij, wanneer het gewicht van de afgescheiden hoeveelheid fibrine bepaald moest worden, nog zorgvuldiger te werk ²⁾.

Zooveel mogelijk werd, door omroeren *gedurende* de stolling, de afscheiding van de fibrine in draden bevorderd. Wanneer zich toch groote geleiachtige klompen vormden, werden deze met een spatel van platina in kleine stukjes gesneden en dan door kneden op een fijn net van koperdraad uitgewasschen, eerst met verdunde keukenzoutoplossing en daarna met water.

Het verdient opmerking, dat *Hammarsten* toen, bij de toepassing van de laatstgenoemde methode, (ofschoon hij die niet gebruikt heeft bij proeven genomen met het doel om na te gaan of de hoeveelheid der fibrine door toevoeging van paraglobuline grooter wordt) in proeven waarbij toch zulk een invloed aan het licht moest komen, geene vermeerdering van de fibrineafscheiding vond als er paraglobuline in de stollende vloeistof

1) Nova Acta. S 59.

2) Pflüger's Archiv. Bd. XXX, S 461.

opgelost was. Terwijl hij vroeger, toen het uitwasschen nog niet met die groote nauwkeurigheid geschiedde, gelijk boven vermeld is, eenmaal uit gelijke hoeveelheden fibrinogeenoplossing 0.413 gram fibrine verkreeg na toevoeging van 0.450 gr. paraglobuline, tegen 0.372 gram fibrine uit de oplossing die vrij was van paraglobuline, en een andermaal 0.561 gram fibrine uit de paraglobuline bevattende en 0.550 gram uit die zonder paraglobuline, werden nu uitkomsten verkregen als de volgende:

20 cM³ fibrinogeenoplossing gaven, na vermenging met:

20 cM ³ serum	<i>a</i>	0.201 gram fibrine.
	<i>b</i>	0.200 gram fibrine.

20 cM³ ferment vrij van paraglobuline 0.204 gr. fibrine.

20 cM³ fibrinogeenoplossing, gaven na vermenging met:

20 cM ³ serum	<i>a</i>	0.221 gram fibrine.
	<i>b</i>	0.230 gram fibrine.

20 cM³ ferment vrij van paraglobuline 0.227 grm. fibrine.

In deze proeven blijkt zeker niets van eene vermeerdering van de afscheiding van fibrine door de aanwezigheid van de in het serum opgeloste paraglobuline.

Intusschen kunnen deze proeven op dit punt als niet voldoende bewijzend aangenomen worden, aangezien men in onzekerheid verkeert omtrent de hoeveelheden van het ferment, die hierbij in werking kwamen. De aangehaalde proeven zijn juist gekozen uit een reeks ¹⁾ waaruit o. a. blijkt dat door zwakke fermentoplossing niet zooveel fibrine wordt gevormd als door krachtige.

1) Plüger's Archiv. Bd. XXX. S 462.

Men zou kunnen onderstellen dat in de hier vermelde proeven het serum toevallig maar geringe fermentwerking had vertoond.

Het was voor mijn doel volstrekt noodig niet alleen de door *Schmidt* bij het uitwasschen der fibrine gemaakte fout zooveel mogelijk te vermijden, maar ook zorg te dragen dat de oplossingen van fibrinogeen, die ik gebruikte, vrij waren van paraglobuline en van ferment, en dat het gehalte aan ferment in de met paraglobuline vermengde vloeistof nooit geringer kon zijn dan in de vloeistof zonder paraglobuline.

Het fibrinogeen werd naar de methode van *Hammarsten*, uit het bloed van rund of paard, bereid: Bloedplasma, dat verkregen was door bloed (vloeibaar gehouden door het op te vangen in 1/10 volumen kaliumoxalaat 1 pCt.) door centrifugeeren van de bloedlichaampjes te bevrijden, werd vermengd met verzadigde keukenzoutoplossing. Uit het plasma van paardbloed wordt het fibrinogeen gemakkelijker neergeslagen dan uit dat van runderbloed.

Ik vermengde het eerstgenoemde plasma met een even groot volumen van de verzadigde NaCl-oplossing, het plasma van runderbloed met het dubbele volumen.

Het verschil ligt niet in de fibrinogene stof zelve maar aan andere bestanddeelen van het plasma. Is eenmaal de fibrinogene stof van het plasma gescheiden, dan wordt zij even goed door 16 pCt. NaCl neergeslagen, onverschillig of zij van runder- of van paardbloed afkomstig is.

De door het keukenzout troebel geworden vloeistof werd ongeveer een half uur gecentrifugeerd. Daarna werd het vocht afgeschonken en het praecipitaat, met behulp van het daaraan nog hangende zout, in gedestilleerd water opgelost. Deze fibrinogeenoplossing be-

vatte stoffen, die mechanisch door het fibrinogeen medegesleept werden, zooals paraglobuline, nucleoalbumine enz. Om deze onzuiverheden nu te verwijderen, werd de fibrinogeenoplossing weder gepraecipiteerd door een gelijk volumen verzadigde NaCl-oplossing; deze neerslag werd nogmaals opgelost en neergeslagen en weer opgelost, zoodat eindelijk eene fibrinogeenoplossing werd verkregen vrij van andere stoffen.

De paraglobuline, die ik voor mijne proeven noodig had, werd meestal op de volgende wijze verkregen: Bloedserum werd met gedestilleerd water 10 maal verdund, door deze oplossing werd gedurende eenigen tijd koolzuur gevoerd, waardoor de paraglobuline gepraecipiteerd werd; deze werd of door filtratie of door centrifugeeren uit de vloeistof verwijderd. Dit praecipitaat werd opgelost in NaCl van 10 pct.; de oplossing werd gefiltreerd en daarna $\pm$ 20 uur gedialyseerd tegenover stroomend leidingswater. Daarop werd de troebel geworden inhoud van den dialysator gecentrifugeerd. Het praecipitaat werd opgelost in NaCl van 1 pct.; deze oplossing werd na gefiltreerd te zijn voor de proef gebruikt.

Enkele malen, wanneer ik tegelijkertijd *Hammarsten's* ferment wilde bereiden, werd de paraglobuline verkregen door serum te verzadigen met magnesiumsulfaat. Was dan de vloeistof met het zout verzadigd, zoodat de paraglobuline volkomen neergeslagen was, zoo werd deze gefiltreerd, met gedestilleerd water opgelost en door dialyse van het zout bevrijd. De door de onttrekking van het zout in den dialysator neergeslagen paraglobuline werd door centrifugeeren of filtreeren van de vloeistof gescheiden, in 1 pct. NaCl opgelost en gefiltreerd.

Voor het teweegbrengen der stolling werd dikwijls gebruik gemaakt van fibrineferment, nauwkeurig volgens de methode van *Hammarsten* bereid; in de meeste gevallen echter van nucleo-albumine uit bloedplasma met CaCl_2 .

De nucleo-albumine werd bereid volgens de door Prof. *Pekelharing* aangegeven methode ¹⁾.

Oxalaatplasma werd met gedestilleerd water verdund tot drie maal het oorspronkelijk volumen. Hierbij werd verdund azijnzuur gevoegd tot duidelijk zure reactie. Nadat de vloeistof een uur lang gecentrifugeerd was, had de neerslag zich zoo vast op den bodem van het glas afgezet, dat het vocht daarvan afgeschonken kon worden. Om dit praecipitaat te ontdoen van de nog daaraan hangende fibrinogeen en paraglobuline, werd het opgelost in zeer verdunde ammoniakoplossing, met water verdund en met azijnzuur behandeld tot zure reactie. Hierdoor ontstond weder een praecipitaat, dat gecentrifugeerd werd. Deze wijze van handelen werd nog eenmaal herhaald, waarna het laatste praecipitaat met water afgewasschen werd; hierna werd het in vacuo boven zwavelzuur gedroogd. Het gedroogde poeder werd uitgetrokken met physiologische keukenzoutoplossing en gefiltreerd. Op deze wijze werd de nucleo-albumine geheel van paraglobuline bevrijd. Deze toch verliest door het drogen hare oplosbaarheid, terwijl de nucleo-albumine nog altijd oplosbaar blijft in verdunde zoutoplossing. Dat de nucleo-albumine inderdaad vrij was van paraglobuline, kon op de volgende wijze aangetoond worden: Bij de heldere oplossing

1) Onderz. gedaan in het Physiol. Laborat. der Utr. Hoogeschool
4de Reeks Dl. II, p. 1.

werd eene uiterst geringe hoeveelheid azijnzuur gevoegd, waardoor lichte opalescentie ontstond. Bij verwarming op 65° C. scheidde zich de nucleo-albumine vlokkelig af en nu kon in de daarvan afgefiltreerde vloeistof geen spoor van eiwit meer aangetoond worden. Was er paraglobuline in de oplossing geweest, dan zou die bij 65° C. in oplossing gebleven zijn.

De nucleo-albumine werd eerst onmiddellijk voor het gebruik met CaCl_2 vermengd.

Nadat nu het fibrinogeen, de paraglobuline en het ferment zuiver bereid waren, werd tot de proef overgegaan. Hiertoe werd de fibrinogeenoplossing in 4 gelijke deelen verdeeld. In 2 hiervan werd in elk eene gelijke hoeveelheid paraglobulineoplossing gedaan en in elk van de 2 anderen eene gelijke hoeveelheid keukenzoutoplossing van dezelfde concentratie als die waarin de paraglobuline opgelost was.

Ten slotte werd in ieder glas eene gelijke hoeveelheid fermentoplossing gevoegd; bovendien in ieder glas nog eene gelijke hoeveelheid gedestilleerd water om het gehalte aan zout te doen verminderen.

Zoo was dan voldaan aan den eisch dat in het eene paar glazen paraglobuline aanwezig was, terwijl zij in het andere geheel ontbrak.

Aangezien paraglobuline nooit geheel vrij van ferment te verkrijgen is, was het gehalte aan ferment altijd iets grooter in de vloeistof met dan in die zonder paraglobuline. Het was wel mogelijk geweest deze ongelijkheid te vermijden, door namelijk de oplossing van paraglobuline vooraf op 65° C. te verwarmen, waardoor het ferment werkeloos gemaakt wordt. Ik heb dit echter nagelaten omdat, zoo er door het verschil in fermentgehalte eene fout gemaakt werd, deze zou leiden tot

vermeerdering van de afscheiding van fibrine uit de met paraglobuline bedeelde vloeistof. Werd nu, zooals inderdaad het geval bleek te zijn, zulk eene vermeerdering niet gevonden, dan werd daardoor het bewijs, dat de paraglobuline niet tot de vorming der fibrine bijdraagt, nog versterkt.

Het is gelijk boven besproken is, niet mogelijk klompen geleiachtige fibrine goed uit te wasschen. Om eene zoo volledig mogelijke samentrekking der fibrine te bewerken, is het wenschelijk, dat de vloeistof, zoolang er nog afscheiding plaats heeft in beweging gehouden wordt. Daarvoor werden de proeven op de volgende wijze ingericht.

Zes beker glazen werden in een groot waterbad geplaatst, waarvan de temperatuur gedurende de geheele proef op 37° C. gehouden werd. Ieder glas was, ter beschutting tegen het invallen van stof, los bedekt met een in het midden doorboorde glazen plaat. Door deze plaat kwam een glazen staafje, zoodanig gebogen dat, wanneer het naar buiten uitkomende loodrecht staande gedeelte om zijn as gedraaid werd, de vloeistof zoowel aan den omtrek als in het midden van het glas in beweging gebracht werd. De verticale einden der staafjes konden, door middel van een door den Heer Kagenaar vervaardigden toestel in eene gelijkmatige draaiende beweging gebracht worden. De toestel werd door een gewicht gedreven, en kon, desnoods dag en nacht, in voortdurende beweging gehouden worden. Door middel van een windvleugel kon de snelheid van ronddraaien geregeld worden. De gebruikte snelheid was zoo, dat ieder roerstaafje ongeveer 20 maal in de minuut in het beker glas ronddraaide.

Wanneer nu de beker glazen met eene stollende vloeistof

stof gevuld waren, zette de zich allengs vormende fibrine zich als eene vaste massa om de ronddraaiende glazen staafjes af. Het gebeurde wel dat in het bovenste gedeelte der vloeistof zich eenige fibrine tegen den wand van het glas afzette, die dan niet door de staafjes meegenomen werd. Het was echter gemakkelijk nu en dan met de hand de staafjes te bewegen, zoodat ook deze fibrinevlokjes er aan bleven kleven. Zij vormden dan spoedig, bij het ronddraaien, met de overige vaste fibrinemassa een geheel. Mochten er nog enkele vlokjes blijven zweven, of mocht er, nadat de roerstaafjes uit de glazen genomen waren, nog eenige afscheiding van fibrine plaats vinden, dan werd de vloeistof door een gewogen filter gefiltreerd. Deze zeer geringe hoeveelheden fibrine konden zonder bezwaar op het filter uitgewasschen worden.

Een enkel maal slechts is het voorgekomen, dat de stolling direct na toevoeging van het ferment plaats had, en de fibrine eene geleachtige massa vormde, die, ondanks het ronddraaien, geene voldoende vastheid verkreeg en daardoor bij het uitwasschen bezwaar opleverde.

Nadat de stolling afgeloopen was, werden de glazen staafjes in andere bekerglazen gebracht gevuld met NaCl 1 pCt. om de paraglobuline en nucleo-albumine, die mechanisch medegesleept mochten wezen, op te lossen en zoo te verwijderen. Om het uitwasschen te bevorderen werd de fibrine, door de staafjes tegen den wand van het glas aan te drukken, zooveel mogelijk uitgeperst. Was deze behandeling geschied zoo werd zoolang de fibrine afgewasschen met gedestilleerd water, totdat in het water geen chloorreactie meer waar te nemen was. Nu werd door middel van glazen staafjes de fibrine van de roerstaafjes afgeschoven en op horlogeglasjes

gebracht, die vooraf gewogen waren. Deze werden bij 110° C. zoolang gedroogd totdat er geen gewichtsverlies meer te bespeuren was.

Deze methode leverde zeer bevredigende resultaten. De fibrine was zoo vast, dat zij vooreerst maar weinig van de vloeistof kon insluiten, en ten tweede gemakkelijk uitgewasschen werd. Ook ging het afschuiven van de fibrine van de roerstaafjes gemakkelijk en zonder eenig verlies. Wanneer, wegens de aanwezigheid van enkele losse vlokjes fibrine, de vloeistof gefiltreerd werd, dan werd de om het staafje afgezette fibrine, na op de gewone wijze gewasschen te zijn, ook op het filter, in plaats van op een horlogeglas gebracht. In die gevallen heb ik het filter met fibrine, nadat het gedroogd en gewogen was, met kokend water overgoten, en daarna geen gewichtsverlies gevonden, een bewijs dus dat althans de in water oplosbare zouten volkomen uitgewasschen waren.

Het gewicht van de paraglobuline, die toegevoegd was, werd bepaald op de volgende manier: de oorspronkelijke hoeveelheid paraglobulineoplossing werd in gelijke deelen verdeeld en één hiervan voor de gewichtsbepaling gebruikt. De oplossing, die in een platinaschaaltje gedaan was, werd boven een waterbad tot droog toe verdampt en daarna bij 110° C. zoolang gedroogd, totdat geen gewichtsverlies meer aangenomen kon worden.

Nu werd het platinaschaaltje zoolang gegloeid, totdat de paraglobuline volkomen verbrand was en zoo was het dus gemakkelijk het gewicht van de aschvrije paraglobuline aan te geven.

Ik laat de uitkomsten van de proeven hier volgen.

PROEF I.

	Samenstelling der vloeistof.	Gewicht toe- gevoegde paraglobuline aschvrij.	Tijdsverloop tusschen het mengen der vloeistof en het uitnemen der fibrine.	Gewicht fibrine.
I.	18 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 grm.	5 uur	a. 0.079 gr.
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	5 » nuclealbumineopl.			b. 0.0825 »
	2 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	48 » aqua destillata.			
II.	18 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.373 »	»	a. 0.082 gr.
	25 » paraglobulineoploss.			
	5 » nuclealbumineopl.			b. 0.0825 »
	2 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	48 » aqua destillata.			

PROEF II.

I.	26 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	6 ¹ / ₄ uur	a. 0.022 gr.
	20 » 1 % NaCl-oplossing			
	5 » nuclealbumineopl.			b. 0.0225 »
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	35 » aqua destillata.			
II.	26 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.429 gr.	»	a. 0.0225 gr.
	20 » paraglobulineoploss.			
	5 » nuclealbumineopl.			b. 0.0235 »
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	35 » aqua destillata.			

PROEF III.

I.	24 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5 ¹ / ₂ uur	a. 0.044 gr.
	16 » 1 % NaCl-oplossing			
	8 » nuclealbumineopl.			b. 0.045 »
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	25 » aqua destillata.			
II.	24 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.358 gr.	»	a. 0.0425 gr.
	16 » paraglobulineoploss.			
	8 » nuclealbumineopl.			b. 0.0435 »
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	25 » aqua destillata.			

PROEF IV.

Samenstelling der vloeistof.		Gewicht toe- gevoegde paraglobuline aschvrij.	Tijdsverloop tusschen het mengen der vloeistof en het uitnemen der fibrine.	Gewicht fibrine.
I.	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5½ uur	a. 0.121 gr.
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	30 » Hammarsten's fer- mentoplossing.			b. veronge- lukt.
	40 » aqua destillata.			
II.	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.285 gr.	»	a. 0.1205 gr.
	25 » paraglobulineoploss.			
	30 » H.'s. fermentoploss.			b. 0.123 »
	40 » aqua destillata.			

PROEF V.

I.	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5 uur	a. 0.121 gr.
	20 » 1 % NaCl-oplossing			
	10 » nucleaalbumineopl.			b. 0.125 »
	5 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
II.	25 » aqua destillata.	0.397 gr.	»	a. 0.135 gr.
	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing			
	20 » paraglobulineoploss.			b. 0.138 »
	10 » nucleaalbumineopl.			
	5 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	25 » aqua destillata.			

N.B. Direct na toevoeging van de CaCl₂ kwam er stolling. De gelei-achtige massa fibrine liet zich door het roeren wel tamelijk fijn verdeelen, maar niet tot een vaste klomp brengen, waardoor goed uitwasschen niet mogelijk was. Alles werd op filters gewogen; deze zijn niet weer met kokend water overgoten.

PROEF VI.

I.	57 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	6 uur	0.184 gr.
	40 » 1 % NaCl-oplossing			
	20 » H.'s. fermentoploss.			
	65 » aqua destillata.			
II.	57 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.534 gr.	»	0.204 gr.
	40 » 1 % NaCl-oplossing			
	20 » H.'s. fermentoploss.			
	65 » aqua destillata.			

N.B. De fibrine was slechts voor een deel om de staafjes gewonden, voor een ander deel vormde zij een weeke gelei. De controleproeven stolden niet; bij dezen was Schmidt's ferment gevoegd, dat reeds eenigen tijd bewaard was en daardoor werkeloos geworden.

PROEF VII.

Samenstelling der vloeistof.		Gewicht toe- gevoegde paraglobuline aschvrij.	Tijdsverloop tusschen het mengen der vloeistof en het uitnemen der fibrine.	Gewicht fibrine.
I.	80 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	6 uur	0.117 gr.
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	40 » Hammarsten's fer- mentoplossing.			
	40 » aqua destillata.			
II.	80 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.687 gr.	»	0.117 »
	25 » paraglobulineoploss.			
	40 » H.'s. fermentoploss.			
	40 » aqua destillata.			

PROEF VIII.

I.	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5 $\frac{1}{4}$ uur	{ a. 0.460 gr. b. 0.435 »
	19 » 1 % NaCl-oplossing			
	13 » nuclealbumineopl.			
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
II.	50 » aqua destillata.	0.297 gr.	»	{ a. 0.434 gr. b. 0.429 »
	35 cM ³ . fibrinogeenoplossing			
	19 » paraglobulineoploss.			
	13 » nuclealbumineopl.			
	3 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	50 » aqua destillata.			

N.B. De fibrine uit glas I a. vertoonde een bruine plek, waarschijnlijk afkomstig van eenig in het glas gevallen metaalstof.

PROEF IX.

I.	26 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	6 $\frac{1}{2}$ uur	{ a. 0.105 gr. b. 0.103 »
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	10 » H.'s. fermentoploss.			
	75 » aqua destillata.			
II.	26 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.204 gr.	»	{ a. 0.103 gr. b. 0.1005 »
	25 » paraglobulineoploss.			
	10 » H.'s. fermentoploss.			
	75 » aqua destillata.			

PROEF X.

Samenstelling der vloeistof.		Gewicht toe- gevoegde paraglobuline aschvrij.	Tijdsverloop tusschen het mengen der vloeistof en het uitnemen der fibrine.	Gewicht fibrine.
a.	25 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5 1/4 uur.	0.103 gr.
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	17 » Hammarsten's fer- mentoplossing.			
	75 » aqua destillata.			
b.	25 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.227 »	»	0.0975 »
	25 » paraglobulineoploss.			
	17 » H.'s. fermentoploss.			
	75 » aqua destillata.			
c.	Als glas a.	0.000 »	8 uur.	0.103.50 »
d.	Als glas b.	0.227 »	»	0.0955 »
e.	Als glas a en c.	0.000 »	11 uur.	0.1045 »
f.	Als glas b en d.	0.227 »	»	0.087 »

NB. De paraglobuline was gedurende 4 dagen en 4 nachten gedialyseerd.

PROEF XI.

a.	45 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.000 gr.	5 1/2 uur	0.1665 gr.
	30 » 1 % NaCl-oplossing			
	17 » H.'s. fermentoploss.			
	75 » aqua destillata.			
b.	41 cM ³ . fibrinogeenoplossing	0.403 »	»	0.175 »
	30 » paraglobulineoploss.			
	17 » H.'s. fermentoploss.			
	75 » aqua destillata.			
c.	Als glas a	0.000 »	11 1/4 uur.	0.173 »
d.	Als glas b	0.403 »	»	0.174 »
e.	Als glas a en c	0.000 »	23 1/2 uur.	0.174 »
f.	Als glas b en d	0.403 »	»	0.175 »

NB. De paraglobuline (door CO₂ uit serum neergeslagen) was pl. m. 20 uur gedialyseerd.

PROEF XII.

Samenstelling der vloeistof.		Gewicht toe- gevoegde paraglobuline aschvrij.	Tijdsverloop tusschen het mengen der vloeistof en het uitnemen der fibrine.	Gewicht fibrine.
a.	26 cM ³ . fibrinogeenoplossing			
	25 » 1 % NaCl-oplossing			
	17 » nuclealbumine opl.	0.000 gr.	5 ³ / ₄ uur	0.116 gr.
	2 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	75 » aqua destillata.			
b.	26 » fibrinogeenoplossing			
	26 » paraglobulineoplos.			
	17 » nuclealbumineopl.	0.245 gr.	»	0.115 »
	2 » 1 % CaCl ₂ -oplossing			
	75 » aqua destillata.			
c.	Als glas a.	0.000 »	23 ³ / ₄ uur.	0.117 »
d.	Als glas b.	0.245 »	»	0.1155 »

NB. De paraglobuline pl. m. 20 uur gedialyseerd. Alles op filters gebracht; geen vermindering in gewicht na overgieting met kokend water.

Bij alle proeven werd het glas met de vloeistof waaruit het staafje met fibrine genomen was, nog eenigen tijd bewaard, om te zien of zich wellicht nog meer fibrine afscheidde. Slechts in Proef IV was dit het geval. Bij alle andere proeven was inderdaad de stolling geheel afgelopen, wanneer met het uitwasschen der fibrine begonnen werd.

Slechts in twee proeven V en VI werd uit het paraglobuline bevattende mengsel een coagulum van merkbaar grooter gewicht verkregen dan uit het mengsel zonder paraglobuline. Maar juist in deze twee proeven was het niet gelukt de fibrine in eene vaste klomp te vereenigen, tengevolge waarvan deugdelijk uitwasschen onmogelijk gemaakt werd. In de andere proeven, waar-

van de uitkomsten meer betrouwbaar waren, bleek niets van eene vermeerderde afscheiding van fibrine tengevolge van de toevoeging van paraglobuline.

Ik meen daaruit te mogen afleiden, dat men geen recht heeft om de paraglobuline eene bevorderende werking op de stolling van het bloed toe te schrijven. Wanneer ook al de stolling van vloeistoffen als hydrocelevochten en pericardiaalvocht door vermenging met paraglobuline bevorderd kan worden, dan is dit zeker in de eerste plaats toe te schrijven aan de verontreiniging der paraglobuline met ferment. Maar ook andere verontreinigingen, kalkzouten b.v., kunnen invloed hebben. Of het door *Hammarsten* uitgesproken vermoeden, dat paraglobuline door alkali of zout te binden, de afscheiding der fibrine vollediger kan maken, durf ik niet te beslissen. Met betrekking tot zout wordt dit vermoeden door mijne proeven zeker niet gesteund. Zoolang niet een invloed van de paraglobuline zelve, ontdaan van alle bijmengselen, aangetoond is, — en zulk een invloed wordt weersproken door hetgeen bij het gebruik van zooveel mogelijk gezuiverde fibrine en ferment waargenomen wordt —, is er, naar het mij voorkomt, geen grond om aan te nemen, dat de paraglobuline bij de stolling van het bloed eene rol speelt.

De proeven X, XI, XII zijn genomen met het doel om na te gaan of, door eene langdurige aanraking met paraglobuline, oplossing van reeds gevormde fibrine kan worden veroorzaakt.

Het is bekend, dat oplossing van reeds gevormde coagula onder allerlei omstandigheden kan voorkomen. Gelijk boven (pag. 15) vermeld is, wordt door *Kühne* en *Ploss* en door *Hammarsten* een oplossend vermogen niet aan de paraglobuline zelve, maar aan bijmeng-

selen, wanneer zij verontreinigd is, toegeschreven.

Ik had er door voorloopige proeven mij reeds van overtuigd, dat ook, wanneer fibrinogeen enkel met nucleo-albumine en CaCl_2 vermengd wordt, de gevormde fibrine weer allengs opgelost kan worden, wanneer de nucleo-albumine niet versch bereid, maar een tijd lang met water in aanraking is geweest. Dit is in veel sterkere mate het geval met nucleo-albumine uit paardenplasma bereid, dan met deze stof, uit runderplasma verkregen. Daarom heb ik bij de hierboven beschreven proeven steeds gebruik gemaakt van nucleo-albumine uit runderbloed, die niet langer dan voor de bereiding volstrekt noodig was, met water in aanraking werd gelaten.

Uit de proeven XI en XII blijkt nu dat paraglobuline niet de minste oplossende werking vertoont wanneer zij, na het praecipiteeren met CO_2 en het weder oplossen in NaCl , niet langer dan 20 uur gedialyseerd werd en dan terstond gebruikt, zooals ik gewoon was te doen. Wanneer de fibrine nagenoeg een etmaal met de vloeistof, waaruit zij zich afgescheiden had, in aanraking bleef, werd de hoeveelheid even groot gevonden als wanneer zij reeds 5 à 6 uur na het begin der fermentwerking uit de vloeistof werd weggenomen, om het even of er al dan niet paraglobuline in de oplossing aanwezig was. Eerst wanneer de paraglobuline langen tijd met water in aanraking geweest was, wanneer zij 4 etmalen lang tegenover stroomend leidingwater gedialyseerd was, (bij de lage temperatuur waarbij de dialyse plaats had, werd de paraglobuline niet merkbaar met bacteriën verontreinigd) kwam, zooals uit Proef X blijkt, eene oplossende werking aan 't licht.

De vraag aan welke soort van stoffen de oplossing der fibrine moet worden toegeschreven, aan veranderde paraglobuline of aan veranderde bijmengselen, wensch ik hier niet te bespreken.

Voor mijn doel is het voldoende hier er op te wijzen dat de versch bereide paraglobuline de eens gevormde fibrine onaangetast liet, en dat het dus niet zou aangaan tegen mijn eerste 9 proeven — waarbij altijd van versch bereide paraglobuline gebruik gemaakt werd — het bezwaar aan te voeren dat misschien de paraglobuline eerst wel tot de vorming van fibrine kon hebben bijgedragen, maar daarna hetgeen er meer afgescheiden was dan in de vloeistof zonder paraglobuline, weer zou hebben opgelost.

HOOFDSTUK III.

Over het voorkomen van kalk in de fibrine.

Door het verrichten van de hierboven beschreven proeven, werd ik in de gelegenheid gesteld eene betrekkelijk groote hoeveelheid zuivere fibrine te verkrijgen.

Niet nutteloos vond ik het, vooral daar de rol, die de kalk bij de stolling speelt, in de laatste jaren zoo zeer op den voorgrond gekomen is, eene kalkbepaling van de fibrine te doen.

Brücke ¹⁾ had reeds in 1857 de aanwezigheid van kalk in de fibrine aangetoond. Hij extraheerde n.l. uitgewasschen runderfibrine met water, hetwelk 0.15 pCt HCl. bevatte; deze vloeistof werd verdampt tot een zesde van haar volumen en door toevoeging van salpeterzuur van eiwit bevrijd. De vloeistof werd nu gefiltreerd en met ammoniak behandeld, waardoor een zeer langzaam zich vormend neerslag te voorschijn kwam. Hieruit werden met behulp van azijnzuur en oxaalzuur kristallen van calciumphosphaat verkregen. *Brücke* kwam door zijn onderzoek tot de slotsom dat de kalk waarschijnlijk als calciumphosphaat in de fibrine voorkomt.

1) Virchow's Archiv. Bd. XII. S. 186.

Eenige jaren later heeft *Kistiakowsky* ¹⁾ aangetoond dat asch verkregen uit runderbloed hoofdzakelijk bestaat uit phosphorzure kalk en magnesia en op 100 deelen fibrine 0.625 deelen asch gevonden.

Hammarsten ²⁾ echter heeft in de fibrine, die hij, niet uit gestold bloed, maar door uit te gaan van eene zuivere oplossing van fibrinogeen, verkregen had, zelfs geen sporen van kalk kunnen aantoonen, maar hij zelf merkt daarbij op, dat hij slechts met geringe hoeveelheden (decigrammen) zuivere fibrine gewerkt had.

Freund ³⁾, die den invloed van CaCl_2 op de stolling van het bloed naging, vond in de fibrine ook kalk en heeft de hoeveelheid daarvan bepaald.

Hij gebruikte fibrine, door op de gewone wijze, bloed dat opgevangen werd, te kloppen. De op deze wijze verkregen fibrine werd uitgewasschen met gedestilleerd water om de bloedkleurstof te verwijderen; daarna geëxtraheerd met alkohol en ether.

De uitkomsten waren als volgt:

Hoeveelheid fibrine.		Hoeveelheid asch.	Percentgehalte van de asch.
van hondebloed	7.13 grm.	0.068	0.93
» paardebloed	12.42 »	0.119	0.95
» sereuse vloeistof	13.46 »	0.117	0.87
» » »	9.31 »	0.082	0.88

De samenstelling der asch was de volgende:

1) Pflüger's Archiv. Bd. IX. S. 443.

2) Nova Acta Reg. Soc. Ups. Ser. III Vol. X. s. 97.

3) Medizinische Jahrbücher 1888. S. 264.

Hoeveelheid asch.	CaO.	MgO.	P ₂ O ₅ .	Fe ₂ O ₃ .
0.068 grm.	0.0333 grm.	0.0023 grm.	0.0323 grm.	0.001 grm.
0.119 »	0.0547 »	0.0050 »	0.0051 »	0.004 »
0.117 »	0.057 »	0.0043 »	0.0556 »	sporen
0.082 »	0.040 »	0.0029 »	0.039 »	sporen

Hij voegt er aan toe, dat het ijzer wellicht afkomstig is van de bloedkleurstof, die mechanisch ingesloten was.

Arthus en *Pagès*, die zich evenals *Freund* langen tijd beziggehouden hebben met den invloed van kalkzouten op de stolling van het bloed, bevestigen de waarheid van de uitspraak der schrijvers, die aannemen, dat kalk in de fibrine aanwezig is.

Zij drukken zich aldus uit:

„La fibrine, préparée très soigneusement et parfaitement lavée renferme toujours des cendres en proportions sensiblement constantes, et ces cendres sont surtout formées de composés calciques”. ¹⁾

Prof. *Pekelharing* heeft kalk kunnen aantoonen in de asch van de fibrine, die uit fibrinogeen, waarin geen spoor van kalk gevonden werd, bereid was. De hoeveelheid fibrine door hem voor de proeven gebruikt was echter te gering om eene kwantitatieve bepaling van het kalkgehalte toe te laten. ²⁾

De kalkbepalingen, die ik verricht heb zijn gedaan met fibrine, die ik verkregen heb uit mijne bovengenoemde proeven.

De fibrine werd in een platinaschaal verbrand en

1) *Archive de physiol. norm. et path.* Ser. V. T. II pag. 743.

2) Onderzoekingen gedaan in het Physiologisch Laborat. te Utrecht 1891. 4e reeks I pag. 99.

aan roodgloeihitte blootgesteld, totdat de kool verdwenen was. De asch werd daarna met verdund zoutzuur uitgetrokken.

Bij alle bepalingen loste de asch in verdund zoutzuur slechts gedeeltelijk op. Er bleef eene bruingekleurde zelfstandigheid over, die door uitkoken met sterk zoutzuur gedeeltelijk opgelost werd; de lichtgeel gekleurde oplossing gaf met ferrocyanaalkalium een blauw praecipitaat.

Uit de met verdund zoutzuur verkregen oplossing werd de kalk op de bekende wijze als calciumoxalaat neergeslagen en als CaO gewogen.

Ik laat het resultaat van die bepalingen hier volgen:

Gewicht der fibrine.	Asch.	Rest der asch na het uittrekken met verdund HCl.	CaO.	
			absolute hoeveelheid.	berekend op 100 deelen droge fibrine.
I (Rund) 3.303 grm.	0.016 grm.	0.007 grm.	0.0021 grm.	0.064 grm.
II (Rund) 2.538 grm.	0.0215 »	0.0065 »	0.0026 »	0.1003 »
III (Paard) 1.716 grm.	0.0135 »	0.0045 »	0.0012 »	0.073 »

Het behoeft wel niet gezegd te worden dat de hoeveelheid der voor deze bepalingen gebruikte fibrine, al waren zij grooter, dan die waarover andere onderzoekers, die voor de bereiding der fibrine van zuiver fibrinogeen uitgingen, beschikten, toch te klein waren om daaruit het juiste gehalte aan kalk af te leiden. Maar er blijkt toch wel met zekerheid uit de hoeveelheden CaO, die gevonden werden, dat fibrine, ook als zij uit zuiver kalkvrij fibrinogeen bereid wordt, altijd

kalk bevat, en wel in een mate, die geen bezwaar oplevert tegen de opvatting, dat in de fibrine de kalk scheikundig met het eiwit verbonden is. Of het Calciumatoom als zoodanig met het eiwit in verbinding komt, dan wel op andere wijze, als calciumphosphaat b. v. daaromtrent is, naar ik meen, voorloopig niets met eenige zekerheid te zeggen.

In alle drie mijne proeven vond ik in de asch der fibrine eene zekere niet nader bepaalde hoeveelheid ijzer. Omtrent de beteekenis daarvan durf ik geen oordeel uitspreken.

HOOFDSTUK IV.

De samenstelling der fibrinogene stof.

Voor korten tijd deelde *Leon Lilienfeld* eenige verrassende waarnemingen mede, die in staat schenen te zijn een nieuw licht te werpen op de samenstelling der fibrinogene stof ¹⁾.

Deze stof zou door behandeling met kunstmatig maagsap gesplitst worden en daarbij eene nucleïne leveren.

„Wenn man“, zoo drukt hij zich uit, „eine ganz reine Fibrinogenlösung nach *Hammarsten's* Methode dargestellt mit Pepsin-Salzsäure versetzt, so entsteht nach kurzer Zeit eine milchige Trübung, welche sich almählich als ein gut filtrirbarer Niederschlag zu Boden setzt. Schmilzt man denselben mit Soda und Salpeter, so kann man reichliche Phosphormengen in ihm nachweisen. Dass es sich hier nicht um Verunreinigungen mit Lecithin handelt, erhellt aus dem Umstande, dass das in künstlichem Magensaft unlösliche Spaltungsproduct des Fibrinogens auch nach andauerndem Behandeln mit warmen Alkohol reichliche Phosphormengen enthält.“

Ik heb mij van de juistheid dezer waarneming niet

1) Verhandl. der physiol. Gesellsch. Berlin. Sitzung am 21 Juli 1893.

kunnen overtuigen. Herhaaldelijk heb ik fibrinogeen, uit runder of paardebloed zuiver bereid, met pepsine en zoutzuur gedigereerd, maar nooit heb ik daarbij de vorming van een praecipitaat waargenomen.

Wanneer eene oplossing van fibrinogeen niet arm aan zout was, ontstond er door toevoeging van HCl tot een gehalte van 0.2 pct. een praecipitaat, dat na vermenging met kunstmatig maagsap bij 37° C. volkomen oploste.

Was de oplossing van fibrinogeen eerst door dialyse tegenover gedestilleerd water van de overmaat van zout bevrijd, dan veroorzaakten de eerste droppels verdund zoutzuur, die er aan toegevoegd werden wel troebelheid, maar het praecipitaat werd door meer zoutzuur gemakkelijk opgelost, zoodat de vloeistof, wanneer het gehalte aan HCl 0.2 pCt. bedroeg, weer volkomen helder was. Ook in deze oplossingen ontstond na digestie met kunstmatig maagsap niet het geringste praecipitaat.

Het is mij uit den aard der zaak niet mogelijk eene verklaring te geven van het verschil tusschen de waarneming van *Lilienfeld* en mij. Wellicht zullen nadere mededeelingen van *Lilienfeld* hieromtrent eenig licht brengen.

Ik wil hieraan nog slechts toevoegen dat ik de asch van met soda en salpeter verbrand zuiver fibrinogeen vrij van phosphorzuur vond. Aangezien het door mij bereide fibrinogeen alle voor deze stof karakteristieke eigenschappen vertoonde, kan ik dus niet toegeven dat die stof, in plaats van tot de globulinen, tot de nucleoproteïden gerekend zou moeten worden.

Eene andere, zeer opmerkelijke waarneming van *Lilienfeld* heb ik volkomen kunnen bevestigen, dat namelijk uit eene zuivere oplossing van fibrinogene

stof door middel van azijnzuur één praecipitaat verkregen kan worden dat, in een weinig alkali opgelost, door CaCl_2 alleen, zonder medewerking van nucleoalbumine, tot stolling gebracht kan worden.

Is de oplossing der fibrinogene stof niet arm aan zout dan wordt het praecipitaat door overmaat van azijnzuur niet opgelost, maar wel, wanneer de vloeistof door dialyse tegenover gedestilleerd water zoover van zout bevrijd is, dat het fibrinogeen nog juist opgelost gehouden wordt. Wordt bij de zoutarme oplossing eene zeer geringe hoeveelheid azijnzuur gevoegd, dan wordt de vloeistof terstond gelijkmatig troebel. Na eenige oogenblikken beginnen zich vlokken te vertoonen, die, vooral, wanneer het glas geschud wordt, grootendeels tot één geleiachtige klomp aaneenkleven. Wordt nu de gelei uit de vloeistof genomen, met gedestilleerd water gewasschen, en in eene uiterst verdunde oplossing van Na_2CO_3 opgelost, dan verkrijgt men eene heldere vloeistof, die, zooals *Lilienfeld* ontdekte, door toevoeging van CaCl_2 in eenige oogenblikken tot stolling gebracht wordt. Het coagulum heeft volkomen de eigenschappen van fibrine, het lost niet merkbaar op in NaCl 4 pCt. het lost niet op, maar zwelt op in HCl 0.2 pCt. en het wordt daarentegen gemakkelijk opgelost door digestie met kunstmatig maagsap bij 37°C .

Lilienfeld is, ofschoon hij zich zeer voorzichtig over de zaak uitlaat, geneigd te onderstellen dat de fibrinogene stof door het azijnzuur gesplitst wordt in een gedeelte dat met kalk fibrine kan leveren en een ander dat de stolling tegengaat.

Het ligt wel voor de hand hierbij te denken aan de ontdekking van *Hammarsten*, dat fibrinogeen bij de stolling zoowel door verwarming op $56-60^\circ \text{C}$. als

door de werking van ferment, steeds naast een onoplosbaar, ook een oplosbaar stollingsproduct, de zoogenaamde fibrineglobuline, levert.

Ik vond nu verschillende malen dat de, van het door azijnzuur veroorzaakte praecipitaat gefiltreerde, vloeistof nog een spoor onveranderd fibrinogeen bevatte. Wanneer het zuur door eene overeenkomstige hoeveelheid natronloog geneutraliseerd was, — ik gebruikte $\frac{1}{10}$ normaal oplossingen — dan ontstond er bij 53° of 54° C. eene geringe opalescentie. De vloeistof werd nu tot op 60° C. verwarmd en dan gefiltreerd. Het heldere filtraat werd nu bij 65° troebel en wel minstens even sterk, als het bij 60° geweest was. Daar nu het oplosbare stollingsproduct altijd in veel geringer hoeveelheid ontstaat dan het onoplosbare en dus hier, wanneer de bij 65° C. stollende stof alleen afkomstig geweest was van de geringe hoeveelheid fibrinogeen, die het azijnzuur opgelost gelaten had, de troebelheid bij 65° C. niet of nauwelijks bemerkbaar geweest moest zijn, moet hieruit wel worden afgeleid, dat na de praecipitatie met azijnzuur behalve een weinig fibrinogeen, ook eene bij 65° C. stollende eiwitstof in oplossing gebleven was.

Het vermoeden wordt daardoor opgewekt, dat fibrinogene stof, bij behandeling met verdund azijnzuur, evenals bij de stolling door ferment of door verwarming op 56° C., naast eene onoplosbare, ook eene oplosbare eiwitstof levert. Men zou zich dan hebben voor te stellen, dat het onoplosbaar product in staat is aan anorganische kalkzouten kalk te ontleenen en dat de werking van het fibrineferment hierop zou neerkomen dat het de fibrinogene stof splitst en tegelijkertijd het eene splitsingsproduct in staat stelt kalk op te nemen.

Is deze voorstelling juist, dan moet ook bij de behandeling van het door azijnzuur verkregen, met water afgewasschen en in soda opgeloste praecipitaat met CaCl_2 , alleen fibrine verkregen worden, maar geen fibrineglobuline. Inderdaad vond ik in het serum waaruit deze fibrine verwijderd was, wel nog eene zeer geringe hoeveelheid van een bij 52° à 54° C. stollende stof, maar, nadat deze door filtratie verwijderd was, bleef de vloeistof bij verdere verhitting, zelfs tot 100° C. toe, helder.

Het is mij echter tot mijn leedwezen niet mogelijk geweest, dit onderzoek meer in bijzonderheden voort te zetten.

Hoe evenwel het antwoord zijn mag, dat door verder onderzoek gegeven zal worden op de door *Hammarsten* nog onbeslist gelaten vraag of de fibrineglobuline als een splitsingsproduct dan wel als eene modificatie van fibrinogeen moet worden beschouwd, in elk geval schijnt het mij onjuist de beteekenis van het fibrineferment voor de stolling als van minder belang voor te stellen.

Wanneer *Lilienfeld* zegt „Zur Erklärung des Gerinnungsvorganges brauchen wir also mithin nicht mehr den complicirten Apparat von Ferment, Serumglobulin und Fibrinogen”, ¹⁾ dan kan ik hem dit alleen in zoverre toegeven, als de serumglobuline bij de stolling buiten rekening gelaten kan worden.

Dat bij de stolling de fibrine ontstaat door de werking van het ferment, eene nuclealbumine-kalkverbinding, op de fibrinogene stof, schijnt mij door geen enkele waarneming tegengesproken te worden.

1) l. c. S. 4.

STELLINGEN

I.

Anorganische ijzerzouten kunnen door het spijsverteringskanaal geresorbeerd worden.

II.

De zoogenaamde intercellulaire bruggen tusschen epithelium- en spiercellen ontstaan eerst na den dood door inschrompeling.

III.

Alcohol is met betrekking tot de stofwisseling geen spaarmiddel.

IV.

Ten onrechte ontkent GEGENBAUR het bestaan van een æquivalent der vrouwelijke urethra bij den man.

V.

De cholerarood-reactie heeft geen waarde voor het herkennen van de kummabacillen van KOCH.

VI.

Glycolyse in het bloed is een postmortaal verschijnsel.

VII.

Bij uitgebreid oedeem tengevolge van nephritis maken men insnijdingen in de huid.

VIII.

Bij diphtherische croup diene tracheotomie tot behandeling van het proces.

IX.

Therapie van varices van het been zij onderbinding der vena saphena of resectie der vena, hetzij partieel, hetzij totaal.

X.

Steilschrift is te verkiezen boven schuinschrift.

XI.

De proeven en onderzoekingen van DEUTSCHMANN maken het zeer waarschijnlijk dat de sympathische oogontsteking een, in de continuïteit van het weefsel van het eene oog tot het andere, voortschrijdend proces van microphytischen oorsprong is.

XII.

Bij scrophuleuse oogaandoening zij hoofdzaak verbetering van den algemeenen lichaamstoestand.

XIII.

In verpleging van morfinisten moest van Staatswege voorzien worden.

XIV.

Alcohol als antipyreticum toe te dienen bij zwakke patienten, verdient afkeuring.

XV.

Met het oog op de gunstige resultaten verkregen bij laparotomieën en ovariectomieën moet de indicatio van Sectio Caesarea ruimer gesteld worden.

XVI.

Wanneer zich bij eene gravida verschijnselen van abortus vertoonen, mag niet terstond met het toepassen van weeën bevorderende middelen begonnen worden.

XVII.

Ecclampsie is geen infectieziekte.

XVIII.

Primaire lateraal-sclerose bestaat niet.

XIX.

Bij vaccinatie gebruike men uitsluitend animale lympe.

XX.

Het is wenschelijk dat van Staatswege gerechtelijke geneeskundigen aangesteld worden.

216

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

217

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

218

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

219

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

220

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

221

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

222

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

223

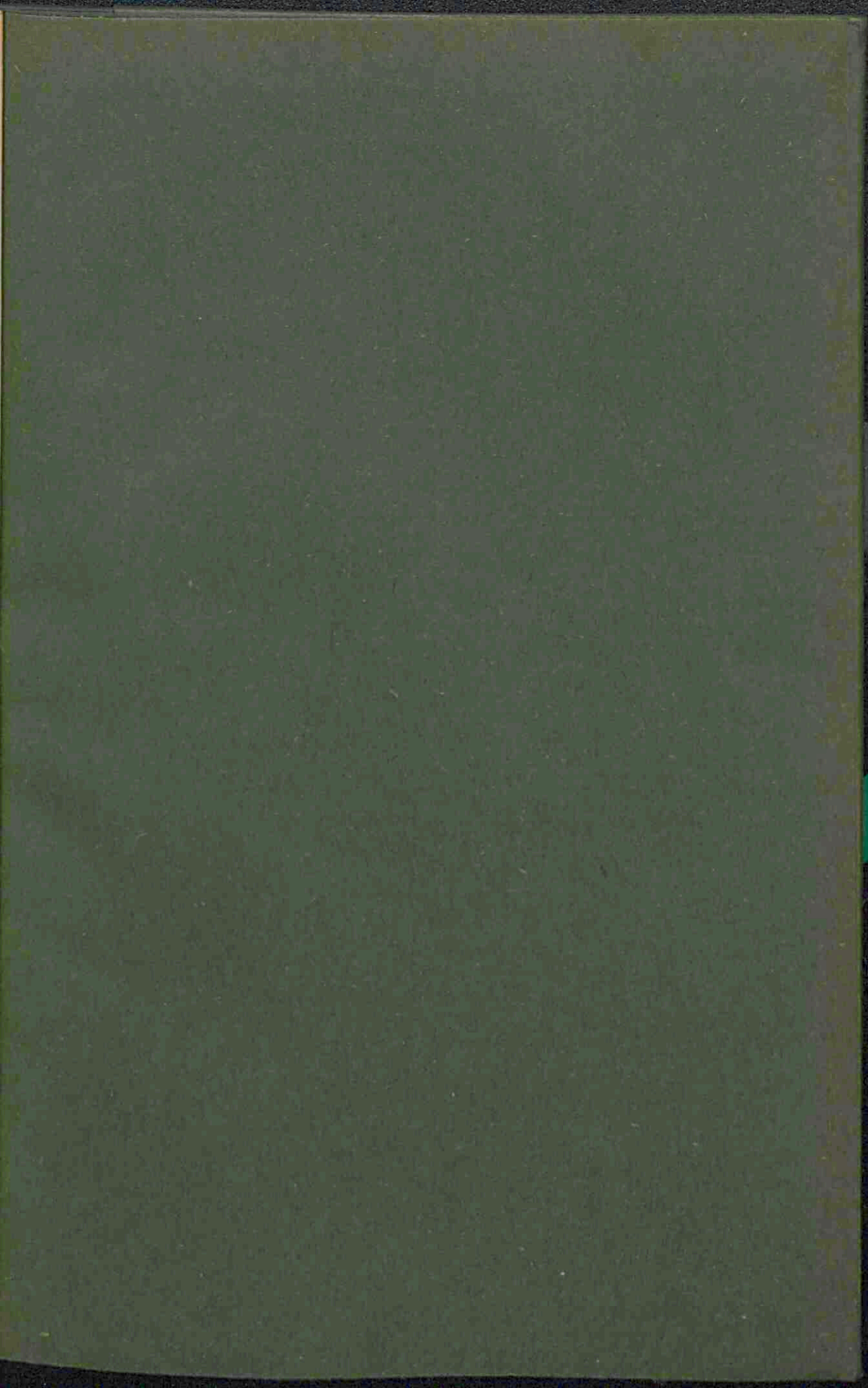
Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

224

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office

225

Abstract of the Report of the
Commissioner of the General Land Office





A.

1