



Ionenbalanceering

<https://hdl.handle.net/1874/273822>

A 40 1921

5 July 1921

IONENBALANCEERING



T. P. FEENSTRA

ht

IONENBALANCEERING

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3587 8192

Diss. Utrecht 1921

IONENBALANCEERING

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN
DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG
VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. W. VOGELSANG
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN
WIJSBEGEERTE, VOLGENS HET BESLUIT VAN DEN
SENAAT DER UNIVERSITEIT, TE VERDEDIGEN TEGEN
DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEES-
KUNDE OP DINSDAG 5 JULI 1921 DES NAMIDDAGS
TE 4 UUR DOOR

TJERK PIETER FEENSTRA

ARTS

GEBOREN TE GORINCHEM



AAN MIJNE OUDERS
EN AAN MIJNE VROUW

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
PRESS

Gaarne neem ik de gelegenheid te baat, mij door het voltooiën van dit proefschrift geboden, om U, Hooggeleerden en Lectoren in de geneeskundige en philosophische faculteit dank te zeggen voor de voorlichting en steun, die ik van U bij mijne studie mocht genieten.

In het bijzonder denk ik daarbij aan U, Hooggeleerde ZWAARDEMAKER, hooggeachte Promotor. De vriendelijkheid, waarmede Gij mij reeds als jong student gelegenheid gaf om in Uw laboratorium te werken en de hulpvaardigheid, waarmede Gij mij steeds in mijn werk voort hebt geholpen, hebben mij zeer aan U verplicht. Gedurende de jaren, dat ik het voorrecht had Uw assistent te zijn, hebt U mij in de gelegenheid gesteld de physiologie nader te leeren kennen. Door den aangename omgang en het belangwekkende der onderzoekingen is het werken in Uw laboratorium voor mij steeds een genoegen geweest.

De bereidwilligheid, Hooggeleerde RINGER, waarmede Gij mij steeds behulpzaam waart, stel ik op hoogen prijs.

De moeite, Hooggeleerde KRUYT, die U zich hebt willen getroosten om een der moeilijkste onderwerpen van de colloidchemie met mij te bespreken en de kritiek, die ik van U mocht ontvangen, zijn voor mij van groot belang geweest.

INHOUD.

HOOFDSTUK 1. LITTERATUUROVERZICHT.

	Bladz.
Inleiding	1
§ 1. Het werk van Sydney Ringer	2
§ 2. Het onderzoek onder invloed van de theorie der electrolytische dissociatie	6
§ 3. De verklaringen volgens de theorie der massawerking	13
§ 4. Kolloïdchemische aanknoopingspunten	16
§ 5. Verdere pogingen ter verklaring	20

HOOFDSTUK 2. EXPERIMENTEELE GEGEVENS.

Inleiding	23
§ 1. De proefopstelling	24
§ 2. Het onderzoek van het uranylmetaat	28
§ 3. Het onderzoek van de thoriumzouten	32
§ 4. Het onderzoek der kalium- en rubidiumzouten	34
§ 5. Het onderzoek der radiumemanatie	36
§ 6. Bespreking der resultaten	37

HOOFDSTUK 3. EEN THEORIE DER BALANCEERING.

Inleiding	40
§ 1. De samenstelling der grenslaag protoplasma-weefselvloeistof	41
§ 2. De aschbestanddeelen der eiwitstoffen resp. lipoiden	48
§ 3. Electrochemische beschouwingen	56

HOOFDSTUK 4. TOEPASSINGEN VAN DE THEORIE.

§ 1. Het zeewater en de vloeistof van Sydney Ringer	65
---	----

	Bladz.
§ 2. Proeven van Loeb	73
§ 3. De gewijzigde vloeistoffen van Ringer	75

HOOFDSTUK 5.

Beschouwingen over de theorie	78
---	----

HOOFDSTUK 6.

De ionenbalanceering en het radio-physiologisch antonisme	85
---	----

SAMENVATTING	89
------------------------	----

HOOFDSTUK I.

Litteratuuroverzicht.

INLEIDING.

Bij het onderzoek van organen, die uit het lichaam zijn genomen, is, ten einde een zooveel mogelijk normale werking van het orgaan te verkrijgen, het onderhouden van een goede circulatie een der voornaamste eischen. Het eerste uitgebreide onderzoek in deze richting werd gedaan door de school van LUDWIG, wiens leerlingen omstreeks 1865 verschillende, van het lichaam geïsoleerde, organen kunstmatig doorstroomden ¹⁾. Als doorstroomingsvloeistof werd toen gebruikt versch gedefibrineerd bloed van dezelfde diersoort. In den beginne trachtte men dus, ook wat de circulatie betreft zooveel mogelijk de normale verhoudingen te benaderen, doch reeds spoedig daarna bleek, dat wat de doorstroomingsvloeistof betreft, men ook met andere vloeistoffen zijn doel kan bereiken.

Toen S. RINGER omstreeks 1880 een onderzoek instelde naar de werking van verschillende stoffen op het hart van den kikvorsch, maakte hij voor de kunstmatige doorstroming van het hart gebruik van gedroogd ossenbloed, dat opgelost werd in water, zoodat hieruit een oplossing ontstond, die overeenkwam met normaal bloed. Deze vloeistof werd nu verdund met eene zoutoplossing van 0.75% NaCl en wel zoodanig, dat op een deel bloed vijf deelen zoutoplossing werden toegevoegd ²⁾. RINGER heeft toen getracht om den invloed na te gaan, die de verschillende bestanddeelen van het bloed uitoefenen op de contracties van het kikvorschenhart. Reeds tevoren

¹⁾ Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig, herausgegeben von Ludwig 1866—1874.

²⁾ S. Ringer. Journal of Physiology Vol. 3 p. 380, 1880—1882.

was door MERUNOWICZ ¹⁾ aangetoond, dat de asch van verbrand bloed, indien deze weer werd opgelost, in staat was om het hart te doen kloppen, terwijl GAULE ²⁾ concludeerde, dat het werkzame bestanddeel van deze asch een alkalicarbonaat zou zijn. In tegenstelling met KRONECKER ³⁾ kwam hij tot de slotsom, dat het hart bij kunstmatige doorstrooming zijne organische voedingsstoffen uit zijn eigen weefsel zou putten zoodat in de voedingsvloeistof alleen anorganische bestanddeelen aanwezig behoefden te zijn.

§ 1. Het werk van Sydney Ringer.

Langs zuiver empirischen weg is het toen aan S. RINGER, een practizeerend arts te Londen, gelukt om de beteekenis der anorganische bestanddeelen in de voedingsvloeistof duidelijk aan te toonen.

Uitgaande van de eenvoudige 0.75 % keukenzoutoplossing kwam hij tot de ontdekking ⁴⁾, dat deze oplossing niet in staat is om het hart normaal te doen kloppen, maar dat dit wel wordt bereikt indien aan deze oplossing een kleine hoeveelheid bloed of een spoor van eiwitstof wordt toegevoegd. In die eiwitstof waren albumine en kalium de twee hoofdbestanddeelen. Bij het afzonderlijk beproeven van deze bleek, dat toevoeging van kaliumchloride hetzelfde effect had op het hart als de toevoeging van de oorspronkelijke vloeistof. RINGER trok hier toen de conclusie uit, dat een natriumchlorideoplossing met wat kaliumchloride in staat zou zijn om het hart normaal te doen kloppen. Dit gegeven strookt niet met de werkelijkheid. RINGER heeft ook zelf de fout ontdekt, die in zijne proefneming was geslopen, want in een volgende mededeeling ⁵⁾ geeft hij aan, dat het voor de oplossingen gebruikte water, afkomstig uit de waterleiding, niet als zuiver water mag worden beschouwd. Een kikvorschhart, doorstroomd met een 0.75% keukenzoutoplossing vertoonde een verlengde diastole en een tonusvermeerdering, hetgeen waarschijnlijk op rekening van het calciumgehalte van het leidingwater gesteld moest worden.

Eene herhaling van zijn proeven met gedestilleerd water en chemisch zuivere zouten gaf dan ook het resultaat, dat in de

¹⁾ Merunowicz, zie „Arbeiten” l.c.

²⁾ Gaule. Du Boys Reymond's Archiv 1878 p. 291.

³⁾ Kronecker. Du Boys Reymond's Archiv. 1881, p. 474 en 1882, p. 569.

⁴⁾ S. Ringer. Journal of Physiology Vol. 3 p. 380, 1880—1882.

⁵⁾ S. Ringer. Journal of Physiology Vol. 4 p. 29, 1883.

S. Ringer. Journal of Physiology Vol. 4 p. 222, 1883.

voedingsvloeistof niet alleen natriumchloride en kaliumchloride noodig zijn, maar dat ook de aanwezigheid van calciumchloride vereischt wordt. Een gewone keukenzoutoplossing van 0.75 % is op zichzelf niet in staat, om het hart te doen kloppen, na korten tijd verliest het zelfs zijne prikkelbaarheid.

Toevoeging van calciumzout aan de zoutoplossing verbetert wel eenigszins de werking van het hart, maar toch blijft er een lichte tonus en een verlengde diastole bestaan. Wordt echter bovendien nog kaliumchloride toegevoegd, dan gaat het hart kloppen, zooals dit met het bloedmengsel het geval is. Oorspronkelijk gebruikte RINGER een calciumzout, dat de vloeistof licht alcalisch maakte, doch een opzettelijk onderzoek leerde hem, dat indien het gebruikte calciumzout neutraal reageerde, er toch een ander bicarbonaat aanwezig moest zijn. Zij het ook dat zonder bicarbonaat het hart nog normaal eenige uren doorklopt.

De conclusies, die RINGER hieruit trok, zijn, dat een calciumzout noodig is voor het onderhouden der contractiliteit van de hartspeer en dat het kaliumzout en calciumzout in een bepaalde verhouding aanwezig moeten zijn om een normale contractie te verzekeren. Deze gevolgtrekkingen baseert hij op het feit, dat een hart niet blijft kloppen, indien het wordt doorstroomd met een gewone zoutoplossing met kaliumchloride, met bicarbonaat of met beiden. Heeft echter de contractiliteit opgehouden, dan is toevoeging van een calciumzout voldoende om deze te doen weerkeren. Indien dit zoo was, dan zou een physiologische oplossing, waarin het kaliumchloride niet aanwezig is, in staat moeten zijn om het hart normaal te doen kloppen. Dit is echter niet juist. Wel is waar gaat een hart, dat met calciumlooze physiologische zoutoplossing wordt doorstroomd, direct stilstaan, maar ook een hart doorstroomd met een kaliumlooze physiologische zoutoplossing gaat, gemiddeld na een half uur, eveneens stilstaan. Het calciumzout is dus niet het eenige noodzakelijke voor de automatie van het hart. Maar in zijn tweede conclusie, dat het kaliumchloride en het calciumchloride in een bepaalde onderlinge verhouding aanwezig moeten zijn om normale contracties van het hart te verkrijgen, heeft RINGER voor het eerst een verschijnsel beschreven, dat van blijvende waarde is en voor allerlei andere organen is bevestigd.

Het gelukte RINGER om aan te toonen, dat in het normale organisme een antagonisme bestaat, dat zelfs doorgaat indien het calciumchloride en kaliumchloride niet in physiologische hoeveelheden maar in toxische hoeveelheden voorkomen ¹⁾.

¹⁾ S. Ringer. Journal of Physiology, Vol. 5 p. 247, 1884.

Bovendien bleek, veratrine een werking te bezitten, die overeenkomt met die van calciumzouten ¹⁾. Het veratrine is, hoewel onvolmaakt, in staat om een calciumzout te vervangen, terwijl, bovendien het kaliumchloride de tonische werking van het veratrine, evenals die van het calciumchloride kan tegenwerken. De temperatuur heeft op dit proces een zoodanigen invloed, dat bij warm weer het kaliumchloride volkomen de veratrine kan tegenwerken, maar dat omgekeerd veratrine slechts gedeeltelijk een groote hoeveelheid kaliumchloride kan balanceeren.

RINGER komt tot de conclusie ²⁾, dat er waarschijnlijk geen directe verbinding tusschen het kalium en calcium en de moleculen van het spierweefsel optreedt en dat, indien er al eene verbinding gevormd mocht worden, deze van zeer lossen aard moet zijn. Hij grondt dit vermoeden op het feit, dat bij verandering van circulatievloeistof er ook spoedig veranderingen optreden in de werking der hartspier.

Reeds in 1880 had BIEDERMANN ³⁾ aangetoond, dat een dwarsgestreepte spier, indien hij in een zuivere NaCl oplossing werd gelegd, rytmische contracties vertoont. Toevoeging van calciumchloride plus een kaliumzout doet deze contracties ophouden ⁴⁾.

Het kaliumchloride heeft een dusdanigen invloed op de contracties der dwarsgestreepte spier, dat toevoeging van 1 deel KCl aan 5000 deelen NaCl-oplossing, in staat is om den tonus der spier sterk te verhoogen, terwijl het CaCl₂ deze werking van het kaliumchloride te niet doet. Te dezen opzichte constateerde RINGER ⁵⁾ een verschil tusschen de hartspier en de skeletspier, maar wat betreft het antagonisme tusschen de calcium- en kaliumzouten: dit is voor de skeletspier en hartspier gelijk. Het hart van den kikvorsch en de aal komen wat de werking der anorganische zouten betreft, in alle opzichten overeen. Bovendien kon RINGER ⁶⁾ aantoonen, dat ook voor de bloedstolling een antagonisme is waar te nemen.

Voor het verder onderzoek naar de physiologische werking van deze kleine hoeveelheden calciumchloride en kaliumchloride gebruikte RINGER nu visschen. In gedestilleerd water sterven zij in

1) S. Ringer. Journal of Physiology. Vol. 5 p. 352, 1884.

2) S. Ringer. Journal of Physiology. Vol. 6 p. 150, 154, 361. 1885.

3) Biedermann. Wiener Sitzungsber. Bd. 132, p. 257, 1880.

4) S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. 7 p. 291, 1885.

5) S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. 8 p. 15 en 20, 1887.

6) S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. 11 p. 369, 1890.

een paar uur, maar indien aan water wat calciumchloride werd toegevoegd dan kon het leven worden verlengd. Behalve het calciumzout bezitten ook kalium- en natriumzouten deze eigenschap, maar volgens RINGER hebben calciumzouten die wel in de sterkste mate.

Water zou, naar de meening van S. RINGER niet zonder meer de normale functie van het protoplasma helpen onderhouden, het zou, alleen aanwezig, verwoesting bewerkstelligen. Deze verwoesting zou worden tegengegaan door toevoeging van een kleine hoeveelheid kaliumchloride en calciumchloride. Bovendien wordt door het gedestilleerde water de samenhang der cellen verbroken; RINGER¹⁾ beschrijft dit alles als een zwelling van de stof, die de cellen verbindt. Met BUXTON werden de proeven omtrent het gedrag van gedestilleerd water voortgezet. Hij gebruikte daarvoor de alge laminaaria, waarbij hij zag, dat de buitenste laag cellen in gedestilleerd water sterk zwollen, welke zwelling ook weer werd tegengegaan door toevoeging van calciumzouten.

Onder invloed van eene posthume mededeeling van C. NÄGELI²⁾, is het aan RINGER³⁾ en LOCKE⁴⁾ gebleken, dat hunne conclusies, dat gedestilleerd water schadelijk zou zijn voor zee- en zoetwater-visschen, foutief waren. NÄGELI had namelijk gevonden, dat gedestilleerd water, waarmee het hem gelukte om de alge *Spyrogyra* te dooden, verontreinigd was met koperzouten. Een nader onderzoek leerde hem, dat de koperzouten reeds dan in het gedestilleerde water giftig werkten, indien $\frac{1}{7000.000}$ deelen koper in de vloeistof aanwezig waren. Deze uitkomsten waren voor S. LOCKE⁴⁾ en RINGER³⁾ aanleiding om Ringer's proeven met gedestilleerd water te herhalen, waarna beiden tot de slotsom kwamen, dat werkelijk zuiver gedestilleerd water onschadelijk was.

Opzettelijk is in dit overzicht van het werk van S. RINGER gesproken van antagonisme der zouten, teneinde zijn nomenclatuur zoo veel mogelijk te volgen. Zooals uit het overzicht blijkt heeft RINGER het verschijnsel zeer uitvoerig en aan verschillende proefdieren onderzocht, zoodat mag worden aangenomen, dat door hem de basis voor de studie hiervan is gelegd. Dat hij met verklaringen steeds zeer spaarzaam is geweest behoeft ons niet te verwonderen,

¹⁾ S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. 7 p. 118, 1885.

²⁾ C. Nägeli. Denkschr. der Schweiz. Naturf. Gesellsch. Bd. 33, 1893.

³⁾ S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. 22. 1897/1898.

⁴⁾ S. Locke. Journ. of Physiol. Vol. 18 p. 319, 1895.

daar in zijn tijd twee belangrijke gegevens t.w. de theorie der electrolytische dissociatie en de kolloïdchemie nog slechts in wording waren. Wel echter kunnen we uit zijn werk leeren, welk een belangrijke factor zuiver in glas gedestilleerd water bij biologische onderzoekingen is.

§ 2. Het onderzoek onder invloed van de theorie der electrolytische dissociatie.

De ontwikkeling der physische scheikunde is voor de verklaring van de physiologische werking der zouten van groot belang geweest. Omstreeks denzelfden tijd, dat S. RINGER door zijn onderzoek de beteekenis van bepaalde zouten voor de levende cel trachtte aan te toonen, werd door SVANTE 'ARRHENIUS de algemeen bekende theorie der electrolytische dissociatie ontwikkeld. Eerst 6 jaar daarna, in 1893, is het DRESER¹⁾ gelukt om de beteekenis der ionen voor physiologische processen te bewijzen. Bij het onderzoek naar de giftigheid van kwikzilverzouten bleek het hem, dat deze giftigheid afhankelijk was van het aantal vrije Hg-ionen, in de vloeistof aanwezig. In verband met de zienswijze, dat zoutwerkingen als ionenwerkingen zijn te beschouwen, heeft LOEB deze verschijnselen nader bestudeerd. Als proefobject diende hem in de eerste plaats de spier van den kikvorsch²⁾, waarop hij den invloed van verschillende electrolyten naging. Ten einde quantitatief te werk te kunnen gaan gebruikte hij de wateropname en de prikkelbaarheid van de spier als maatstaf. Daarbij gelukte het hem in de eerste plaats de osmotische bevindingen van HAMBURGER³⁾ te bevestigen, daarnaast was het hem mogelijk om aan te toonen, dat de relatieve giftigheid van de verschillende ionen uit een bepaalde groep van het periodiek systeem afhankelijk was uitsluitend van de ionenbewegelijkheid. Bovendien onderzocht hij het merkwaardige verschijnsel⁴⁾, dat een kikvorschspier in een zuivere 0.7% NaCl oplossing rythmisch gaat contraheeren, een verschijnsel, dat zooals bekend reeds in 1880 door BIEDERMANN was gevonden. Niet alleen natriumchloride, maar ook oplossingen van andere zouten waren daartoe in staat. En eveneens bevestigde hij de vondsten van RINGER, dat

1) Dreser. Arch. f. exp. Path., 32, 456, 1893.

2) J. Loeb. Pfl. Archiv. Bd. 119 p. 1, 1898.
ibid. Bd. 121 p. 457, 1898.

3) H. J. Hamburger. Osm. Druck und Ionenlehre. 1901.

4) J. Loeb. Festschrift A. Fick. Braunschweig F. Vieweg, 1899 p. 101.

toevoeging van een kleine hoeveelheid van een ander zout b.v. calciumchloride de rythmische contracties kon doen ophouden.

Bij organen zooals de spieren van kikvorschen blijft men genoodzaakt zich te houden aan een bepaalden osmotischen druk. En ook voor het antagonisme van de zouten, is men steeds gebonden aan het feit, dat de totale concentratie der ionen in de vloeistof binnen zekere grenzen moet blijven. Een behoorlijke variatie in de hoeveelheid der toegevoegde zouten wordt daardoor onmogelijk, zoodat een oplossing van het vraagstuk bij dit object hierdoor in den weg wordt gestaan.

Het moet daarom als een groote vooruitgang worden beschouwd, dat LOEB¹⁾ zijn onderzoek met Funduluseieren en de uit die eieren ontwikkelde visschen, voortzette. Het gelukte LOEB om aan te toonen, dat de eieren van de zeeegel *Fundulus heteroclitus* zich evengoed in gedestilleerd water konden ontwikkelen als in gewoon zeewater. De eenigste eisch voor het welslagen der proeven, was daarbij, dat het gedestilleerd water absoluut zuiver moest zijn. Indien echter aan het gedestilleerd water keukenzout werd toegevoegd, dan bleek, dat met toenemende concentratie van het keukenzout de vloeistof steeds giftiger werd. In normaal zeewater ontwikkelen deze eieren zich, nadat ze bevrucht zijn, in een betrekkelijk langen tijd, n.m. 8—21 dagen. Bij deze ontwikkeling is op den derden dag de circulatie in het embryo al begonnen. Deze zelfde ontwikkeling van het ei kan ook plaats hebben in zuiver gedestilleerd water, waaruit LOEB de conclusie trok, dat de eieren en ook de visschen de zouten in het zeewater niet voor hunne ontwikkeling noodig hebben. Worden echter de versch bevruchte eieren, direct in een zuivere keukenzoutoplossing gebracht, dan ontwikkelen de eieren zich niet. Voegt men aan de keukenzoutoplossing wat calciumchloride toe, dan kunnen de bevruchte eieren embryonen vormen en wordt daar bovendien nog wat kaliumchloride aan toegevoegd, dan kunnen de eieren zich geheel ontwikkelen en ook de jonge visschen blijven leven. LOEB maakt hieruit de gevolgtrekking, dat een zuivere keukenzoutoplossing giftig werkt en dat calciumchloride en kaliumchloride het chloornatrium zouden kunnen ontgiften.

Bovendien bleek LOEB, dat de zwembewegingen van *Gonionemus*, een meduse, alleen in een keukenzoutoplossing met kalium en calciumzouten blijven bestaan, maar dat deze bewegingen in gedestilleerd water en in een zuivere keukenzoutoplossing direkt ophouden. Op-

¹⁾ J. Loeb. *American Journal of Physiology*, 3, p. 327, 1900.

ibidem

3, p. 383, 1900.

lossingen van $MgCl_2$ en $CaCl_2$ zonder keukenzout deden de zwembewegingen van *Gonionemus* ophouden, terwijl in dezelfde oplossing de trilhaarbeweging der *Funduluseieren* ongestoord voortging. LOEB trekt hieruit de slotsom, dat embryonaal weefsel en in het bijzonder eicellen zich anders zouden gedragen dan weefsels van volwassen individuen. Hoewel er ontegenzeggelijk verschillen zullen bestaan tusschen embryonaal en volwassen weefsel, wat betreft hun gedrag tegenover zouten, mag dit toch nog niet zonder meer uit LOEB'S proeven worden geconcludeerd. Bij de proeven verricht met de eieren van *Fundulus heteroclitus* moet men steeds er op bedacht zijn, dat de eieren omgeven zijn door een membraan, en dat de permeabiliteit van deze membraan een voornaam punt vormt, omdat de zouten eerst na passeering door die membraan op het protoplasma inwerken. Bij de meeste cellen der hoogere dieren waar geen membraan aanwezig is, zullen de zouten direct met de oppervlaktelaag van het protoplasma in aanraking komen. Op zichzelf zou dit reeds voldoende zijn om in LOEB'S proeven het wisselende gedrag tusschen eieren eenerzijds en volwassen weefsel anderzijds te kunnen verklaren.

In verder uitgebreid onderzoek gelukte het LOEB tevens om naast een groot aantal kwalitatieve gegevens zich tevens kwantitatieve gegevens te verschaffen. De ontwikkeling van bevruchte *Funduluseieren* bleek, zooals reeds boven is medegedeeld, bij stijgende concentratie van het keukenzout sterk te worden benadeeld. In een $\frac{5}{8}$ moleculair NaCl oplossing werd zelfs de ontwikkeling geheel onmogelijk¹⁾. Hiermee was voor LOEB het bewijs geleverd, dat keukenzout indien het alleen aanwezig was in de concentratie waarin het ook in het zeewater voorkomt, giftig werkt. En door het feit, dat toevoeging van wat kaliumchloride en calciumchloride deze giftige werking weer vermindert, is LOEB er toe gekomen om hier van ontgiftiging te kunnen spreken²⁾. In die gevallen, waarin de zouten in een zoodanige verhouding voorkomen, dat zij geen giftige werking veroorzaken, zou men dan te doen hebben met „physiologisch geaequibreerde zoutoplossingen”.

Voor het verder onderzoek der antagonistische zoutwerkingen ging LOEB met GIES³⁾ na hoeveel calciumchloride, of een ander

¹⁾ J. Loeb. Amer. Journ. of Physiol. Vol 6, p. 411, 1902.

²⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. II, 83, 1906.

J. Loeb. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 3 p. 383, 1900.

³⁾ J. Loeb. Pflüger's Archiv. Bd. 88, 68, 1901.

J. Loeb. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 6, 411, 1902.

J. Loeb en W. Gies. Pfl. Archiv. 93. 246. 1902.

zout aan een $\frac{5}{8}$ moleculair keukenzoutoplossing moest worden toegevoegd om Funduluseieren tot ontwikkeling te laten komen. Behalve calciumchloride gebruikte hij calciumsulfaat, calciumnitraat, bariumchloride, zinksulfaat en loodacetaat. Zooals men ziet zijn dit alle zouten met een tweewaardig kation. Het bleek hem daarbij, dat de hoeveelheid van een zout met een tweewaardig kation, die een $\frac{5}{8}$ mol. NaCl oplossing kan ontgiften, zeer klein is. Van een zout met driewaardig kation zooals $AlCl_3$ was die hoeveelheid nog geringer. Ten einde nu de ontgiftende werking van twee zouten in getallen te kunnen uitdrukken heeft LOEB¹⁾ het begrip „ontgiftigingscoefficient” ingevoerd, waarmee hij bedoelt de waarde van de verhouding tusschen de concentratie van het giftige zout en het ontgiftende zout. In een reeks onderzoekingen²⁾ bleek het hem, dat de ontgiftigingscoefficient voor twee zouten geen constante waarde had, en alleen constant kon worden gemaakt indien het derde noodzakelijke zout van de reeks Na, K en Ca werd toegevoegd. Bijzonderheden over dit verschijnsel vindt men in Hoofdstuk 4 terug.

Voor de ontgiftende werking spelen de anionen een ondergeschikte rol. Zij hebben alleen beteekenis, indien zij de oplosbaarheid e. d. beïnvloeden of specifieke giftwerkingen vertoonen³⁾. De kationen hebben de leiding.

Behalve den invloed van zouten ging LOEB ook de werking van zuren na. De giftige werking van zuren op de ontwikkeling van eieren van *Fundulus heteroclytis* kan door neutraalzouten worden opgeheven⁴⁾. Ook hier bestaat er een antagonistische werking, die eveneens quantitatief door een ontgiftigingscoefficient kan worden aangegeven. Deze coefficient heeft voor de giftige grensconcentratie van zoutzuur en salpeterzuur de waarde $\frac{1}{100}$ voor boterzuur en azijnzuur is hij resp. $\frac{1}{100}$ en $\frac{1}{33}$. Merkwaardigerwijze blijkt deze coefficient voor de zwakke zuren constanter te zijn, dan voor het zoutzuur en het salpeterzuur hetgeen LOEB toeschrijft aan de groote hoeveelheden keukenzout, die moeten worden toegevoegd. De giftige werking van de zuren kan alleen worden tegengegaan door andere electrolyten, zoodat ook hier in physiologisch opzicht een fundamenteel verschil bestaat tusschen electrolyten en niet geleiders. De

¹⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 31, p. 460, 1911.

²⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 33, 1911. p. 480; Bd. 32, p. 308, 1911; Bd. 31, p. 460, 1911.

³⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 39, p. 194, 1912.

⁴⁾ J. Loeb en H. Wasteneys. Biochem. Zeitschr. Bd. 33, p. 489, 1911. Ibid. Bd. 39, p. 167, 1912.

antagonistische zoutwerking, die, zooals reeds bekend, is te beschouwen als een werking tusschen de kationen, blijkt ook te bestaan voor het geval, dat het kation een waterstofion is. Het behoeft dan ook geen verbazing te wekken, dat de waterstofionenconcentratie der vloeistof zijn invloed doet gelden op het antagonisme der zouten. Een opzettelijk onderzoek hiervoor door LOEB¹⁾ ingesteld bracht aan het licht, dat in een neutrale of zwak zure vloeistof het keukenzout beter door kaliumchloride dan door calciumchloride wordt ontgift; terwijl in alkalische vloeistoffen de ontgiftende werking van het calcium duidelijker is dan die van het kaliumchloride. LOEB geeft bij deze proeven alleen op de hoeveelheid alkali of zuur, die hij aan de vloeistof toevoegt, zonder de waterstofionenconcentratie te vermelden. In ieder geval zijn deze variaties grooter dan in biologische omstandigheden voorkomen.

Behalve voor de eieren van zeevisschen blijkt ook bij een aantal andere levende organismen een antagonisme tusschen zouten te bestaan.

W. OSTERHOUT²⁾ heeft bij planten de beteekenis van gaequilibrerde zoutoplossingen nagegaan. Evenals dit bij *Fundulus*-eieren het geval is bleken er ook zeeplanten te zijn, waarvoor het gedestilleerde water ongiftig was. Hier bleek eveneens, dat in een zuivere keukenzoutoplossing de planten veel korter blijven leven, dan in gedestilleerd water of in een keukenzoutoplossing met kaliumchloride en calciumchloride.

Behalve voor zeeplanten gelukte het hem ook voor zoetwaterplanten aan te toonen, dat een keukenzoutoplossing op zich zelf giftig is en dat de giftigheid door toevoeging van calciumchloride kan worden verminderd³⁾. Deze vondsten werden door BENNECKE bevestigd⁴⁾ en gelden niet alleen voor volwassen planten maar ook voor de zich ontwikkelende planten.

MASCHHAUPT⁵⁾ onderwierp deze gegevens aan een kritiek, waarop wij in Hoofdstuk 4 terugkomen.

In den laatsten tijd heeft SHEARER⁶⁾ getracht de activeerende werking der ionen voor de bacillen van het gasgangreen als een balanceering te beschouwen, terwijl KOEHLER⁷⁾ het bestaan eener

¹⁾ J. Loeb. *Biochem. Zeitschr.* Bd. 28 p. 175, 1910.

²⁾ W. Osterhout. *Univ. of Calif. Public. Botany*, 2, 317, (1907.) *Botanical Gazette* 42, 127, 1906; 44, 259, 1907.

³⁾ W. Osterhout. *Journ. of Biological Chemistry*. 1. p. 363, 1906.

⁴⁾ W. Bennecke. *Ber. d. deutschen botan. Gesellsch.* Jg. 25, 322, 1907.

⁵⁾ J. G. Maschhaupt. *Versl. Landbouwk. Onderz. Rijkslandbouwproefst.* 19, 60. 1916.

⁶⁾ C. Shearer. *Journ. of hyg.* 19, 72—74, 1920.

⁷⁾ Koehler. *Zeitschr. Allgem. Physiol.* 18, 163. 1919.

zoutbalanceering aantoonde voor infusoriën. Hij meende hier een duidelijke invloed van de waardigheid der ionen te kunnen vaststellen, hoewel de werking der driewaardige ionen onzeker is.

W. OSTWALD¹⁾ heeft den invloed nagegaan, die verschillende zoutoplossingen op de zoetwatergammaraus hebben. Zooals bekend kan deze visch niet in gedestilleerd water leven maar moet men steeds zorgen voor een vloeistof die aan een bepaalde osmotische druk voldoet. Hij vond daarbij, dat een zuivere isotomische oplossing van keukenzout slecht werkte; dat daarentegen toevoeging van kaliumchloride en calciumchloride de vloeistof zeer veel verbeterde.

Zooals reeds bekend is geldt hetzelfde voor het hart. Ook LOEB heeft beide organen nagegaan en daaraan het antagonisme der zouten onderzocht. Vooral het hart leent zich uitstekend voor deze proeven, omdat in het kunstmatig doorstroomde hart de vloeistoffen gemakkelijk kunnen worden veranderd en bovendien de automatie een goede maatstaf der functie is.

De proeven op de dwarsgestreepte spieren verricht, waardoor bleek dat een zuivere keukenzoutoplossing prikkelend op de spier werkt, terwijl calciumzouten die prikkelende werking tegengaan, waren voor LOEB aanleiding om in tegenstelling met HOWELL²⁾ aan te nemen, dat ook voor de hartswerking het NaCl een prikkelende werking zou bezitten, die door het calcium zou worden tegengewerkt. De prikkelbaarheid vermeerderende werking van een keukenzoutoplossing zou dan opgevat moeten worden als een uittreden van Ca-ionen uit de cel of de oppervlaktelaag der cel, waardoor deze, aan Na tegengestelde ionen verdreven werden. Als grond werd het feit aangevoerd³⁾, dat een spier op den duur in een keukenzoutoplossing niet rythmisch blijft contraheeren. De proeven werden door LOEB⁴⁾ bij hydromedusen herhaald. De dieren vertoonen in hun centrum geen rythmische contracties, indien de rand, waarin zich het centraal zenuwstelsel bevindt, wordt vernield. De rythmische contracties kunnen dan weer opgewekt worden door de dieren in een zuivere keukenzoutoplossing te leggen. LOEB⁵⁾ stelt zich voor, dat deze contracties weer zouden optreden doordat calciumzouten en magnesiumzouten uit de cel diffundeeren, waardoor het

¹⁾ W. Ostwald. Pfl. Archiv. Bd. 106, p. 568, 1906.

²⁾ Howell. Amer. Journ. of Physiol. 2, 47, 1899.

³⁾ J. Loeb. in Oppenh. Handb. der Biochem. Bd. III, p. 104, 1909.

⁴⁾ J. Loeb. Amer. Journ. of Physiol. 3. 383. 1900.

⁵⁾ J. Loeb. Festschr. A. Fick. Braunschweig. p. 101. 1899.

evenwicht $\frac{c_{\text{Na}}}{c_{\text{Ca}}, c_{\text{Mg}}}$ verstoord zou worden. Voor het hart is volgens LOEB een zuivere keukenzoutoplossing giftig, omdat dan in verhouding te veel Na-ionen in de cel dringen, die daar giftig werken. De giftigheid wordt tegengegaan door toevoeging van calciumchloride. Aangezien een vloeistof, die isotonisch is gemaakt door rietsuiker na toevoeging van calciumchloride, het hart niet kan doen kloppen zou dit een aanwijzing zijn, dat voor het hart de verhoudingen tegenover electrolyten gelijk zijn aan die in de dwarsgestreepte spier. De prikkelbaarheid zou daar worden veroorzaakt door de Na-ionen, die in te groote concentratie giftig werkten, welke giftigheid door calciumionen kan worden opgeheven.

Men moet echter voorzichtig zijn om aan de dwarsgestreepte spier gevonden verschijnselen toe te passen op de hartspier. Zooals LOEB reeds in 1899 aantoonde, kan het verschijnsel van BIEDERMANN niet alleen worden veroorzaakt door een zuivere keukenzoutoplossing, maar ook door andere electrolyten als lithium, caesium, en rubidiumchloride. Daarentegen kunnen behalve calciumionen, ook kalium, strontium en magnesiumionen gemakkelijk deze rythmische contracties doen ophouden. We hebben in dit geval dus te doen met een meer algemeene electrolytwerking. Geheel anders is de toestand in de hartspier. Door de onderzoekingen van RINGER is reeds bekend, dat het natriumchloride slechts voor een gedeelte vervangen kan worden door b. v. lithiumchloride, maar een geheele vervanging van het natriumchloride is onmogelijk. En evenzoo kan het calciumchloride alleen worden vervangen door strontiumzouten. In de hartspier komt dus duidelijk aan het licht, dat hier naast een algemeene electrolytwerking, die zich uit in de balanceering, een specifieke werking der kationen aanwezig moet zijn. Vooral voor het kaliumion is dit duidelijk vastgesteld door de onderzoekingen, die sedert 1916 door ZWAARDEMAKER en zijne leerlingen zijn verricht. Voor het calcium en het natrium is het inzicht in den aard dezer specificiteit nog onbekend gebleven. Voor de hartspier is dus natriumchloride, calciumchloride en kaliumchloride noodig, omdat het hart zonder deze drie zouten niet zou willen functioneeren, ook al zou aan de osmotische eischen voldaan zijn. Funduluseieren daarentegen hebben de zouten niet noodig, getuige het feit, dat zij zich in gedestilleerd water kunnen ontwikkelen. Evenwel indien zouten aanwezig zijn, moeten de hoeveelheden in hunne onderlinge verhouding constant zijn, terwijl bovendien het calciumchloride door allerlei andere zouten als barium, lood en zinkzouten kan worden vervangen. Het is daarom rationeel deze electrolytwerkingen als algemeen te beschouwen; zij zullen zich

dus overal voordoen, waar electrolyten met levende cellen in aanraking komen. En daarnaast bestaat de mogelijkheid, dat van de ionen nog een specifieke werking wordt geëischt. Voor de studie van het antagonisme der zouten is dan echter alleen het eerste van belang, omdat dit verschijnsel zoo algemeen verbreid is in het planten- en dierenrijk en zelfs is aan te toonen bij dieren, die de zouten niet direct voor hunne ontwikkeling noodig hebben. Opzettelijk is daarom in dit overzicht zoo weinig mogelijk gesproken over specifieke werkingen in die verschijnselen, die in het algemeen met het antagonisme der zouten samenhangen.

§ 3. De verklaringen volgens de theorie der massawerking.

In den beginne heeft LOEB alle aandacht aan de electriche verschijnselen, die met de zoutwerkingen parallel gaan, gewijd. En als zoodanig is hij een der eerste physiologen geweest, die de consequenties van de theorie der electrolytische dissociatie ter verklaring van de functies der levende cel heeft aanvaard. Door zijne vroegere onderzoekingen was het hem opgevallen, dat de galvanische stroom als een prikkel op het levende weefsel is te beschouwen, die in het protoplasma groote veranderingen teweeg brengt. Het spreekt daarom vanzelf, dat ook bij de verklaring der zoutwerking, de electriche lading der ionen hem van het grootste belang toescheen. Juist in dien zelfden tijd publiceerden HARDY¹⁾ en ook BREDIG²⁾ hunne algemeen bekend geworden onderzoekingen omtrent het gedrag van kolloidale oplossingen in een electricch veld, indien aan die oplossingen electrolyten zijn toegevoegd. Reeds ZSIGMONDY³⁾ was het opgevallen, dat kolloidale zoutdeeltjes in een electricch veld tegen de richting van den stroom in bewegen en dus negatief geladen moeten zijn, terwijl PICTON en LINDER⁴⁾ konden aantoonen, dat de lading der micellen afhankelijk was van hunne chemische samenstelling. HARDY daarentegen bracht het dispersiemiddel op den voorgrond. Hij vond, dat in een kolloidale eiwitoplossing de micellen negatief geladen zijn in een alkalisch reagerende vloeistof, maar daarentegen een positieve lading bezitten, indien de reactie zuur is.

1) Hardy. Journ. of Physiol. 24, p. 182 en 288, 1899.
ibid. Proc. Royal Soc. 66. p. 110, 1901.

2) Bredig. Anorganische Fermente. Leipzig 1901.

3) Zsigmondy. Lieb. Ann. Vol. 301. p. 29.

4) Picton en Linder. Journ. of Chemical Society Vol. 70, p. 568, 1897.

Door toevoeging van alkali of een zuur is het dus mogelijk de micellen hunne lading te doen verliezen, waardoor het isoelectrische punt wordt bereikt. In plaats van waterstof of hydroxylionen was het nu mogelijk om deze verandering in de lading te bewerken met zouten, waarbij hem bleek, dat de invloed van de actieve ionen toenam met hunne waardigheid. Van deze gegevens uitgaande kende LOEB¹⁾ een groote beteekenis toe aan de kolloidale oplossingen, die in de levende cel een groote rol moeten spelen, zoodat in het algemeen kan worden gezegd, dat alle levensverschijnselen hunne oorzaak hebben in bewegingen of veranderingen in kolloidale oplossingen.

Oorspronkelijk nam LOEB²⁾ daarbij aan, dat bij de zouten de physiologische werking alleen bestond in een wijziging in de electrische lading der micellen. Volgens zijne meening zou een verandering der lading van de micellen een verandering te weeg brengen in de viscositeit, welke viscositeitsveranderingen zich in de protoplasma-stroomingen door BÜTSCHLI en QUINCKE beschreven, zouden veranderen. LOEB dacht zich daarbij, dat de antagonistische werking der zouten was toe te schrijven aan de waardigheid van de bij die werking actieve ionen in den geest van HARDY'S proeven. De electrische lading der ionen was dus bij de zoutwerkingen als het voornaamste punt te beschouwen. Spoedig daarna is LOEB³⁾ echter hierop terug gekomen. De oorzaak was het feit, door hem gevonden, dat de rythmische contracties der dwarsgestreepte spier, die veroorzaakt kunnen worden door natriumchloride, rubidiumchloride en caesiumchloride, worden tegengewerkt door kaliumchloride. De eenwaardige ionen, die de contracties veroorzaken worden door eenwaardige ionen tegengewerkt en zodoende kan dus de waardigheid der ionen niet de eenigste oorzaak zijn van het antagonisme. In verband daarmee zou men volgens LOEB dan ook de werking van den galvanischen stroom op het weefsel niet moeten toeschrijven aan ladingsverschillen, maar eerder aan veranderingen in de ionenconcentratie. Nadien is LOEB⁴⁾ meer en meer het antagonisme der zouten als een zuivere chemische reactie gaan beschouwen, waarbij de amphotere reactie der eiwitstoffen van groot belang is. Hij stelde zich daarbij den gang van zaken zoo voor, dat in een neutrale oplossing de eiwitstoffen evenveel H^+

¹⁾ J. Loeb. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 6, p. 411, 1902.

²⁾ J. Loeb. *ibid.*

³⁾ J. Loeb. Pflüger's Archiv. Bd. 91 p. 248.

⁴⁾ J. Loeb. Univ. of Calif. Public. in Physiology Vol. I. p. 149, 1904.

als OH^- ionen in de vloeistof zenden. Worden nu echter aan de vloeistof meer H^+ ionen toegevoegd dan zal de eiwitstof meer OH^- ionen uitzenden, waardoor de eiwitstof een positieve lading zou krijgen. LOEB denkt zich daarbij, dat bij de antagonistische zoutwerking een dissociatieevenwicht optreedt, zoodat ook de verschikkende kationen langs zuiver chemischen weg aan de amphotere eiwitstoffen gebonden kunnen worden. Voor deze opvatting kon LOEB ook nog aanknoopingspunten vinden in de onderzoekingen van MADSEN en NYMANN¹⁾, die bij berekening der gegevens van PAUL en KRÖNIG²⁾ vonden, dat voor de giftige werking der Hg^- ionen de formule voor monomoleculaire reacties geldig is. In dien tijd stelde LOEB zich de antagonistische zoutwerking geheel en al als een chemische binding voor, die verliep volgens de wet van GULDBERG en WAAGE, terwijl de electriche verschijnselen daarbij geheel ter zijde werden gesteld³⁾.

In deze opvatting is LOEB krachtig bijgestaan door ROBERTSON⁴⁾ die zich eveneens alle zoutwerkingen denkt als een binding der ionen met de amphotere eiwitstoffen. De binding van bepaalde ionen aan de eiwitstoffen zou dan de physische eigenschappen veranderen en juist deze veranderingen zouden voor de levensfunctie der cellen van het grootste gewicht zijn. De eigenschappen der eiwitstoffen zullen vooral aan de oppervlakte der cel sterk aan de veranderingen der omgevende vloeistof onderhevig zijn en de veranderingen zullen zich in permeabiliteitswijzigingen openbaren⁵⁾. De zoutwerkingen zouden dus teruggebracht kunnen worden tot permeabiliteitsverschijnselen, waarbij LOEB zich dacht, dat in de physiologisch gebalanceerde vloeistoffen die permeabiliteit een minimum zou zijn. Was er in de omspoelende vloeistof slechts één electrolyt aanwezig, b. v. NaCl ,

1) Madsen en Nymann. Zschr. Hyg. und Inf. 57, 388, 1907.

2) Paul und Krönig. Zschr. f. Hyg. und Inf. 25, 1897.

3) Loeb schrijft daaromtrent: Der Gedanke, dass die erregende und hemmende Wirkung der Salze auf der elektrischen Ladung der Ionen beruhe, ging von Loeb aus, im Anschluss an die Arbeiten von Hardy über Kolloide, wonach es schien, als ob die Wirkung der Ionen auf Kolloide eine elektrische sei. Loeb sowohl wie Hardy sind seitdem aber zu der Überzeugung gekommen, dass es sich bei der Wirkung der Salze auf die Kolloide um rein chemischen Vorgänge handelt.

En verder: Die Kolloide unterscheiden sich m. E. von den Kristalloiden lediglich durch die Grösse der Teilchen, aber in sonst nichts.

(Oppenheimer. Hdb. der Biochemie Bd. II¹, 1909, p. 108 en 134).

4) Robertson. Journ. of physiol. chemistry. 10, 524, 1906.

5) J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 36 p. 275. 1911.

dan zou de permeabiliteit der oppervlaktelaag toenemen, die dan door toevoeging van een tweewaardig ion weer wordt verminderd. Speciaal aan het calciumchloride werd daarbij een dichtende of looiende werking toegeschreven¹⁾. Uit den aard der zaak is het begrijpelijk, dat de betrekkelijk eenvoudige tweede voorstelling van LOEB om het proces op te vatten als een zuiver chemische binding tusschen electrolyten en kolloidale complexen, door andere onderzoekers niet werd aanvaard. Dit hangt samen met nieuwe verschijnselen, die door de kolloidchemie zijn gevonden en welke verschijnselen als basis werden genomen ter verklaring der antagonistische zoutwerking.

§ 4. Kolloidchemische aanknoopingspunten.

Bij het onderzoek naar den invloed van de ionenpermeabiliteit op den demarcatiestroom van den kikvorsch, bleek het HÖBER²⁾ dat de demarcatiestroom, die met kalium was te verkrijgen, niet toegeschreven moest worden aan een gemakkelijk doordringen der kaliumionen, maar dat dit verschijnsel anders moest worden verklaard. Daarbij was aan het licht gekomen, dat behalve het kaliumion ook andere kationen het vermogen bezitten om een demarcatiestroom op te wekken, hoewel in geringere en niet alle in dezelfde mate. De kationen konden, wat deze werking betreft, in een bepaalde reeks worden gerangschikt. En bovendien bleken ook de anionen in staat te zijn om een ruststroom, tegengesteld aan die, veroorzaakt door de kationen op te wekken. De reeks, die hieruit was op te maken bleek evenals de kationenreeks overeenkomst te bezitten met de reeksen, die kunnen worden opgesteld voor de electrolytwerkingen bij het neerslaan resp. coaguleeren van eiwitstoffen³⁾.

HÖBER concludeert hieruit, dat de permeabiliteit van de oppervlaktelaag der spierfibrillen zijn oorzaak heeft in het feit, dat de ionen waaruit die zouten zijn opgebouwd op specifieke wijze de kolloïden, die oppervlaktelagen vormen, beïnvloeden.

Behalve HÖBER hebben ook andere onderzoekers overeenkomsten meenen te vinden tusschen ionenreeksen, voor de uitvlokking van eiwitoplossingen en hunne physiologische werking. LILLIE⁴⁾ vond bij zijn onderzoek van *Mytilus edulis*, dat niet alleen de antitoxische werking afhankelijk was van de waardigheid, maar dat speciaal bij

¹⁾ J. Loeb Journ. of biological Chemistry Vol. XXI. No. 2. June 1915.

²⁾ Höber. Pflüger's Archiv. Bd. 106, 599. 1905.
ibid. Bioch. Zeitschr. Bd. 14. 209, 1908.

³⁾ Pauli. Hofmeister's Beiträge. Bd. 5, 27. 1903.

⁴⁾ R. S. Lillie. Amer. Journ. of Physiology. 17, 89, 1906.

het strontiumchloride naast de toxische werking er sprake zou zijn van een anticoagulatieve werking van het kation. Het gelukte hem een dergelijk verschijnsel te kunnen aantoonen bij de larven van arenicola¹⁾. Deze larven verliezen hunne musculaire contractiliteit in isotonische oplossingen van niet electrolyten; indien nu de larven daarna in een zuivere keukenzoutoplossing gelegd worden treden weer contracties op. Daarbij bleek, dat de mate van contractiliteit afhankelijk was van de natuur van het anion van het natriumzout. Maar ook verschillende kationen hebben verschillenden invloed op de sterkte der contractiliteit. De reeksen, die op deze manier opgesteld kunnen worden hebben een merkwaardige overeenkomst met de reeksen, die voor het uitvlokken van eiwitoplossingen door electrolyten gelden. Vooral aan de onbevuchte eieren van Arbacia kon LILLIE²⁾ merkwaardige verschijnselen waarnemen. In isotonische oplossingen van de neutrale zouten der alkalimetalen treedt er na een voor ieder electrolyt wisselenden tijd, een diffusie op van het pigment, dat door het ei wordt losgelaten. Ook hier was het mogelijk weer een dergelijke reeks op te sporen. Uit deze vondsten komt evenals uit die van SCHWARZ³⁾ en BETHE⁴⁾ aan het licht, dat de lyotrope reeksen physiologisch een belangrijke rol spelen. Wanneer men zich de werkingen in de grenslagen van het protoplasma ge-localiseerd denkt, dan zou men zich in verband hiermede zeer wel kunnen voorstellen, dat door de electrolyten hier groote veranderingen worden teweeggebracht.

Uit LILLIE'S proeven blijkt, dat ook de waardigheid der kationen een rol speelt, wat betreft de hoeveelheid, noodig om kationen van lagere waardigheid tegen te werken. Maar als hoofdzaak mag de lading der ionen ter verklaring der zoutwerkingen niet gebruikt worden. Bovendien is het later duidelijk gebleken, dat het geheim der antagonistische zoutwerkingen ook niet schuilt in de tegengestelde lading der kationen en anionen⁵⁾.

De anionen spelen bij de antagonistische zoutwerkingen slechts een ondergeschikte rol. Een zuiver antagonisme alleen tusschen anionen is slechts enkele malen door LOEB⁶⁾, MISS MOORE⁷⁾ en RABER⁸⁾ waargenomen.

1) R. S. Lillie. Amer. Journ. of Physiology. Vol. 24, p. 14, 1909.

2) R. S. Lillie. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 26 p. 106, 1910.

3) Schwarz. Pfl. Archiv. Bd. 117, 161, 1907.

4) Bethe. Pfl. Archiv. Bd. 127, 219, 1909.

5) J. Loeb. Journ. of biological chemistry Vol. 19, 3, p. 431, 1914.

6) J. Loeb. Arch. f. die gesammte Physiologie. Bd. 107. 1905.

7) Miss Moore. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 5, 87, 1901. Vol. 7, 315. 1902.

8) O. L. Raber. Journ. of general Physiology Vol. 2 p. 541. 1920.

Andere onderzoekers hechten een groote waarde aan het isoelectrische punt. MICHAELIS en TAKAHASHI¹⁾ hebben nagegaan, dat erythrocyten, die in isotonische zoutoplossingen zijn gesuspendeerd, bij aanzuring intact blijven, totdat SÖRENSEN'S index de waarde $\text{PH} = 5$ heeft bereikt. Aannemende dat het coagulatie-optimum samenhangt met het isoelectrische punt, besluiten ze er uit, dat het haemoglobine der roode bloedlichaampjes alleen door het stroma wordt vastgehouden, indien dit negatief is geladen. MINES²⁾ toonde in 1910 aan, dat de driewaardige kationen der zeldzame aarden in werking met de waterstofionen overeenkomen. Alleen quantitatief bleek, dat de driewaardige kationen reeds in een concentratie van 10^{-5} werkzaam waren. Daarbij kwam aan het licht, dat deze werking in tegenstelling met die der H^+ ionen irreversibel was. Na toevoeging van wat OH^- ionen wordt het proces reversibel. Deze proeven werden door HÖBER en SPAETH³⁾ herhaald bij dwarsgestreepte spieren, waarbij aangetoond kon worden, dat door driewaardige kationen de prikkelbaarheid verdwijnt. Dit proces is reversibel voor lage en hoge concentraties, maar irreversibel indien middelmatige concentraties werden gebruikt. Ter verklaring van deze verschijnselen kan men niet volstaan met een zuiver chemische binding aan te nemen. Uit KOZAWA'S⁴⁾ onderzoek over de samenhang van hämolyse en kataphorese bleek, dat de zeldzame aarden bij een middelmatige concentratie de grootste uitvlokking bewerkstelligen. Ook MINES⁵⁾ en HÖBER⁶⁾ toonden aan, dat roode bloedlichaampjes zoowel door H^+ ionen als Al^{+++} en Fe^{+++} ionen omgeladen kunnen worden.

Voor plantencellen werd iets dergelijks gevonden door FLURI⁷⁾, hetgeen door SZÜCS⁸⁾ wordt verklaard als een uitvlokking van het protoplasma, dat zich uit in een verdwijnen der plasmolyse en een gefixeerd zijn der chloroplasten bij centrifugeeren.

In den laatsten tijd is ook door JODLBAUER en HAFFNER⁹⁾ bij hun onderzoek over hämolyse en toestandsveranderingen van de kolloïden der erythrocyten in dezelfde richting geweest, toen zij vonden, dat

-
- 1) Michaelis en Takahashi. Biochem. Zeitschr. 29, 439, 1910.
 - 2) G. Mines. Journ. of Physiol Vol. 40 p. 327, 1910; Vol. 42 p. 309. 1911.
 - 3) Höber en Spaeth. Pfl. Archiv. Bd. 159, 433, 1914.
 - 4) Kozawa. Biochem. Zeitschr. Bd. 60 p. 146, 1914.
 - 5) Mines. Kolloidchem. Beiheft. Bd. 3. p. 191, 1912.
 - 6) Höber. Pfl. Archiv. Bd. 101. p. 627. 1904.
 - 7) Fluri. Flora. Bd. 99. p. 81, 1909.
 - 8) Szücs. Jahresber. f. Wissensch. Botanik. Bd. 52 p. 269, 1913.
 - 9) Jodlbauer und Haffner. Pfl. Arch. Bd. 179, p. 121, 1920.

het keerpunt der ionenwerkingen samenvalt met het uitvlokkings-optimum der kolloïden. De in deze paragraaf samengevatte gegevens zijn voor mij aanleiding om naar een verband te zoeken tusschen electrolytwerkingen en lading der levende cel zooals dat voor kolloïdale oplossingen is aangetoond. Waar juist door verschillende onderzoekers de electrolytwerkingen in verband zijn gebracht met de permeabiliteitsverschijnselen, is het niet onmogelijk, dat electrolytwerking, permeabiliteit en lading der celoppervlakte gemeenschappelijk verklaard zouden kunnen worden. Maar dan is het onwaarschijnlijk, dat men door het aannemen van een zuivere chemische binding tusschen electrolyt en eiwitstof tot zijn doel zou geraken.

Door het onderzoek van MINES, waaruit blijkt, dat zeer kleine doses van een driewaardig kation reeds physiologische werkingen veroorzaken, is men geneigd om bij de electrolytwerking naast eene chemische binding tusschen electrolyt en eiwitstof, die ongetwijfeld bestaat, tevens aan eene adsorptieve werking te denken. VAN OYEN¹⁾ meent, dat een bepaalde chloride minder wordt geadsorbeerd dan NaCl en KCl in combinatie, en hij vermoedt, dat dit proces zich ook bij de biologische balanceering afspeelt. Met FREUNDLICH zou men dat kunnen aannemen, dat de lading, die tusschen twee grensvlakken bestaat, te beschouwen is als adsorptiepotentiaal d. i. een ongelijke adsorptie van anionen en kationen. Tracht men dit gegeven te gebruiken ter verklaring van de antagonistische zouwerkingen, dan kan men toch niet tot een bevredigende oplossing komen. Bovendien is het door de nieuwste onderzoekingen van LANGMUIR²⁾ twijfelachtig geworden, of er werkelijk een zoo groot verschil tusschen adsorptie en chemische binding bestaat. In één opzicht echter zijn alle onderzoekers het met elkaar eens, n. l. hierin dat de in de cel overal aanwezige kolloïdale oplossingen bij de verklaring der electrolytwerkingen een groote rol spelen. Ten leste is zelfs LOEB een eindweegs met deze gedachtengang meegegaan en heeft getracht om langs kolloïdchemischen weg het vraagstuk op te lossen. In een reeks van publicaties beschrijft hij³⁾ het gedrag van amphotere kolloïden, waaruit intusschen tenslotte blijkt dat hij toch in beginsel aan zijne reeds in 1904 verkondigde theorie is trouw gebleven. In de eerste plaats onderzocht hij bij het gelatine de wijze waarop dit kan dissociëren en zijne afhankelijkheid van het isoelectrische punt. Aan de zure kant van het isoelectrische punt kan de eiwitstof

¹⁾ v. Oyen. Biochem. Zeitschr. 88, 418—424, 1918.

²⁾ Langmuir. Journ. Amer. Chemic. Soc. 39, 1848, 1917.

³⁾ Loeb. Journ. of General Physiol. Vol. 1. 1919.

alleen met anionen van een neutraal zout zich vereenigen, en daarentegen aan de alkalische kant alleen met kationen. Bovendien kon hij door het geleidingsvermogen voor den electriche stroom na te gaan, aantonen, dat in het iso-electrische punt de eiwitstof practisch niet is gedissocieerd.

§ 5. Verdere pogingen ter verklaring.

Het heeft in de kolloidchemie zelf niet ontbroken aan pogingen om het antagonisme der ionen, dat biologisch zoo veelvuldig wordt geconstateerd, in modelproeven te herhalen. LINDER en PICTON¹⁾ hebben het eerst waargenomen, dat gelijkwaardige kationen zich bij het uitvlokken van een arseensulfidsol additief gedragen. Gebruikt men hier echter een eenwaardig en tweewaardig kation voor, dan blijkt dat men van het eene kation veel minder kan gebruiken, dan bij een zuiver additief gedrag van allen gezamenlijk het geval zou zijn²⁾. Deze proeven die door PAULI³⁾ en KOCH⁴⁾ zijn herhaald bij eiwitstoffen en lecithine blijken geen van allen aan te toonen, dat zij elkaar volkomen tegenwerken.

Daarenboven gelukte het in deze modelproeven alleen om een zoogenaamd antagonisme te vinden en dit nog alleen tusschen kationen van verschillende waardigheid. De proeven aan levende organismen verricht wijzen echter duidelijk uit, dat het antagonisme een veel algemeener eigenschap is. Ook kationen van eenzelfde waardigheid kunnen onderling balanceeren, terwijl dan bovendien van een volledig tegenwerken sprake is. Zodoende blijkt het zeer twijfelachtig of de met bovengenoemde modelproeven verkregen resultaten met het biologische ionenantagonisme een voldoende analogie bezitten.

LENK⁵⁾ meent de antagonistische ionenwerking als een eenvoudige zwelling der eiwitstoffen te mogen beschouwen, waartoe hij eveneens een modelproef te hulp heeft geroepen. Hij nam gelatine en onderzocht het gedrag van deze stof in de zoutmengsels waarvan LENK er drie onderscheidde. In de eerste plaats gebruikte hij zoutmengsels met een gelijk kation, in de tweede plaats zoutmengsels met ongelijke anionen en kationen. Het resultaat van dit onderzoek was, dat in

1) Linder en Picton. Journ. of the Chemical Soc. 67, 1895.

2) Ook Höber en Gordon, die deze proeven bevestigden, beschouwden het verschijnsel als een analogon van de biologische ionenbalanceering. Hofmeisters Beiträge. 5. 1904.

3) Pauli. Hofmeister's Beiträge. 3. 1903; 5. 1904.

4) Koch. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 37, 1902.

5) Lenk Biochem. Zeitschr. 73, p. 58, 1916.

een elektrolytcombinatie de zwelling der gelatine anders verloopt dan in oplossingen der afzonderlijke electrolyten. In de elektrolytcombinatie is de zwelling grooter dan het zwakst werkend electrolyt alleen zou veroorzaken en bovendien kleiner dan wanneer het sterkst werkende electrolyt alleen aanwezig zou zijn. Van een zuivere additie is dus geen sprake. Uitzonderingen bestaan alleen voor zouten, die in groote concentratie aanwezig zijn. Of hier werkelijk van een antagonisme sprake is, is twijfelachtig, en men kan zooals NEUSCHLOSZ opmerkt, alleen besluiten, dat we met een ingewikkelde elektrolytwerking te maken hebben. Bovendien is het niet gemakkelijk om uit de gegevens van LENK conclusies te trekken, die biologisch beteekenis hebben. De biologische werking van het ionen-antagonisme doet zich haast onmiddellijk voor, terwijl in LENK's proeven het duidelijk verschil eerst na 5 tot 10 uur optreedt. Vooral op de vondsten aan hoogere dieren gedaan, is zijne hypothese dus niet toepasselijk.

NEUSCHLOSZ¹⁾ heeft daarna verband gebracht tusschen de oppervlaktespanning en elektrolytwerking. Wordt een electrolyt toegevoegd, dan blijkt bij lagere concentraties de oppervlaktespanning van een leci-thinesol eerst toe te nemen om bij hoogere concentratie, na een maximum te hebben bereikt, weer te dalen. Dit maximum is afhankelijk van de waardigheid. Indien nu echter een mengsel van twee zouten wordt genomen, dan neemt de oppervlaktespanning af en deze vermindering heeft bij een bepaalde verhouding der zouten een minimum. NEUSCHLOSZ onderzocht verschillende mengsels, zooals $\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$; voorts $\frac{\text{Na}}{\text{K}}$; $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$, enz. Zooals reeds door HANDOVSKY²⁾ is betoogd, is vooral wat betreft de verhouding $\frac{\text{Na}}{\text{K}}$ het werkelijk bestaan van een minimum der oppervlaktespanning niet aangetoond, welke opmerking door NEUSCHLOSZ³⁾ niet voldoende wordt weerlegd. Maar in ieder geval toonen deze proeven toch, dat er inderdaad merkwaardige verhoudingen bestaan tusschen oppervlaktespanning en elektrolytwerking, gelijk trouwens ook reeds gebleken was uit het onderzoek van PAULI en HANDOVSKY⁴⁾. Deze proeven geven dus een aanwijzing in welke richting het onderzoek misschien tot resultaten kan voeren. Door het werk van LANGMUIR⁵⁾ is het waar-

¹⁾ Neuschlosz. Pfl. Archiv. Bd. 181, p. 16, 1920.

²⁾ Handovsky, Pfl. Archiv. Bd. 185, p. 7, 1920.

³⁾ Neuschlosz. Pfl. Archiv. Bd. 187, p. 136, 1920.

⁴⁾ Pauli en Handovsky. Biochem. Zeitschr. 24, 245. (1910).

⁵⁾ Langmuir. Journ. Amer. Chemical Society. 39, p. 1848.

schijnlijk, dat de oppervlaktespanning tot een electrisch verschijnsel is terug te brengen. Het ligt voor de hand in het algemeen te vermoeden, dat de electrolytwerkingen en dus ook de ionen-balan- ceering als electrische verschijnselen te beschouwen zijn. Er is trouwens meer, dat ons hierin als gids kan dienen. In 1920 heeft TADOKORO¹⁾ bij het ultramicroscopisch onderzoek van bloedserum gevonden, dat er bij toevoeging van een electrolyt b.v. $ZnSO_4$ of $CaCl_2$ aan het verdunde serum er groote aggregaten ontstaan, die hun oorzaak hebben in samenklonteren der micellen. Worden echter twee elec- trolyten in een bepaalde verhouding b.v. $\frac{ZnSO_4}{CaCl_2}$ of $\frac{CaCl_2}{NaCl}$ toege- voegd, dan verdwenen deze aggregaten weer en werden de micel- len weer vrij en bewegelijk.

Neemt men met MICHAELIS aan, dat het samenklonteren der micellen er op wijst, dat de kolloidale oplossing zijn iso-electrisch punt nadert, m.a.w. dat de lading der micellen nadert tot 0, dan kan men zeggen, dat ook hier electrolytwerkingen eene verandering in de lading der micellen veroorzaken. In dit verband moet dan ook nog worden gewezen op eene mededeeling van MATHEWS²⁾, die op grond van voortgezette studien aan Funduluseieren tot de conclusie komt, dat in plaats van de waardigheid der ionen vooral de op- lossingsspanning een rol zou spelen.

¹⁾ Tadokoro. Kent. Chemic. Laborat. Univ. Chicago. 26, 1 — 7, 1920.
²⁾ Mathews. Amer. Journ. of Physiology. 12, 419. 1905.

HOOFDSTUK II.

Experimenteetele gegevens.

INLEIDING.

Toen mij in 1916 werd opgedragen om na te gaan in hoeverre het kalium in de Ringer'sche vloeistof vervangen kan worden door andere radioactieve stoffen, viel het aanstonds op, dat ook de kaliumvervangers met de overige bestanddeelen der Ringer'sche vloeistof konden balanceeren¹⁾. Behalve voor het rubidium, aan het kalium zoo nauw verwant, kon dit worden aangetoond voor het uranium en thorium, elementen, welke van het kalium geheel verschillen, al hebben zij met het kalium en rubidium de radio-activiteit gemeen. Voor de andere radioactieve atomen gelijk het radium en radiumemanatie, kon geen balanceering worden gevonden, terwijl de radiumbestraling zich voor een dergelijk onderzoek niet leende. Al deze feiten hebben voor het balanceeringsvraagstuk een groote beteekenis, omdat er duidelijk uit blijkt, dat de balanceering als een eigenschap beschouwd moet worden, die aan alle ionen toekomt, geheel afgescheiden van specifieke werkingen, die de ionen verder openbaren. Bij bepaalde organen zooals b.v. het kikvorschenhart, treden zulke specifieke werkingen sterk op den voorgrond, want zooals bekend is, kunnen de bestanddeelen der Ringer'sche vloeistof slechts door bepaalde andere worden vervangen. Voor andere organismen, zooals de eieren van *Fundulus*, is van specifieke werkingen weinig te merken, zoodat hier alle mogelijke ionen de plaats van de ionen van het zeewater kunnen innemen. Zoo is het dan begrijpelijk, dat in deze laatste gevallen de algemeene ionenwerking sterk naar voren

¹⁾ T. P. Feenstra, Zittingsversl. Kon. Akad. v. Wetensch. Deel 24, pg. 1822, 1916. Deel 25, pg. 37, 1916.

komt, terwijl in de physiologie van het hart de specifieke kalium- en calciumwerkingen domineeren.

In de volgende bladzijden zal nu worden getracht een overzicht te geven van de proeven, waarin is aangetoond, dat niet slechts het kalium maar ook zijn vervangers in de Ringer'sche vloeistof met het calciumion kunnen balanceeren. Opzettelijk is in die proeven alleen de balanceering tegenover calcium nagegaan, omdat met het oog op den osmotischen druk der vloeistof het natriumchloride niet voldoende gevarieerd kon worden.

§ 1. De proefopstelling.

Overeenkomstig hetgeen geschied is bij de proeven, die de vervangbaarheid van het kalium door andere radio-actieve stoffen moesten bewijzen, werd gebruik gemaakt van het kikvorschenhart.

Het dier werd daartoe gedood door vernieling van hersenen en ruggemerg, waarna het hart werd blootgelegd. Nadat het was vrijgepraepareerd en het pericardium weggesneden, werd, door het orgaan voorzichtig aan den punt op te lichten een ligatuur gelegd ter hoogte van den sulcus atrioventricularis. Deze voorzorg werd genomen om, wanneer de canule in de hartkamer was gebracht, deze direkt te kunnen fixeeren. Door het hart opgelicht te houden kon nu hierna met een fijn schaarje de sinus venosus worden ingeknipt, en hierop volgend het septum atriorum worden vernield. Na deze kunstbewerking werd de canule van KRONECKER aangebracht. Deze canule „à double courant” bestaat uit een stelsel van twee niet even wijdé buizen, beide vervaardigd van nieuwzilver. De nauwste van deze twee dient tot toevoer, de wijdste tot afvoer der voedingsvloeistof. Wanneer nu deze canule door de opening in de sinus venosus tot in de hartkamer was gebracht, kon, door het aantrekken der ligatuur het geheel worden gefixeerd. Bij deze methodiek is het noodzakelijk om op eenige bijzonderheden te letten, die voor het welslagen der kunstmatige doorstrooming van het grootste belang zijn.

In de eerste plaats moet er voor worden gezorgd, dat bij het aantrekken van de ligatuur deze ongeveer ter hoogte van de sulcus atrioventricularis komt te liggen. Als proefobject dient dan alleen de ventrikel. Bovendien is het noodig, dat de ligatuur sterk wordt aangetrokken.

In de tweede plaats is het een vereischte, dat bij het inbrengen de canule geheel en al vrij is van luchtbellén, omdat die anders in de ventrikel blijven hangen en daar storend werken.

Zoodra het hart aan de canule is bevestigd, wordt de invoerbuis

verbonden met het doorstromingstoestel, ten einde zoo spoedig mogelijk de doorstroming in gang te kunnen zetten.

Het doorstromingstoestel bestaat uit eenige flesschen volgens MARIOTTE, die door buizen uitmonden in een gemeenschappelijke buis, die met de canule van KRONECKER verbonden kan worden. Door middel van kranen is het mogelijk om de vloeistof uit elke flesch afzonderlijk te laten doorstromen. Bij het begin der proef werd er steeds voor gezorgd, dat het hart eerst met Ringer'sche vloeistof werd doorspoeld, opdat het hart zich kon herstellen van de shock, die het afbinden veroorzaakt kon hebben. Bovendien werden zoodoende tevens abnormale harten tevoren herkend.

De Ringer'sche vloeistof had de volgende samenstelling:

Natriumchloride . . .	0.6 %
kaliumchloride . . .	0.01 %
calciumchloride . . .	0.02 %
bicarbonas natricus .	0.02 %
aq. dest.	100

Aan deze vloeistof werd opzettelijk niet, gelijk LOCKE deed glucose toegevoegd, omdat we zekerheid wenschten te hebben met chemisch zuivere zouten te werken. De natrium, kalium en calciumzouten, die in de Ringer'sche vloeistof gebruikt werden, konden tijdens het onderzoek, dat in de oorlogsjaren plaats had, chemisch zuiver worden verkregen, maar voor de glucose was dat onmogelijk. Deze stof werd daarom uitgeschakeld, temeer omdat de proeven niet van langen duur zouden zijn.

In verband met de samenstelling der Ringer'sche vloeistof moet ook nog op een andere bijzonderheid worden gewezen. Zooals reeds bekend was, gedragen kikvorschharten zich niet altijd gelijk, in het bijzonder tegenover de kationen, die in de voedingsvloeistof aanwezig zijn. DE BOER ¹⁾ heeft dit verschijnsel nader onderzocht en daarbij kunnen aantoonen, dat de door hem in de maanden Juli en Augustus onderzochte kikvorschharten een vloeistof van andere samenstelling noodig hadden, dan de oorspronkelijke vloeistof van Ringer. De oorzaak van dit verschijnsel is tot nu toe nog niet opgehelderd, al zullen waarschijnlijk volgens ZWAARDEMAKER ²⁾ sensibilisatoren er een rol bij spelen. Bovendien is het nog niet geheel en al zeker of er naar aanleiding van dit verschillend gedrag gesproken mag worden van winterkikvorsch en zomerkikvorsch,

¹⁾ S. de Boer. Archives néerl. de Physiologie Tome II, p. 352, 1918.

²⁾ H. Zwaardemaker. Verslag Kon. Akad. v. Wetensch. Wis- en Natuurk. Afd. Deel 29, 390, 1920. Deel 29, 29 Januari 1921.

omdat ook in den afgelopen winter (1920—1921) de harten een gelijk abnormaal gedrag vertoonden als anders 's zomers. Voor het experiment is het echter in ieder geval noodig om steeds op zulke afwijkingen bedacht te zijn en bij elke proef het gedrag van het hart te vermelden. De zomerkikvorsch leenen zich dientengevolge slecht voor quantitative proeven. De omstandigheid, dat de voorwaarden, wat betreft de samenstelling der Ringer'sche vloeistof, voor iederen kikvorsch nagenoeg weer anders zijn, is in hooge mate storend en tijdrovend.

Indien dus het hart gedurende 15 minuten normaal met RINGER'sche vloeistof had geklopt, werd de doorstroming voortgezet met kaliumlooze RINGER'sche vloeistof. Deze vloeistof werd bewaard in een der flesschen van Mariotte van het doorstromingstoestel, welke flesch iederen dag zorgvuldig werd schoongespoeld teneinde verontreiniging met kalium uit de glaswand te voorkomen.

Doorspoeling van het hart met deze vloeistof, heeft tot resultaat, dat er in het hartspierweefsel gebrek aan kalium ontstaat, welk gebrek zich uit door een onregelmatige functie, die tenslotte in een volledigen stilstand overgaat. Deze stilstand kwam gewoonlijk na eene doorstroming van gemiddeld een half uur tot stand. De voorzorg, eerst met kaliumlooze vloeistof door te spoelen, was noodzakelijk omdat, indien het circulatie kalium niet eerst zooveel mogelijk was verwijderd, er een paradoxon zou ontstaan tusschen het β -stralende kalium en het α -stralende uranium. De hieruit voortkomende verschijnselen zouden voor onze proeven slechts verwarring hebben kunnen stichten, zoodat het noodzakelijk was om steeds een stilstand af te wachten tijdens deze doorstroming met kaliumlooze voedingsvloeistof. Eerst daarna werd overgegaan tot een nasporen der balanceering.

De balanceering $\frac{K}{Ca}$ werd onderzocht door bij verschillende hoeveelheden calciumchloride, die in de vloeistof waren opgenomen, de minimum- en maximum-hoeveelheid zout van het radioactieve metaal te bepalen, die het hart nog juist kon doen kloppen. In de eerste plaats werden deze bepalingen gedaan bij een calciumgehalte van 200 mgr. zonder kristalwater per Liter doorstromingsvloeistof, waarna het gehalte werd verhoogd tot 250 mgr., 300 mgr., 400 mgr., 500 mgr. en 600 mgr. Met de laatste dosis was de hoogst toelaatbare grens bereikt. Bovendien werden de bepalingen verricht bij een gehalte van 100 mgr. en 150 mgr. calciumchloride per Liter; 40 mgr. $CaCl_2$ is slechts in enkele gevallen toereikend. Voor elke bepaling werd een nieuw kikvorschhart gebruikt. Slechts in uit-

zonderingsgevallen werd na afloop van de kaliumbeproeving een nieuwe calciumdosis bij hetzelfde hart gebezigd. Dit geschiedde alleen, indien het hart niet te veel geleden had; door het achter-eenvolgens veranderen van de samenstelling der voedingsvloeistof, in kaliumopzicht. Het is begrijpelijk, dat het zoeken naar de minimum en maximum dosis niet altijd even vlug in zijn werk ging, zoodat de duur der proeven daardoor ook nog al varieerde. Sommige bepalingen waren reeds in 50 minuten afgelopen, terwijl andere waarden eerst na 2¹/₂ uur opgespoord waren. Op die manier was het mogelijk een aantal gegevens te verzamelen, die ons in staat stelden om het quotient $\frac{K}{Ca}$ in de RINGER'sche vloeistof te beoordeelen.

Daarbij werd er voor zorg gedragen, dat voordat een bepaalde samenstelling der vloeistof als werkzaam beschouwd werd deze eerst minstens 10 minuten door het hart gestroomd moest hebben.

Ging het hart binnen 10 minuten spontaan pulseeren, dan moest het daarenboven 10 minuten doorkloppen, voordat werd aangenomen, dat we met een gebalanceerde oplossing te maken hadden. Aan dezen eisch heb ik steeds vastgehouden, daar anders indrukken, die op toevallige coincidenties berusten, niet in voldoende mate zouden zijn uitgesloten.

Overeenkomstig de vondsten van LOEB omtrent de afhankelijkheid der balanceering van de waterstofionenconcentratie werd er in de proeven steeds nauwkeurig op gelet, dat deze zooveel mogelijk constant bleef. Dit was juist in onze proeven van belang omdat de toevoeging van de uranyl- of thoriumzouten gemakkelijk een verschuiving der waterstofionen concentratie veroorzaken kan. Daarom werd aan de vloeistof steeds neutraalrood als indicator toegevoegd, door toevoegen van natriumbicarbonaat kon de vloeistof dan zwak alcalisch worden gehouden. Bovendien moest er rekening mee worden gehouden, dat bij het afwegen van het calciumchloride steeds een zekere hoeveelheid water mee wordt afgewogen, zoodat ook hierop gelet moest worden.

Iedere bepaling werd drie maal herhaald, zoodat voor elke waarde een quasi-gemiddelde kon worden opgegeven. Ten einde de bijzonderheden, die hierbij aan het licht kwamen zoo duidelijk mogelijk voor te stellen, werden deze waarden in graphieken verenigd, welke in de volgende paragrafen zullen worden afgebeeld. Uit den aard der zaak moest het onderzoek beperkt blijven tot de balanceering tusschen het kalium of zijne vervangers en het calcium. De balanceering tusschen calcium en andere niet radioactieve metalen, die door LOEB is aangetoond, kan, bij het hart van den kikvorsch

niet worden nagegaan, aangezien dan het kalium verwijderd zou moeten worden. Maar hiermede zou tegelijk de automatie, die in onze proeven als indicator wordt gebruikt, verloren zijn gegaan. Een verdere uitbreiding zou aan het onderzoek gegeven kunnen worden, door het strontium, dat het calcium in de Ringersche vloeistof kan vervangen, in plaats van het calcium te gebruiken. Dit was echter niet noodig, aangezien JOLLES¹⁾ terzelfdertijd, dat door mij de balanceering van het calcium werd nagegaan, de vriendelijkheid had het strontium in dezelfde richting te onderzoeken. De uitkomsten van dit onderzoek zijn in de verschillende paragrafen aan den voet der bladzijde genoemd.

Ook de bij de verschillende proeven optredende moeilijkheden zullen daarin worden behandeld.

§ 2. Het onderzoek van het uranylmetaal.

Het uranylmetaal $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ is een zout, dat zich in oplossing splitst in positief geladen UO_2 ionen en negatief geladen NO_3 ionen. De oplossing van uranylmetaal reageert zuur en indien aan deze oplossing een alkali wordt toegevoegd ontstaat een neerslag van uranaten ($\text{H}_2\text{U}_2\text{O}_7$), dat weer in zuur oplosbaar is. Bij het oplossen in de Ringersche vloeistof is het daarom van het grootste belang om na te gaan, of er werkelijk een neerslag van eenige beteekenis gevormd zou worden. De Ringersche vloeistof reageert zwak alcalisch, zoodat die mogelijkheid niet geheel uitgesloten was. Herhaalde malen is het echter gebleken, dat indien kleine hoeveelheden uranylmetaal, die in physiologische proeven gebruikt worden, eenige dagen in de Ringer'sche vloeistof verbleven, van neerslaan geen sprake was. In die gevallen kwam het dus niet tot de vorming van uranaten in merkbare hoeveelheid, want al zouden die in den beginne in de vloeistof gesuspendeerd kunnen blijven, gedurende eenige dagen is dit onmogelijk. Aangenomen mag dus worden, dat in de Ringersche vloeistof werkelijk uranylionen aanwezig zijn en practisch gesproken ongeveer in een hoeveelheid corresponderende met de toegevoegde hoeveelheid.

Wanneer na toevoeging van het uranylmetaal bleek, dat de reactie van de vloeistof niet meer dezelfde was als die van de oorspronkelijke Ringer'sche vloeistof, dan werd met behulp van natriumcarbonaat de vloeistof geneutraliseerd. Zooals reeds is vermeld werd daarbij het neutraalrood als indicator gebruikt.

¹⁾ Jolles. Diss. Utrecht. 1917.

In de eerste plaats werd nu de minimum en maximum hoeveelheid uranyl-nitrat (zonder kristalwater) bepaald, die nog juist in staat was om het hart te doen kloppen indien in de vloeistof 200 mgr. zuivere calciumchloride aanwezig was. Daarna werd dezelfde proef herhaald bij een gehalte aan calciumchloride van 100 mgr.; 150 mgr.; 250 mgr. enz. ¹⁾. De resultaten van die experimenten zijn in onderstaande tabel vereenigd. Daarbij dient in het oog gehouden te worden, dat in de tabel zijn opgegeven de gewichtshoeveelheden van de zuivere zouten zonder kristalwater, en daarnaast de ionenconcentratie in grammoleculen. Deze omrekening was noodzakelijk omdat om later te verdedigen redenen het waarschijnlijk is, dat we hier met ionenwerkingen te doen hebben.

TABEL 1. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2}$

Hoeveelheid Ca Cl ₂ p. L. in mgr.	Hoeveelheid Ca ++ in gr. mol.	Correspon- deerende minimum hoeveelheid UO ₂ (NO ₃) ₂ in mgr. p. L.	Correspon- deerende minimum hoeveelheid UO ₂ ++ in gr. mol.	Correspon- deerende maximum hoeveelheid UO ₂ (NO ₃) ₂ in mgr. p. L.	Correspon- deerende maximum hoeveelheid UO ₂ ++ in gr. mol.
25 mgr.	0.0002 m.	10.0 mgr.	0.000025 m.	30 mgr.	0.000075 m.
100 "	0.0009 "	10.0 "	0.000025 "	35.0 "	0.000087 "
150 "	0.00135 "	12.5 "	0.000031 "	37.5 "	0.000092 "
200 "	0.0018 "	15.0 "	0.0000375 "	40 "	0.0001 "
250 "	0.00225 "	20.0 "	0.000050 "	42.5 "	0.000106 "
300 "	0.0027 "	22.5 "	0.000056 "	47.5 "	0.000118 "
325 "	0.0029 "	25.0 "	0.0000625 "	50 "	0.000125 "
350 "	0.00315 "	27.5 "	0.000069 "	52.5 "	0.000131 "
375 "	0.0034 "	32.5 "	0.000081 "	55 "	0.000137 "
400 "	0.0036 "	37.5 "	0.000092 "	57.5 "	0.000144 "
500 "	0.0045 "	52.5 "	0.000131 "	75 "	0.000187 "
600 "	0.0054 "	80 "	0.0002 "	95 "	0.000237 "

Vereenigen wij de in deze tabel opgegeven waarden in een curve en wel zoodanig, dat de hoeveelheden calcium (ionenconcentratie in grammol.) op de absis en de hoeveelheden uranyl (ionenconcentratie in grammol.) op de ordinaat worden uitgezet, dan krijgen we een graphiek zooals in fig. 1 is aangegeven.

In deze graphiek geeft de onderste lijn de minimumwaarden; de bovenste lijn de maximumwaarden aan. Het vlak, dat door de beide lijnen begrensd wordt, is dus de zone, waarvan de correspondee-

¹⁾ Jolles heeft aangetoond, dat in plaats van het CaCl₂ ook het SrCl₂ in de hartspeer met uranyl-nitrat balanceert. In plaats van 200 mgr. CaCl₂ bleek 250 mgr. Strontiumchloride te moeten worden gebruikt.

²⁾ H. Zwaardemaker. Kon. Akad. v. Wetensch. Deel 25, p. 1096, 1917.

rende waarden $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2}$ de ventrikel van het hart normaal doen kloppen.

Men moet de balanceering tusschen twee zouten beschouwen als een verschijnsel, dat in wezen geheel verschillend is van het anta-

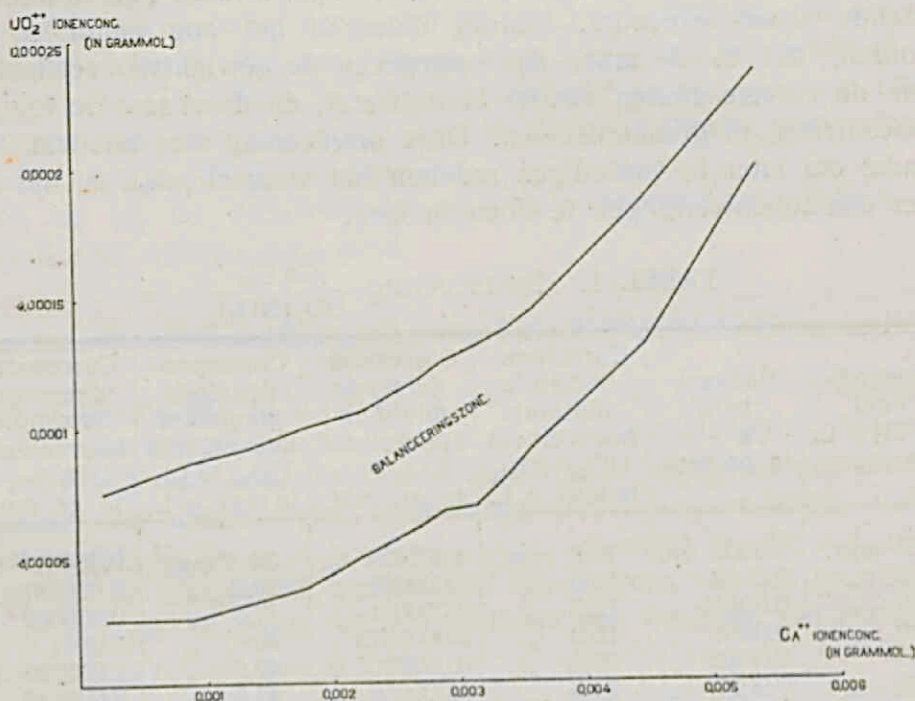


Fig. 1. Graphische voorstelling balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2}$

gonisme tusschen geneesmiddelen. Hoewel RINGER het oorspronkelijk als twee gelijkwaardige processen beschouwde, en daardoor bijzondere aandacht wijdde aan de toxische werkingen van de zouten en van het gedistilleerde water en bovendien J. LOEB er door dezen gedachtengang toe kwam om van ontgiftigingscoëfficiënt te spreken, bestaat er toch dit principieele verschil, dat geneesmiddelen voor de levende cel niet noodig zijn, terwijl de zouten in geen geval gemist kunnen worden.

Uit de oude onderzoekingen is reeds gebleken, dat eene balanceering optreedt tusschen alle mogelijke ionen. Voor het hart echter hebben alle ionen uit anderen hoofde niet dezelfde beteekenis. Daar moet in het bijzonder aan den eisch worden voldaan, dat in de vloeistof een radioactief bestanddeel aanwezig is, terwijl hiernaast het specifiek werkende calcium het natrium niet gemist kan worden. Heeft men dus in het hart er voor zorg gedragen, dat in de eerste

plaats specifiek werkende ionen aanwezig zijn, anderzijds moet men daarenboven voldoen aan den eisch, door de algemeene eigenschappen der ionen gesteld, en er daarom op letten, dat de ionen in gebalanceerde hoeveelheden aanwezig zijn. Om voor het hart een geschikte physiologische vloeistof samen te stellen, is het strikt noodig aan deze *twee opzichzelfstaande* voorwaarden te voldoen. Daarbij is het dus niet uitgesloten, dat er zich gevallen kunnen voordoen, waarin aan beide voorwaarden niet gelijktijdig zou kunnen voldaan worden. Men zou b.v. een aquiradioactieve vloeistof kunnen samenstellen, waarin de ionen niet gebalanceerd zijn. Of men zou een aquiradioactieve vloeistof kunnen verkrijgen met te weinig, doch toch gebalanceerd calcium. Regelmatige pulseering zou onmogelijk blijken. Bovendien kan een zorgvuldig gebalanceerde vloeistof ontworpen worden, waarin het radioactief bestanddeel in onvoldoende of te groote (toxische) hoeveelheid aanwezig is. Ook in dit geval is slagen der proefneming uitgesloten.

De uranylzouten leenden zich bovendien nog tot een nader onderzoek wat betreft de rol, die de anionen spelen. Behalve het uranyl-nitrat, konden ook het uranylacetaat en het uranyl-sulfaat nagegaan worden. Daarbij kwam aan het licht, dat al deze zouten tegenover het calciumchloride hetzelfde gedrag vertoonden. Ter staving hiervan zijn voor het uranylacetaat hieronder in een kleine tabel de resultaten opgegeven.

TABEL 2. Indifferentie voor anioneninvloed.

hoeveelheid CaCl ₂ p. L. in mgr.	hoeveelheid Ca++ in gr. mol.	correspon- deerende mi- nimum hoe- veelh. UO ₂ - acetaat in mg. p. L.	correspon- deerende mi- nim.hoeveel- h. UO ₂ ++ in gr. mol.	correspon- deerendema- ximum hoe- veelh. UO ₂ - acetaat in mgr. p. L.	correspon- deerende mi- nim.hoeveel- h. UO ₂ ++ in grammol.
100 mgr.	0.0009 m.	9 mgr.	0.000025 m.	31.5 mgr.	0.000087 m.
200 "	0.0018 "	13.5 "	0.000037 ⁵ "	36 "	0.0001 "
300 "	0.0027 "	20 "	0.000056 "	42 "	0.000118 "
400 "	0.0036 "	34 "	0.000092 "	52 "	0.000144 "

Zooals de lezer bespeurt, komen de waarden der UO₂++ concentraties in deze tabel geheel en al overeen met de waarden, die gevonden zijn voor het uranyl-nitrat en die zijn opgegeven in tabel 1. Alleen de totale hoeveelheden gebruikte zout zijn anders door het veranderde moleculairgewicht.

§ 3. Het onderzoek van de thoriumzouten.

Als vervangmiddel van het kaliumzout in de Ringer'sche vloeistof is door ZWAARDEMAKER ook gebruik gemaakt van het thoriumnitraat ($\text{Th}(\text{NO}_3)_4$). Voor het onderzoek van de balanceering van dit zout met calciumchloride hadden we met eenige moeilijkheden te kampen, waardoor het onderzoek slechts binnen zekere grenzen kon worden uitgevoerd. Zoodra toch de hoeveelheid aanwezig thoriumnitraat grooter werd dan 50 mgr. p. L. trad er vrij spoedig in de Ringer'sche vloeistof een neerslag op, van thoriumhydroxyde, dat een quantitatief onderzoek onmogelijk maakte. Dientengevolge kon deze curve niet zoo volledig worden gemaakt als dit met het uranylzout het geval was. Op dezelfde wijze als dat voor het uranylzout hierboven is geschied, zijn de gegevens hieronder in een tabel vereenigd. De proeven hadden ook in dit geval met winterkikvorschen plaats.¹⁾

TABEL 3. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{Th}(\text{NO}_3)_4}$

Hoeveelheid. Ca Cl ₂ p. L. in mgr.	Hoeveelheid Ca++ in gr. mol.	correspon- deerende minimum hoeveelh. Th. (NO ₃) ₄ in mgr. p. L.	correspon- deerende minimum hoeveelh. Th.++++ in gr. mol.	correspon- deerende maximum hoeveelh. Th (NO ₃) ₄ in mgr. p. L.	correspon- deerende maximum hoeveelh. Th.++++ in gr. mol.
10 mgr.	0.00035 m.	12.5 mgr.	0.000026 m.	20 mgr.	0.000042 m.
50 "	0.00045 "	12.5 "	0.000026 "	37.5 "	0.000078 "
100 "	0.0009 "	15 "	0.000031 "	40 "	0.000083 "
150 "	0.00135 "	22.5 "	0.000047 "	52.5 "	0.000109 "
200 "	0.0018 "	30 "	0.000062 "	60 "	0.000124 "
300 "	0.0027 "	40 "	0.000083 "	85 "	0.000177 "
400 "	0.0036 "	80 "	0.000167 "		

Ook deze gegevens kunnen, hoewel zij door het neerslaan van het $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ in alkalische oplossingen in de hoogere doseeringen niet volledig zijn, kunnen in een graphische voorstelling vereenigd worden, welke en fig. 3 is weergegeven.

Behalve het hier genoemde geval, waarin gewerkt werd met thoriumzouten in kristalloide oplossingen hebben STREEF²⁾ en LEVEND³⁾ de balanceering nagegaan tusschen het calciumzout en colloïdale

¹⁾ Ook voor thoriumzouten heeft Jolles gevonden, dat in plaats van 200 mgr. Ca Cl₂ van 250 mgr. strontiumchloride gebruik kon worden gemaakt.

²⁾ Streef. Diss. Utrecht 1918.

³⁾ Levend. Diss. Utrecht 1921.

thorium en thorium-ioniumoplossingen. Beide komen tot de conclusie, dat ook de in colloidalen toestand verkeerende thoriumverbindingen

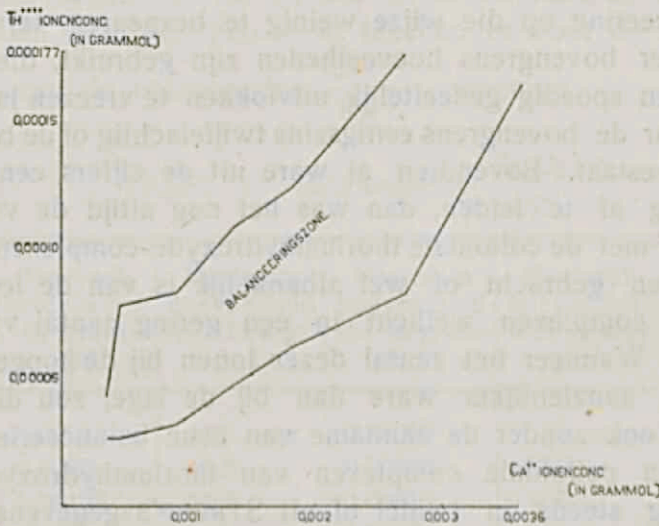


Fig. 2. Balanceering $\frac{\text{CaCl}_2}{\text{Th}(\text{NO}_3)_4}$

resp. ioniumverbindingen met het CaCl_2 zouden balanceeren. Bij een nadere beschouwing mag echter van een duidelijke balanceering niet gesproken worden, hoogstens heeft men hier te doen met eene *aanduiding* van eene balanceering. Ter staving diene het volgende:

STREEF geeft op blz. 31 de volgende gegevens:

TABEL 4.

hoeveelheid CaCl_2 in mgr. p. L.	minimum hoeveelheid coll. thor. hydroxyde in mgr. gebruikt $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$.	maximumhoeveelheid coll. thor. hydroxyde in mgr. gebruikt. $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$.
150 mgr.	37.5 mgr.	62.5 mgr.
200 mgr.	50 mgr.	75 mgr.
300 mgr.	50 mgr.	150 mgr.

waarbij hij aanteekent, dat 50 mgr. nitraat per liter wel ongeveer de minimumdosis is, die de hartautomatie opwekt of aan den gang houdt, daar een hoeveelheid coll. thoriumhydroxyde = $37\frac{1}{2}$ mgr. nitraat slechts een onregelmatig kloppen vermag op te wekken en eerst een hoeveelheid = 50 mgr. nitraat p.L. de regelmatige hartsactie teweeg brengt.

Ik zou naar aanleiding van deze opmerking neiging gevoelen het cijfer 37.5 mgr. uit STREEF'S tabel in een getal tusschen 37.5 mgr. en 50 mgr. ingelegten te vervangen. Voor de ondergrens is dus van eene balanceering op die wijze weinig te bespeuren, terwijl voor de bepaling der bovengrens hoeveelheden zijn gebruikt, die zoo groot zijn, dat een spoedig gedeeltelijk uitvlokken te vreezen is. Het wordt daarom voor de bovengrens eenigszins twijfelachtig of de balanceering hier wel bestaat. Bovendien al ware uit de cijfers een werkelijke balanceering af te leiden, dan was het nog altijd de vraag of het verschijnsel met de colloïdale thoriumhydroxyde-complexen in verband moet worden gebracht of wel afhankelijk is van de ionen, welke nevens de complexen wellicht in een gering aantal vrij opgelost voorkomen. Wanneer het aantal dezer ionen bij de hoogere calcium-doseeringen aanzienlijker ware dan bij de lage, zou de tabel zijn toegelicht, ook zonder de aanname van eene balanceering tusschen Ca-ionen en colloïdale complexen van thoriumhydroxyde. Ik blijf daarom nog steeds in twijfel of uit STREEF'S gegevens inderdaad besloten mag worden, dat tusschen het colloïdale thorium en het calcium eene balanceering bestaat.

Beter te gebruiken dan de waarnemingen van STREEF zijn de gegevens die LEVEND in den winter van 1920 verkreeg, om eene balanceering tusschen de colloïdale ionium-thoriumoplossing en het calciumchloride te bewijzen. Eene herhaling van deze proeven in het voorjaar van 1921 leverde echter niet dezelfde mooie resultaten op. Naast enkele harten, waarbij geene balanceering kon worden aangetoond, beschrijft hij ook twee gevallen, waarin naar zijne meening van balanceering gesproken mag worden. In deze twee gevallen zou het hem gelukt zijn om een, met een bepaalde hoeveelheid I₀ slecht kloppend hart, door verandering van het calciumgehalte te verbeteren. Hoe groot echter in deze proeven de niet neergeslagen hoeveelheid I₀ in de vloeistof was, is niet precies te zeggen, zoodat het moeilijk is na te gaan of deze verbetering beschouwd moet worden als het gevolg van een juistere verhouding tusschen het I₀ gehalte en het Ca-gehalte der vloeistof of wel aan een op zichzelf reeds geschikte Ioniumdosis te danken is.

§ 4. Het onderzoek der kalium- en rubidiumzouten.

Volledigheidshalve moeten ook de resultaten worden vermeld, die het onderzoek der balanceering tusschen kalium of rubidium en het calcium hebben opgeleverd, ofschoon dit feit reeds langen tijd bekend was. Ook daarvoor heb ik mijne gegevens in grafische voorstellingen

vereinigd, die aangezien de curven voor het kaliumchloride en het rubidiumchloride precies gelijk zijn hier alleen voor de balanceering tusschen het kaliumchloride en het calciumchloride is weergegeven. De gevonden waarden heb ik in tabellen en voor de balanceering $\frac{\text{Ca}^{++}}{\text{K}^{+}}$ en voor de balanceering $\frac{\text{Ca}^{++}}{\text{Rb}^{+}}$ vereinigd.

TABEL 5. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{K Cl}}$

Hoeveelheid CaCl_2 in mgr. p. L.	Hoeveelheid Ca^{++} in grammol.	Minimum hoeveelheid KCl in mgr. p. L.	Minimum hoeveelheid K^{+} in grammol.	Maximum hoeveelheid KCl in mgr. p. L.	Maximum hoeveelheid K^{+} in gr. mol.
40 mgr.	0.00035 m.	12.5 mgr.	0.00016 m.	80 mgr.	0.00102 m.
100 "	0.0009 "	12.5 "	0.00016 "	250 "	0.00325 "
150 "	0.00135 "	15.0 "	0.00019 "	400 "	0.00520 "
200 "	0.0018 "	40.0 "	0.00052 "	550 "	0.00715 "
300 "	0.0027 "	110.0 "	0.00123 "	800 "	0.01040 "
400 "	0.0036 "	175.0 "	0.00227 "		
450 "	0.0040 "	225 "	0.00292 "		

Deze gegevens leveren onderstaande graphische voorstelling.

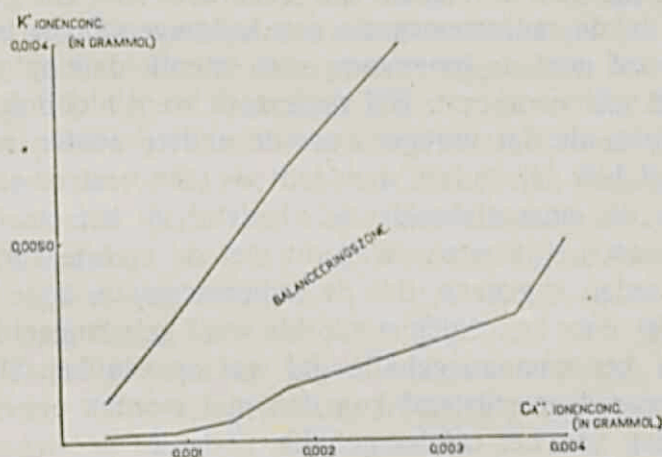


Fig. 3. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{K Cl}}$

De met 400 mgr. CaCl_2 corresponderende maximum hoeveelheid kaliumchloride is niet nagegaan, omdat in die gevallen de osmotische druk zoodanig werd verhoogd, dat deze druk zijn invloed zou doen gelden.

Voor het rubidiumchloride werden de onderstaande waarden gevonden:

TABEL 6. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{Rb Cl}}$

Hoeveelheid CaCl_2 p. L.	Hoeveelheid Ca^{++} in grammol.	Minimum hoeveelheid Rb Cl in mgr. p. L.	Minimum hoeveelheid Rb^{+} in grammol.	Maximum hoeveelheid Rb Cl in mgr. p. L.	Maximum hoeveelheid Rb^{+} in grammol.
100 mgr.	0.0009 m.	20 mgr.	0.00016 m.	395 mgr.	0.00325 m.
200 "	0.0018 "	60 "	0.00052 "	635 "	0.00520 "
300 "	0.0027 "	135 "	0.00113 "	870 "	0.00715 "
400 "	0.0036 "	275 "	0.00227 "		

§ 5. Het onderzoek der radiumemanatie.

Behalve met de hier reeds genoemde zouten is ook getracht om met radiumemanatie, dat zooals bekend is het kalium in de Ringer'sche vloeistof kan vervangen ¹⁾, eene balanceering tegenover het calciumchloride vast te stellen. Dit onderzoek was van groot belang, omdat we in de radiumemanatie een kaliumvervanger bezitten, die in de vloeistof noch in ionenvorm noch in colloïdale oplossing, maar als opgelost gas voorkomt. Het onderzoek werd hier ook op dezelfde wijze verricht als dat vroeger voor de andere zouten was gedaan, alleen moest hier bijzondere aandacht worden besteed aan het overgieten van de emanatiehoudende vloeistof uit het emanatorium in de flesch van het toestel. Was dit met de meeste zorg geschied, dan kon worden nagegaan, dat de radiumemanatie in de Ringer'sche vloeistof niet door het calciumchloride werd gebalanceerd. Vermeerdering van het emanatiegehalte gaf wel op een bepaald punt een stilstand, maar deze stilstand kon dan niet worden opgeheven door vermeerdering van het calciumgehalte.

Voor het quantitative onderzoek hebben we eenvoudigheidshalve voor verschillende werkzame doses radiumemanatie de minimum- en maximumhoeveelheid calciumchloride bepaald, die toelaatbaar waren. Deze gegevens zijn hieronder vermeld.

¹⁾ H. Zwaardemaker en T. P. Feenstra. Compt. rend. Soc. de Biol. T. 84, pg. 377, 1921.

TABEL 7. Verhouding Ra emanatie tot CaCl_2 .

Gehalte aan radium-emanatie in curies.	Minimumhoeveelheid CaCl_2 in mgr. p. L.	Maximumhoeveelheid CaCl_2 in mgr. p. L.
36 $\times 10^{-10}$	50	500
54 $\times 10^{-10}$	50	500
72 $\times 10^{-10}$	50	500
108 $\times 10^{-10}$	50	500
180 $\times 10^{-10}$	50	500
270 $\times 10^{-10}$	50	500
360 $\times 10^{-10}$	50	500

Het is haast vanzelf sprekend, dat een nauwkeurige doseering der bestraling van het kikvorschenhart dusdanige moeilijkheden met zich medebrengt, dat van een quantitatief onderzoek in deze richting werd afgezien.

Het ideaal zou zijn op een hart, dat bij doorstroming met kaliumlooze vloeistof, door uitwendige bestraling met radium, mesothorium of polonium, regelmatig kloppend wordt gehouden, alle mogelijke ionen te beproeven. Men zou op die wijze in de gelegenheid zijn het verschijnsel der balanceering in zijn volle algemeenheid te bestudeeren.

§ 6. Bespreking der resultaten.

Een der eerste merkwaardigheden, die bij het beschouwen der resultaten opvalt, is wel deze, dat ionen van verschillende waardigheid met het calciumchloride kunnen balanceeren. Dit is daarom van belang, omdat steeds weer wordt opgemerkt, dat het balanceeringsvraagstuk met de waardigheid der ionen verband zou houden, hoewel reeds door J. LOEB was aangetoond, dat de waardigheid niet de eenigste factor is, die het verschijnsel kan verklaren. Uit de door ons vermelde gegevens, blijkt, dat tusschen de balanceering van het vierwaardige Th-ion; het tweewaardige UO_2 -ion of het eenwaardige K-ion tegenover het Ca-ion, alleen quantitative verschillen bestaan, maar dat van een kwalitatief onderscheid geen sprake is. Er volgt daarom hieruit m.i. zonder meer, dat aan de waardigheid der ionen als primaire verklaringsfactor geen betekenis gehecht behoeft te worden, een slotsom, waartoe trouwens ook LOEB zelf reeds gekomen is.

Voor de nieuwe zoutcombinaties in de Ringersche vloeistof, waarvoor het gelukt is om eene balanceering aan te toonen, is het verloop der balanceeringscurven karakteristiek, hoewel de verschillende onderdeelen der lijnen verschillen vertoonen.

Beschouwen we in de eerste plaats de graphische voorstelling van de balanceering tusschen het uranyl nitraat en calciumchloride,

dan zien we dat deze lijn in de lage waarden ongeveer verloopt in de richting van de abscis, terwijl bij grootere hoeveelheden uranyl-nitraat de curve een meer en meer omhooggaande richting verkrijgt. Voor de bovengrens is een zelfde verloop waar te nemen met dit onderscheid, dat voor de kleine waarden er een plotselinge daling in de hoeveelheid NO_2 (NO_3)₂ optreedt, hetgeen in den vorm der lijn zeer goed waarneembaar is. Voor de balanceering $\frac{\text{Th}(\text{NO}_3)_4}{\text{Ca Cl}_2}$ en $\frac{\text{KCl}}{\text{CaCl}_2}$ hadden de curven dezelfde eigenschap als bij de balanceering $\frac{\text{UO}_2(\text{NO}_3)}{\text{Ca Cl}_2}$ het geval was. Deze overeenkomst in den vorm der verschillende balanceeringscurven is ook te constateeren in de lijn, die door ZWAARDEMAKER¹⁾ is samengesteld uit gegevens die uit de litteratuur zijn verzameld. Deze kurve is hier afgebeeld.

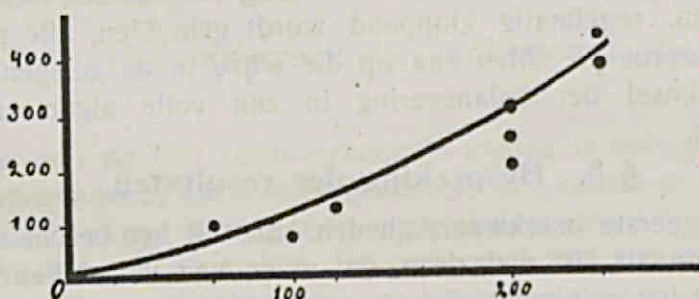


Fig. 4. Balanceering $\frac{\text{Ca Cl}_2}{\text{KCl}}$ (gegevens uit de litteratuur.) Op de abscis de hoeveelheid Ca Cl_2 in mgr. p. L. op de ordinaat de hoeveelheid KCl in mgr. p. L.

Bij de hogere hoeveelheden uranyl-nitraat en calciumchloride blijkt, dat grootere variaties in de hoeveelheid uranyl-nitraat met een kleinere variatie in de ionenconcentratie van het calciumchloride in evenwicht kan worden gehouden. Deze wijziging in de verhouding komt ook tot uiting bij de balanceeringen $\frac{\text{Th}(\text{NO}_3)_4}{\text{CaCl}_2}$ en $\frac{\text{KCl}}{\text{CaCl}_2}$. Hieruit blijkt, dat er bij dit verschijnsel een variabele in het spel is, die vooral bij de hogere concentraties tot uiting komt. Daarbij moet er op gewezen worden, dat dit een variabele van meer algemeen aard moet zijn, die in alle balanceerende zoutmengsels aanwezig is en met de specifieke eigenschappen van bepaalde ionen niets te maken heeft.

¹⁾ H. Zwaardemaker. Zittingsversl. Kon. Akad. v. Wetensch. Deel XXV p. 1096. 1917.

Hiernaast komen ook gevallen voor, waarin geen balanceering kon worden aangetoond, mede is dit van groot belang. Zooals reeds bij de bespreking van de werking der thoriumzouten werd opgemerkt, heeft men alle recht om de balanceering der colloïdale oplossingen in twijfel te trekken. Voegt men nu hierbij het geheel afwezig zijn eener balanceering van de radiumemanatie tegenover het calciumchloride, dan komt men tot de conclusie, dat eene balanceering alleen duidelijk is aangetoond voor het kaliumchloride, rubidiumchloride, uranyl-nitrat en thorium-nitrat en wel indien deze in kristalloïde oplossing werden gebruikt. In deze kristalloïde oplossingen komen nu allereerst voor de zoutmoleculen en bovendien de anionen en kationen, die zich uit die zoutmoleculen kunnen vormen. De zoutmoleculen zelf zullen bij deze verschijnselen hoogstwaarschijnlijk geen merkbare rol spelen, want afgezien van het chloornatrium zijn zij in physiologische omstandigheden in een dusdanige geringe concentratie aanwezig, dat men ze voor nagenoeg volkomen gedissocieerd mag houden. Juist in die sterk verdunde oplossingen vertoonen verschillende van deze zouten hunne typische physiologische werkingen. De anionen zijn ook ten opzichte van de balanceering als indifferent te beschouwen, omdat, zooals een, reeds genoemd, opzettelijk onderzoek met uranylzouten aantoonde, het onverschillig is welk anion naast het uranylion wordt gebruikt, uitgezonderd natuurlijk die anionen, die specifieke werkingen vertoonen. Het is daarom alleszins gerechtvaardigd om de balanceering in het bijzonder als een kationenwerking te beschouwen. Het afwezig zijn van de balanceering bij de radiumemanatie versterkt mij in deze meening.

Uit den aard der zaak is men geneigd om de physiologische ionenwerkingen als chemische reacties op te vatten, die zich tusschen de ionen en bestanddeelen van het protoplasma afspelen. Volgt men dezen gedachtengang dan komt men er vanzelf toe om zich af te vragen welken invloed de temperatuur op het proces uitoefent. Een opzettelijk onderzoek in deze richting leidde tot het merkwaardige feit, dat de temperatuur op het verschijnsel geen aantoonbaren invloed, noch quantitatief noch kwalitatief, doet gelden. Variaties in de temperatuur tusschen $\pm 10^{\circ}$ en 30° C. gaven volmaakt dezelfde balanceeringsgrenzen. Ook reeds hierom is het onwaarschijnlijk, dat in deze gevallen zuiver chemische reacties in het spel zouden zijn.

Samenvattend hebben dus de proeven de volgende gegevens opgeleverd:

1. De balanceering moet beschouwd worden als het gevolg van ionenwerkingen.
2. De waardigheid der ionen speelt bij de balanceering een onder-

geschikte rol, kan althans in geen geval dienst doen als verklaringsfactor.

3. Een invloed van de temperatuur op de balanceering is niet merkbaar.
4. De balanceeringscurven hebben een karakteristiek verloop.
5. Daarbij blijkt er een variabele in het spel te zijn, die vooral bij de hogere dosis tot uiting komt.

In het volgende hoofdstuk zal nu gezocht worden naar eene verklaring, waarin al deze feiten opgenomen kunnen worden.

HOOFDSTUK III.

Een theorie der balanceering.

INLEIDING.

Beschouwt men de structuur van de cel uit een kolloidchemisch oogpunt dan moet men zich het levende celprotoplasma in het algemeen denken als een sole, aangezien door verschillende onderzoekers als GAIDUKOV¹⁾, MOTT²⁾ e. a. is aangetoond, dat in het protoplasma van verschillende cellen de Brown'sche moleculair-beweging is waar te nemen. De cel, opgenomen in het weefselverband, wordt nu omspoeld door de weefselvloeistof, zoodat het niet behoeft te verwonderen dat juist het grensvlak protoplasma — weefselvloeistof voor het onderzoek naar de levensverschijnselen van de cel, van de allergrootste beteekenis is. Hoewel in de oppervlakte van de cel, althans in verreweg de meeste met behulp van het microscoop geen bijzonderheden zijn waar te nemen, is toch gebleken, dat er zich zeer ingewikkelde verschijnselen afspelen, ja, dat zelfs bepaalde verschijnselen zich, volgens het huidige inzicht, niet anders, dan aan de oppervlakte van het protoplasma kunnen voltrekken.

Gaat men dit grensvlak protoplasma — weefselvloeistof aan een nader onderzoek onderwerpen, dan komt men tot de conclusie, dat volgens het principe van GIBBS-THOMSON, alle oppervlakte spanning verlagende stoffen, die in een der beide fasen voorkomen zich in de grenslaag zullen ophoopen. Theoretisch kan men zich op deze wijze de grenslaag tusschen protoplasma en weefselvloeistof opgebouwd denken uit bepaalde bestanddeelen van de beide aan elkaar stootende fasen, waarbij men er echter op bedacht moet zijn, bij het bepalen van de oppervlakte-spanning verlagende eigenschappen voor bepaalde stoffen, ook in het experiment twee fasen te kiezen,

¹⁾ Gaidukov. Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und Medizin. Jena. G. Fischer pag. 62. 1910.

²⁾ Mott. British Medical Journal. p. 780 — 783. 28 Sept. 1912.

die de beide fasen protoplasma — weefselvloeistof nabijkomen. Doch in dezen eisch ligt tevens al opgesloten, dat aan het experimenteel onderzoek hier groote moeilijkheden in den weg worden gelegd, want niet alleen heeft men te doen met zeer samengestelde fasen, maar bovendien moet men met ZWAARDEMAKER¹⁾ aannemen, dat zich in het levende weefsel een som van kringprocessen voltrekken. Daardoor is tijdens het leven het protoplasma zoowel als de weefselvloeistof, voortdurend aan verandering onderhevig.

Ook de grenslaag aan de oppervlakte der cel is aan onophoudelijke veranderingen onderworpen, en de door ons waargenomen verschijnselen die zich in die grenslaag afspelen, moeten dan ook worden opgevat als een gevolg van voortdurende toestand-veranderingen in dat grensvlak. Ook de in het grensvlak optredende merkwaardige elektrische verschijnselen maken deel uit dezer oppervlaktewerkingen.

§ 1. De samenstelling der grenslaag protoplasma — weefselvloeistof.

Bij de meeste dierlijke cellen is van een membraan in den waren zin des woords geen sprake. In de eerste plaats is een dergelijk celbestanddeel, dat van de overige cel verwijderd zou kunnen worden, noch microscopisch (dubbele contour), noch uit de waargenomen verschijnselen aan te toonen, maar in de tweede plaats is het voor de verklaring der verschijnselen niet noodig en behoeft dus het bestaan ervan niet te worden verondersteld. Natuurlijk wordt daarmee gelijktijdig de pas afgesneden aan theorien, die de aan de oppervlakte der cel plaats hebbende processen langs zuiver mechanischen weg willen verklaren.

Stelt men zich op het zoeven ingenomen standpunt en neemt men aan, dat zich op de oppervlakte der cel per se een grenslaag moet vormen, waarvan de samenstelling afhankelijk is van de samenstelling der beide aangrenzende fasen, dan verkrijgt de theoretische grondslag een zeer bepaald karakter. Door de groote voortdurende verandering, waaraan de fasen-complexen, die elkaar hier aanraken onderhevig zijn, in het bijzonder van die, aan het protoplasma eigen, ligt dan ook het vermoeden voor de hand, dat de verschillende eigenschappen, die aan het grensvlak worden toegekend, niet constant kunnen zijn. Daaruit volgt dan ook, dat,

¹⁾ Zwaardemaker. Leerboek der Physiologie 3^e dr. I, blz. 2. 1920.

(Ik zie af van de andere litteratuur van bespiegelend karakter, waarin de vloeibaarheid van het celprotoplasma wordt bepleit.)

zelfs afgezien van het ontbreken van een dubbele contour, ook bij wijze van physische hyphothese niet van een membraan mag worden gesproken en het verstandiger is, om alle verwarringen te voorkomen, het grensvlak als grenslaag van het protoplasma aan te duiden. Reeds KÜHNE¹⁾ heeft zich omtrent de oppervlaktelaag der cel in deze richting uitgesproken en een scherp onderscheid gemaakt tusschen een eigenlijke membraan d. i. een van te voren bestand en anatomisch te scheiden vormsel en daartegenover een oppervlaktelaag „welche sich auch an einen Flüssigkeitstropfen in einem Medium, mit dem er sich nicht mischt, als eigentümlich für seine Oberfläche zeigt.“

Deze opvatting heeft nadien meer en meer aanhangers gekregen. Daarbij moest echter ook een verschil ter sprake komen, dat bij onderscheidene cellen is waar te nemen tusschen de buitenste en binnenste laag protoplasma en welke als ectoplasma en endoplasma werden aangeduid.

PFEFFER²⁾ kon zich er bij de plasmodien der slijmschimmels van overtuigen, dat bij vernietigen van het ectoplasma zich een nieuw ectoplasma op die plaats vormde, waaruit hij concludeerde, dat het ectoplasma een product was van het protoplasma. Volgens hem ontstaat een dergelijke laag overal waar het protoplasma een vrij oppervlak vormt.

De protoplasmalaag, het ectoplasma, moet echter niet worden verward met de grenslaag tusschen protoplasma en weefselvloeistof, die gevormd wordt door eene ophooping van stoffen, die de oppervlaktetenspanning verlagen. De laag, die wij bedoelen moet uit den aard der zaak zeer dun zijn. Volgens LANGMUIR³⁾ is zij slechts een molecule dik. Microscopisch kan zij onmogelijk waarneembaar zijn.

Het ectoplasma moet men derhalve met Pfeffer beschouwen als een bestanddeel van het protoplasma, terwijl de grenslaag protoplasma — weefselvloeistof een bestanddeel is, dat zoowel tot protoplasma als tot weefselvloeistof behoort, en in haar samenstelling van beide afhangt.

Ten einde de samenstelling dezer grenslaag na te gaan, kan men toepassing trachten te maken van de gegevens der physische chemie. Oppervlaktetenspanningverlaging aan een grensvlak is experimenteel onderzocht aan het grensvlak vloeistof — gas en het grensvlak vloeistof

¹⁾ Kühne. Untersuchungen über das Protoplasma und die Kontraktilität. Leipzig 1864.

Moore en Roof. Biochemical Journal. Vol. 3, p. 55, 1907.

²⁾ Pfeffer. K. Sächs. Ges. d. wissensch. Bd. 27 p. 187, 1890. Pflanzenphysiol. Bd. 1 Leipzig.

³⁾ Langmuir. Amer. Chemic. Soc. II p. 1847, 1917.

— vloeistof. Wil men de uitkomsten dezer onderzoekingen op ons terrein overbrengen, dan moet men er zich van bewust blijven dat de gegevens aan eenvoudige stelsels verkregen, slechts van betrekkelijke waarde kunnen wezen voor de ingewikkelde stelsels van het levende weefsel.

Het behoeft dan ook niet te verwonderen, dat de inzichten der verschillende onderzoekers sterk uiteenloopen.

Gaat men de verschillende bestanddeelen van protoplasma en weefselvloeistof na, dan blijkt, dat verschillende daarvan zich ophopen in een grenslaag vloeistof — vloeistof of een grenslaag vloeistof-lucht. In de eerste plaats de lipoiden, de verzamelnaam voor alle vetachtige stoffen.

Hoewel deze stoffen overeenkomst vertoonen met vetten, moet men toch in het oog houden, dat zij ook verwant zijn met de hydrophyle kolloïden; zij hebben de eigenschap om in vrij sterke mate de oppervlaktetenspanning te verlagen¹⁾. Hierop afgaande heeft Overton in 1899²⁾ de veronderstelling geopperd, dat de grenslaag alleen uit lipoiden zou zijn opgebouwd. Deze z.g. lipoidtheorie heeft naast aanhang ook veel tegenstand uitgelokt.

Overton staaft zijne theorie aan het feit, dat verschillende stoffen, die z.g. „lipoidlöslich” zijn, gemakkelijk in de cel kunnen binnendringen. Als zoodanig gedragen zich verschillende narcotica als chloroform en alcohol, voorts ook oplossingen van ureum, vetzuren, sommige ammoniumzouten en verder bepaalde „lipoidlösliche” kleurstoffen.

Men moet echter in het oog houden, dat Overton's theorie, hoewel er ongetwijfeld veel door opgehelderd wordt, juist door het op den voorgrond dringen van het feit, dat er in de grenslaag alleen lipoiden zouden voorkomen, in strijd geraakt met allerlei verschijnselen, die aan de levende cel zijn waar te nemen.

De proeven van Osterhout³⁾ met *Spyrogyra* toonen aan, dat de cellen van deze alge permeabel zijn voor natriumchloride en andere zouten, wanneer ze alleen aanwezig zijn, terwijl wanneer deze zouten in gebalanceerde oplossingen voorkomen, de permeabiliteit verdwijnt.

Bestond de grenslaag alleen uit lipoiden, dan zou het volgens Hamburger en Loeb⁴⁾ onmogelijk zijn, dat ionen, die in een

1) Bayliss. *Principles of general Physiology*, p. 129, 1915.

2) Overton. *Vierteljahrschr. naturf. Gesellsch. Zürich*. 44, 88 — 135. *Jahrb. wissenschaft. Botanik*. 34, 669, 701.

3) Osterhout. *Science*. 34. p. 187 — 189.

4) Loeb, in Oppenheimer, *Hdb. der Biochemie* Bd. III, p. 105. 1909.

waterige oplossing voorkomen in de cel dringen. OVERTON¹⁾ gelooft dit, wel is waar, in overeenstemming met de feiten, omdat cellen in hypertonische zoutoplossingen schrompelen, maar in werkelijkheid vindt men in de cellen, hoewel weinig, kationen en anionen (HÖBER²⁾, terwijl volgens MACALLUM³⁾ kalium, volgens HAMBURGER calcium in niet gedissocieerde toestand in de cel is aangetoond. Ook niet „lipoidlösliche” kleurstoffen kunnen binnendringen.

ROBERTSON toonde aan, dat zuiver methylgroen de levende cel kleurt, terwijl het in vet en lecithine onoplosbaar is⁴⁾.

Uit de onderzoeken van LOEB⁵⁾ over kunstmatige parthenogenese blijkt voorts dat een kunstmatige eimembraan kan worden verkregen door het ei 50 — 60 minuten in een hyperisotonische NaCl-oplossing te leggen. Op deze manier kan het ei tot ontwikkeling worden gebracht. In plaats van een zuivere hyperisotonische keukenzoutoplossing te nemen kan men ook van een hypertonische rietsuikeroplossing gebruik maken, waarbij men echter, naar den osmotischen druk gerekend, met een veel geringere concentratie kan volstaan. LOEB verklaart dit door aan te nemen, dat de eimembraan voor keukenzout beter doorgankelijk is dan voor rietsuiker.

Deze en ook vele andere gegevens pleiten tegen de lipidtheorie van OVERTON in zooverre, dat het met de feiten niet in overeenstemming is te brengen, dat de grenslaag geheel uit lipoiden zou bestaan. Dat echter de lipoiden wel een belangrijk bestanddeel vormen, blijkt uit de vele verschijnselen die hiermede te verklaren zijn. Bovendien zijn later door LOEB⁶⁾ voor sommige plantencellen nog nieuwe gegevens aangebracht. Al is het daarom aannemelijk, dat in de grenslaag lipoiden aanwezig zijn, er zullen daarnevens toch noodzakelijk ook andere bestanddeelen in moeten worden aangetroffen.

De onderzoeken van RYVOSH⁷⁾ en RAMSDEN⁸⁾ hebben doen zien, dat roode bloedlichaampjes in verschillende mate hämolytisch zijn tegenover hypotonische zoutoplossingen en saponine en wel in zoodanigen zin, dat des te gevoeliger zij zijn tegenover hypotonische zoutoplossingen des te ongevoeliger zij zich blijken te gedragen tegenover saponine. BAYLISS⁹⁾ concludeert hier-

1) Overton. Pflüger's Archiv. Bd. 92, p. 115, 1902.

2) Höber. Pfl. Arch. Bd. 148, pag. 189.

3) Macallum. Journ. of Physiol. Vol. 32 p. 95, 1905.

4) Robertson. Journ. of biological Chemistry. IV p. 1. 1908.

5) Loeb. Univ. of California publications. III, 81. 1908.

6) Loeb. Biochemische Zeitschrift. Bd. 51, p. 288, 1913 en Bd. 59 p. 195, 1914.

7) Ryvosh. Pflüger's Archiv. Bd. 116 p. 229.

8) Ramsden. Proc. Royal. Soc. 72. 156.

9) Bayliss. General Physiology. p. 134, 1915.

uit, dat de hypertonische oplossingen in een ander bestanddeel der grenslaag aangrijpen dan de saponineoplossingen.

Wil men de grenslaag mede uit andere bestanddeelen opbouwen dan alleen uit lipoiden, dan is het daarom nog niet noodzakelijk de opbouw zoo gecompliceerd te maken als dit door BRAILSFORD ROBERTSON ¹⁾ geschiedt.

ROBERTSON denkt zich de oppervlakte der cel opgebouwd uit een eiwitoplossing, waarbinnen soms een onsamenhangende lipoidlaag kan voorkomen. In het kader van zijne veronderstelling, dat de chemische binding tusschen eiwitstoffen en ionen het voornaamste is, komt hij er toe om aan te nemen, dat op de grens van het protoplasma een eiwitlaag aanwezig moet zijn. Hij laat daarbij in het midden of er bovendien nog lipoiden aanwezig kunnen zijn. Omtrent de plaats, die de lipoiden dan zouden innemen, heeft hij geen scherp oordeel uitgesproken. Stelt OVERTON de lipoiden in de grenslaag op den voorgrond, ROBERTSON meent, dat het hoofdbestanddeel der grenslaag wordt gevormd door de eiwitstoffen, terwijl dan de lipoiden een secundaire rol vervullen.

Het midden tusschen deze beide theorien houdt de voorstelling van BOTTAZZI ²⁾, die aanneemt, dat de grenslaag is opgebouwd uit kolloidale complexen, die bestaan uit lipoidbestanddeelen en eiwitbestanddeelen, waarbij echter in de grenslaag het lipoid de overhand heeft. Bottazzi veronderstelt, dat deze „lipoproteinmembraan” gelijktijdig de min of meer veranderde eigenschappen van een lipoid- en eiwitmembraan bezit.

LANGMUIR ³⁾ heeft echter in 1916 aangetoond, dat niet enkel Lord-Rayleigh's olielaagje, maar elke grenslaag, die zich tusschen twee fasen vormt bij beperkte concentratie slechts een molecule dik zal zijn. In dit geval echter kan er in de grenslaag niet sprake zijn van kolloidale complexen, zooals BOTTAZZI zich dat voorstelt, maar zou men moeten aannemen, dat de grenslaag van de cel gedeeltelijk opgebouwd is uit lipoiden, gedeeltelijk uit eiwitstoffen of andere stoffen, die de oppervlaktetenspanning verlagen.

Men zou zich dan kunnen voorstellen, dat het lipoidgehalte van weefselvloeistof en protoplasma niet toereikend is om de geheele celgrenslaag te vormen en dat de op die wijze openblijvende plaatsen door andere oppervlakte spanning verlagende stoffen zouden kunnen worden ingenomen.

¹⁾ Robertson. Journ. of biologic. Chemistry. Vol. 4. p. 1, 1908; Univ. of Calif. publications. Vol. 3 p. 115, 1909.

²⁾ Bottazzi, in Handb. der Vergl. Physiologie von Winterstein. Bd. II p. 235.

³⁾ Langmuir, l.c.

Op deze wijze zou dan de grenslaag zoowel uit lipoiden als eiwitstoffen en mogelijk andere stoffen bestaan, waarbij dan de onderlinge hoeveelheid geheel afhankelijk is van de samenstelling van protoplasma en weefselvloeistof.

Door deze afhankelijkheid der grenslaag van protoplasma en weefselvloeistof is het vanzelf sprekend, dat de grenslaag voortdurend aan veranderingen onderhevig moet zijn. Ter verklaring van het feit, dat voedingsstoffen dikwijls niet in de cel kunnen indringen, maar dat onder bepaalde omstandigheden de celoppervlakte toch permeabel zou kunnen worden voor deze stoffen, neemt HÖBER¹⁾ aan, dat we hier te doen zouden hebben met een specifieke levensfunctie der cel en niet met eenvoudige diffusieverschijnselen. Hij komt dan tot de volgende twee mogelijkheden t. w. of dat deze voedingsstoffen bepaalde chemische veranderingen zouden ondergaan, waardoor ze wel in de cel kunnen binnendringen of dat de celoppervlakte veranderingen kan ondergaan, waardoor voedingsstoffen kunnen worden opgenomen. Als voorstander der eerste mogelijkheid heeft OVERTON een methode aangegeven, waarop koolhydraten in een in lipoid oplosbaren vorm konden worden overgebracht.

Hoewel hiermede de experimenteele bewijzen voor de eerste veronderstelling zijn uitgeput, is het LOEB²⁾, HÖBER¹⁾ en LILLIE³⁾ gelukt allerlei stoffen te vinden, die in staat zijn een der eigenschappen van het celoppervlak t. w. de permeabiliteit, te veranderen. Volgens HÖBER zijn het speciaal de zouten en het koolzuur, die in physiologische omstandigheden hiertoe in staat zouden zijn.

Ter verdere staving van dit vermoeden heeft men gebruik gemaakt van electrophysiologische gegevens.

W. OSTWALD⁴⁾ heeft in 1890 het eerst erop gewezen, dat wanneer zich tusschen twee electrolyten van verschillende ionenconcentratie een membraan bevindt, de mogelijkheid is gegeven, dat deze membraan niet voor alle doch slechts voor bepaalde ionen doorgankelijk is. Zoo is men zich eene bepaalde voorstelling gaan vormen omtrent het verloop der bioelectrische verschijnselen van de levende organismen.

BERNSTEIN is op deze wijze tot zijne bekende theorie over het ontstaan van den ruststroom in de spier gekomen. Het is daarna aan HÖBER gelukt, om onder aanname, dat de permeabiliteit der grens-

¹⁾ Höber. Ergebnisse der wissenschaft. Medizin. p. 538 — 554, 1910.

²⁾ Loeb. Handb. der Biochemie Oppenheimer. Bd. III¹ p. 104.

³⁾ Lillie. Biol. Bullet. Vol. 17 p. 188, 1909. Proc. Soc. for exp. Biol. and Med. Vol. 6 p. 57, 1909.

⁴⁾ W. Ostwald. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 6. p. 71, 1890.

laag aan veranderingen onderhevig is, er potentiaalverschillen kunnen optreden tusschen het binnenste der cel en de omgeving, doordat normaal de grenslaag sterker permeabel zou zijn voor kationen dan voor anionen. Gedurende de prikkeling der cel zou dan de grenslaag ook permeabel worden voor anionen, waardoor het potentiaalverschil zou verminderen ¹⁾. Verder onderzoek leerde HÖBER, dat de kationen, waarvoor de grenslaag permeabel zou zijn, niet de kaliumionen zijn, maar de H-ionen.

We moeten in dit geval dus denken, dat twee electrolyten gescheiden door een membraan, die voor bepaalde ionen doorgankelijk is, een potentiaalverschil vertoonen. De grootte van dit potentiaalverschil hangt af van het aantal ionen, dat door de membraan heengaat en dit aantal is weer afhankelijk van het evenwicht, dat wordt gevormd tusschen het verschil der osmotische drukkingen der beide oplossingen en de ontstane electromotorische kracht.

Op deze wijze is het potentiaalverschil volgens HARDY ²⁾.

$$E = \frac{RT}{q} \ln \frac{C_2}{C_1}$$

waarin C_2 en C_1 de concentratie zijn der sterkere en zwakkere oplossing en q de hoeveelheid electriciteit, die een gramaequivalent van het permeabele ion draagt ³⁾.

Er wordt volgens deze laatste voorstelling een concentratieketen gevormd, waarbij de drijvende kracht wordt bepaald door permeabele kationen, die het verschil in osmotischen druk trachten te nivelleren. Bovenstaande vergelijking geldt, hetgeen uit de formule blijkt voor de gevallen dat er aan beide zijden der membraan concentratieverschillen bestaan of wel verschillen in den osmotischen druk. HARDY gaat dan ook bij de afleiding der formule uit van een eenvoudig geval en wel een enkel zout, dat electrolytisch gedissocieerd is. In zulke gevallen zal er een potentiaalverschil bestaan van ongeveer de orde 10^{-2} Volts.

Geheel anders echter wordt de toestand indien we dit toepassen op de grenslaag van de cel. Nemen we met HÖBER aan, dat de permeable kationen de H-ionen zijn, dan moeten de andere in de vloeistof (d. i. hier protoplasma en weefselvloeistof) voorkomende ionen als indifferente electrolyten worden beschouwd. Bovendien is

1) Höber. *Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe*. Leipzig 1911.

2) Hardy. in Bayliss, *Principles of General Physiology*. 1915.

3) Loeb is de eerste geweest, die getracht heeft op de ionenwerkingen de wetten van Nernst toe te passen. Hij hield hierbij echter angstvallig vast aan de membraan als scheidingswand tusschen twee electrolyten van verschillende concentratie. (Zie *Biochem. Zeitschr.* Bd 41, p. 1).

de osmotische druk binnen en buiten de cel gelijk, aangezien de celoppervlakte permeabel is voor water. In dat geval zal volgens NERNST ¹⁾ het potentiaalverschil tusschen beide electrolyten tot nul naderen, ook al zou dan de H-ionenconcentratie binnen en buiten de cel niet gelijk zijn, omdat de concentratie der H-ionen zeer gering is tegenover de ionenconcentratie van het electrolyt. Dat niettemin de algemeene ionenconcentratie in het protoplasma toch aanzienlijk is blijkt uit de onderzoekingen van HÖBER ²⁾, die vond, dat deze overeenkomt met die van een 0.4% NaCl oplossing.

Ter verklaring van het potentiaalverschil, dat zijn zetel heeft in de grenslaag, kan echter de ontdekking van OSTWALD niet gebruikt worden, want die potentiaalverschillen zouden in de celgrenslaag oneindig klein moeten zijn en niet experimenteel aan te toonen. BAYLISS ³⁾ zinspeelt hier terloops op. De door ons waargenomen potentiaalverschillen moeten derhalve op een andere manier tot stand komen. Ik wil trachten aan te geven op welke andere wijze men ze ontstaan kan denken in de hoop daardoor het balanceeringsvraagstuk te kunnen verduidelijken.

Maar daarvoor moeten eerst eenige eigenschappen der eiwitstoffen nader worden besproken, waarbij deze beperking noodzakelijk was, omdat omtrent lipoiden in dit opzicht in de litteratuur niets bekend is.

§ 2. De aschbestanddeelen der eiwitstoffen resp. lipoiden.

Hoewel reeds lang bekend is, dat bij verassing van eiwitstoffen steeds metalen kunnen worden aangetoond, is het tot nu toe nog niet duidelijk op welke wijze die metalen met de eiwitstoffen zijn verbonden. De eenvoudigste voorstelling, die men zich omtrent deze verbinding kan maken, is wel die van een gewone chemische binding.

C h e m i s c h e b i n d i n g .

Wanneer men zich de constructie der eiwitstoffen denkt volgens de synthese van FISCHER, dan is het duidelijk, dat de metalen, die oorspronkelijk als metaalionen in de vloeistof aanwezig waren, zich binden aan de COOH groepen van de eiwitstof. Ten einde het bestaan van deze zuivere chemische binding na te gaan kan het caseine dienen. Het zuivere caseine is onoplosbaar in water, maar wanneer men het in een alkalische oplossing brengt, gaat het in oplossing

¹⁾ Nernst. Lehrb. der theoretischen Chemie. s. 779, 1913.

²⁾ Höber. Pflüger's Archiv Bd. 148, p. 189.

³⁾ Bayliss. Gen. Physiology, p. 648, 1915.

over. De bestaande dissociatie van de caseine-zoutoplossing zou naast caseineionen niet kunnen bestaan uit kationen van het gebonden metaal, aangezien LOEVENHART¹⁾ heeft aangetoond, dat leib niet inwerkt op calciumcaseinaat indien niet tevens een hoeveelheid dissocieerbaar calcium aan de vloeistof wordt toegevoegd. Het aan het caseine gebonden calcium is dus niet in staat om als Ca ion in de vloeistof voor te komen. Wel kan men het calcium van het caseine vrijmaken door er een zuur aan toe te voegen.

ROHMAN en HIRSCHSTEIN²⁾ vonden echter, dat in zilverseinaatoplossingen geen zilverionen zijn aan te toonen. Hoewel door deze gegevens nog in geen deele is aangetoond, dat de zouten in ongedissocieerde toestand langs den gewonen chemischen weg met het eiwitmolecuul zijn verbonden, en daardoor niet in gedissocieerde toestand voorkomen, blijkt hieruit toch wel, dat de wijze waarop de metalen met de eiwitmoleculen zijn verbonden, niet zoo eenvoudig is, als dit bij de anorganische zouten het geval is. De moeilijkheden, die zich bij onderzoekingen in deze richting voordoen is vooral gelegen in de niet altijd constante samenstelling der op deze manier verkregen z.g. eiwit-zouten.

De proeven van PFEIFFER en MODELSKI³⁾ hebben bewezen, dat de samenstelling der kristallen van glyocol met calciumchloride of lithiumchloride niet van constante samenstelling zijn; volgens BAYLISS⁴⁾ zelfs niet indien verdund azijnzuur wordt toegevoegd.

Ondanks deze moeilijkheden zijn er echter aanwijzingen, dat een chemische binding zou bestaan. OSBORNE⁵⁾ toonde aan, dat wanneer calciumcaseinaat in een dialyseerbuis wordt gebracht, welke in een zeer verdunde kwikzilverchlorideoplossing is gedompeld, dit daarna in de buis diffundeert en daar in ongedissocieerde toestand wordt vastgehouden.

PAULI en HANDOVSKY⁶⁾ achten het mogelijk, dat de binding van zouten aan het eiwitmolecule langs zuiver chemischen weg tot stand kan komen, zoodat b.v. voor een neutraalzout de H van de NH₂ en COOH groep de anionen en kationen kan binden.

¹⁾ Loevenhart. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 41, 176, (1904).

²⁾ Rohman und Hirschstein. Beitr. zur chemischen Physiologie und Pathologie 3. 288, 1902.

³⁾ Pfeiffer en Modelski. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81. S. 329—354, ibid Bd. 85. S. 1—34.

⁴⁾ Bayliss. General Physiology, 1918. p. 105.

⁵⁾ Osborne, Journal of Physiology, 34, 84, 1906.

⁶⁾ Pauli en Handovsky, Bischem. Zeitschr. 24, 245, 1910.

Adsorptie-binding.

Tegenover een zuiver chemische binding der kristalloïden aan de eiwitstoffen kan men zich denken, dat de binding langs zuiver adsorptieven weg tot stand komt.

Ophooping van stoffen aan eene oppervlakte zal in al die gevallen optreden, waarin volgens GIBBS¹⁾ de oppervlaktespanning wordt verlaagd. Deze ophooping heeft plaats afgezien van welke processen ook, die zich nadien in die oppervlakte zullen afspelen. Bovendien zij er hier op gewezen, dat de ophooping aan eene oppervlakte veel sneller tot stand komt, dan de diffusie in het binnenste van een lichaam en dat bovendien het adsorptieevenwicht zich volgens FREUNDLICH²⁾ snel instelt, mits slechts geen andere processen het secundair beïnvloeden.

Volgen we voor de adsorpties de indeeling volgens Zsigmondy, dan hebben we bij de eiwitstoffen, die in de physiologische oplossingen als colloïdale deeltjes voorkomen, te doen met de opname van kristalloïde opgeloste stoffen door de micellen der colloïdale oplossing. Hierbij kunnen zich twee mogelijkheden voor doen en wel:

1^o. het systeem blijft schijnbaar onveranderd.

2^o. het systeem is aan waarneembare veranderingen onderhevig.

Bestaat er in de levende cel gelegenheid tot adsorptie dan is het zonder meer duidelijk, dat onder physiologische omstandigheden steeds met de onder sub 1^o genoemde mogelijkheden te maken hebben. Men moet er dan echter op bedacht zijn, dat het systeem alleen in fysisch chemischen zin schijnbaar onveranderd blijft, want het leidt geen twijfel dat juist de adsorpties in physiologischen zin tot sterke, duidelijk waarneembare veranderingen aanleiding geeft.

Anorganische zouten verhoogen de oppervlaktespanning in de grenslaag lucht — water, maar verlagen volgens Lewis de oppervlaktespanning in de grenslaag water — koolwaterstofgroep. Theoretisch volgt daaruit, dat een adsorptie mogelijk is tusschen proteïnen en anorganische zouten.

BECHHOLD³⁾ kon daarenboven met behulp van ultrafiltratie aantonen, dat colloïdaal albumine in staat is het kristalloïde methyleenblauw op te nemen.

De hiergenoemde gegevens wijzen allen erop, dat kristalloïden

1) Gibbs. Thermodyn. Studien. S. 271.

2) Zsigmondy. Kolloidchemie, 1912, p. 62.

3) Bechhold. Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 60 p. 257—318.

door eiwitstoffen in kolloidalen vorm kunnen worden opgenomen, maar het antwoord op de vraag of we óf met een chemische binding óf met adsorptie te doen hebben blijft onduidelijk. Sommige onderzoekingen wijzen daarenboven uit, dat een chemische binding alleen niet alle verschijnselen kan verklaren zooals o.a. blijkt uit SAMEC's onderzoek ¹⁾ over de invloed van anionen op de imbibitie van water door albumine.

Moleculaire valentie van Moore.

MOORE²⁾ tracht het antwoord op onze vraag te geven, door naast de atoomvalentie (d.i. de gewone chemische binding) een moleculaire valentie aan te nemen. Hij veronderstelt, dat indien in een molecuul een binding van atomen aan atomen niet meer kan plaats hebben, het molecuul in staat zou zijn zich met een ander molecuul te binden. Volgens deze hypothese zou dan een molecuul dat als zoodanig verzadigd is, in staat zijn zich met een ander molecuul te verbinden evenals dat met de atomen het geval is. Volgens de hypothese is dan een moleculaire binding tusschen alle mogelijke moleculen mogelijk, zooals b.v. proteïnen en zouten, lipoiden en zuren enz.

Voortgaande komt MOORE tot de conclusie, dat ieder colloïdaal complex bestaat uit een colloïdaal gedeelte in engeren zin en verder uit een kristalloïde groep. De eigenschappen van deze laatste groep wisselen. Bovendien zouden zij, doordat zij electrolytisch zijn gedissocieerd, de lading der complexen bepalen.

Theorie van Langmuir.

Hoewel dus MOORE zich een voorstelling tracht te maken van de samenstelling van de colloïdale complexen en deze daarbij feitelijk een plaats laat innemen tusschen de gewone chemische binding en de adsorptie, laat hij ons toch omtrent het wezen der zaak in het duister, want het bestaan der moleculaire valentie wordt verder niet aannemelijk gemaakt. Het is daarom als een groote vooruitgang te beschouwen, dat LANGMUIR³⁾ in de laatste jaren nieuwe voorstellingen omtrent de adsorptieverschijnselen heeft ontwikkeld. Deze theorie is van zoodanig belang ook voor physiologische vraagstukken, dat

¹⁾ Samec. Kolloidchemische Beihefte. 3. p. 123.

²⁾ Moore. Arch. di fisioloog. Vol 7, 1909, pg. 519

³⁾ Langmuir. Journ. Amer. Chemical Society Vol. $\frac{\text{XXXVIII}}{\text{XXXIX}}$ pg. 2221, 1916.
pg. 1848, 1917.

een meer uitvoerige bespreking hier wel op zijn plaats geacht kan worden.

Uitgaande van de fundamenteele eigenschappen van de stof onderwerpt LANGMUIR in de eerste plaats de vaste stof en in het bijzonder de kristallen aan een onderzoek. Volgens de theorie van LEWIS¹⁾ zal, bij beschouwing van het atoommodel van RUTHERFORD-BOHR, de kristalstructuur afhankelijk zijn van primaire en secundaire valentie. Beschouwen we een keukenzoutkristal dan zal van de atomen natrium en chloor volgens de moderne atoomtheorie het atoomnummer bedragen respectievelijk 11 en 17. In den binnensten ring om de atoomkern bewegen bij het natrium 2 electronen, in den tweeden ring 8 electronen en in den derden ring 1 electron. Bij het chloor daarentegen bewegen in den binnensten ring eveneens 2 electronen, in den tweeden ring 8 electronen en in den derden ring 7 electronen.

Volgens de thans geldende opvattingen hebben de electronen eene neiging om in groepen van twee of acht voor te komen.

Het resultaat van deze eigenschap wordt door LEWIS samengevat onder den naam van primaire valentie.

Bevinden zich in den ring om de atoomkern 2 of 8 electronen, dan hebben we te maken met stabiele elementen die onder den naam van edele gassen bekend zijn.

Wanneer een element een atoomnummer heeft, dat afwijkt van een der nummers van de reeks van Rydberg

$$N = 2 \times 1.$$

$$N = 2 (2^2).$$

$$N = 2 (1 + 2^2 + 2^2).$$

$$N = 2 (1 + 2^2 + 3^2) \text{ enz.}$$

dan zal een dergelijk element trachten, indien mogelijk, in den buitensten ring 8 electronen te verzamelen.

Beschouwen we het keukenzoutkristal. De NaCl moleculen bevatten ieder een natriumatoom met in den buitensten ring slechts een electron; het chlooratoom met in den buitensten ring 7 electronen. Wordt nu het natriumchloride gedissocieerd, dan zal het electron uit den buitensten ring worden afgegeven aan den buitensten ring van het chlooratoom met 7 electronen. Met andere woorden het natriumatoom wordt een positief ion; het chlooratoom een negatief ion.

Wanneer echter een natriumatoom en een chlooratoom met elkaar

¹⁾ Lewis. Journal American Chemical Society Vol. 38, 762, 1916.

in aanraking komen, dan zal het gevolg zijn, dat het electron uit den buitensten ring van het Na-atoom overgaat in den buitensten ring van het chlooratoom. Een molecuul NaCl is dus standvastig doordat er nu een buitenste ring van 8 electronen wordt gevormd met daarbinnen een positief geladen natriumion en een negatief geladen chloorion.

Het koolstofatoom heeft het atoomnummer 6. In den binnensten electronenring bevinden zich 2 electronen in den buitensten ring 4 electronen. Waterstof daarentegen met het atoomnummer 1 heeft 1 electron in den buitensten ring.

Bij de vorming van methaan zullen b.v. de 4 electronen van de waterstofmoleculen met de 4 electronen van het koolstofatoom de groep van 8 volmaken. De 8 electronen rangschikken zich in groepen van 2, waarbij zoo'n paar electronen en waterstofkern op dezelfde wijze in evenwicht houdt als dit bij de twee waterstofkernen geschiedt in het waterstofmolecuul. In het molecuul methaan kan men dus niet zeggen, dat de positief geladen waterstofionen electrostatisch in evenwicht worden gehouden door het koolstofatoom met 4 negatieve ladingen. Waterstof en koolstofkernen met de 8 electronen behooren in het methaanmolecule tot een systeem.

Beide bindingen komen tot stand door zoogen. primaire valentie. Maar de buitenste electronenring zal steeds verdwaalde krachtvelden vormen, die hun invloed kunnen doen gelden op naburige moleculen. De dusdanig gevormde electrostatische velden zijn nu in staat moleculen of molecuulgroepen bij elkaar te houden. In dit geval spreekt men van secundaire valentie.

Nu komt het slechts zelden voor, dat een stof alleen door primaire valentie is opgebouwd. Hoogstwaarschijnlijk is de diamant de eenige stof, die in zijn geheel door primaire valentie bestaat, en merkwaardig genoeg is deze stof niet in vloeibaren toestand te verkrijgen. De andere vaste stoffen echter worden evenals de vloeistoffen bijeengehouden, zoowel door primaire als secundaire valentie. Zoo wordt b.v. in kristallen het molecuul samengehouden door primaire valentie, maar de moleculen onderling door secundaire valentie. Doordat nu de vloeistoffen en vaste stoffen in eigenschappen veel minder van elkaar verschillen dan vloeistoffen en gassen onderling, neemt LANGMUIR aan, dat in de vloeistoffen de moleculen ook door secundaire valentie bijeen worden gehouden, en dat de bewegelijkheid van een vloeistof te danken is aan eene verandering in den onderlingen stand der atomen resp. moleculen.

LANGMUIR vestigt vooral de aandacht op de z.g. groepmoleculen, d.z. bepaalde groepen in het molecuul, die speciale eigenschappen bezitten.

MISS POCHELS¹⁾ en daarna LORD RAYLEIGH²⁾ hebben aangetoond, dat de oppervlaktespanning van water alleen dan door olie sterk wordt verlaagd, indien de olielaag op het water $1.3 \cdot 10^{-7}$ c.M. dik is. Wordt de laag dikker dan treedt een snelle daling der verlaging op.

LANGMUIR denkt zich nu, dat de spreiding van olie op water het gevolg is van een bepaalde aantrekking tusschen zekere groepmoleculen van de olie en groepmoleculen van het water. Worden in bepaalde gevallen alle groepmoleculen van een stof aangetrokken door de groepmoleculen van het water dan is een stof oplosbaar; worden slechts bepaalde groepmoleculen aangetrokken en andere afgestooten, dan zal zoo'n stof zich aan de oppervlakte ophoopen. In het oliezuur b.v. worden de carboxylgroepen aangetrokken door groepmoleculen van het water in tegenstelling met de koolwaterstofgroepen, die een grootere aantrekking voor elkaar bezitten dan tegenover water. Is de olielaag op het water een molecuullaag dik, dan zullen alle carboxylgroepen zich met water kunnen verbinden en de carboxydraatgroepen niet van elkaar gescheiden behoeven te worden.

Heeft dus een olie geen carboxylgroepen, dan zal ook geen spreiding op het wateroppervlak optreden; voor paraffineolie komt dit ook werkelijk uit: een spreiding heeft niet plaats.

Doordat de koolwaterstofgroepen zich in dit geval niet met de watermoleculen verbinden zullen zij in de oppervlaktelaag worden gericht en zullen er van deze groepmoleculen verdwaalde krachtvelden blijven bestaan. Uitgebreide waarnemingen, door LANGMUIR beschreven, toonen ook aan, dat er een zoodanige richting der groepmoleculen optreedt, dat de koolwaterstofgroepen vrij blijven t.o.z. van het water. De bestaan blijvende verdwaalde krachtvelden zijn te beschouwen als electro-magnetische krachtvelden, afkomstig van de electronenbewegingen in de atomen. De oppervlaktespanning of oppervlakteenergie is dan het verdwaalde electro-magnetische veld, dat uitstraalt van de oppervlakte laag.

De oppervlaktespanning is dus toe te schrijven aan het ten opzichte van het oplosmiddel minst werkzame gedeelte van het molecuul en een gevolg van de manier van rangschikking der moleculen in de oppervlaktelaag. Men moet zich daarbij voorstellen, dat b.v. bij oliezuur de COOH groep in contact is met water en de koolwaterstofgroepen hier loodrecht op staan.

Nemen we met LEWIS³⁾ aan, dat de anorganische zouten in

¹⁾ Miss Pochels. Nature, 43, pg. 437, 1891.

²⁾ Lord Rayleigh. Philosophic. Mag. 48, 331, 1899.

³⁾ Lewis. l. c.

electrolytisch gedissocieerden toestand op de grenslaag waterkoolwaterstofgroep worden geadsorbeerd, dan kan men dit uitbreiden voor de oppervlaktelaag van de cel en bovendien voor eiwitmoleculen of moleculencomplexen.

Al bestaat derhalve de mogelijkheid, dat kationen worden gebonden langs zuiver chemischen weg; daarnaast zal bovendien steeds een adsorptie van kationen plaats hebben, op de manier, zooeven beschreven.

In beide gevallen zullen we echter te doen hebben met secundaire valentie en zal het feitelijke van het proces, zij het dan een chemische binding of een adsorptie, hierin bestaan, dat het vrije ion tot den vorm van een gebonden ion¹⁾ overgaat.

§ 3. Electrochemische beschouwingen.

Plaatsen we een staaf zink in een oplossing van zinksulfaat, dan zullen van de zinkstaaf zinkionen worden losgemaakt, waardoor het zink een negatieve lading krijgt. Dit losmaken van zinkionen zal zoolang voortgaan totdat het potentiaalverschil tusschen zink en zinksulfaatoplossing zoo groot is geworden, dat een verdere toevoer van zinkionen kan worden tegengegaan. Er treedt dus een evenwicht op, dat indien de concentratie van het electrolyt gelijk wordt gehouden, zal blijven bestaan. Aan de grens tusschen het metallische zink en de zinksulfaatoplossing bestaat dan een dubbellaag van Helmholtz met negatieve ionen aan den kant van het zink en positieve ionen aan den kant van het electrolyt. NERNST²⁾ heeft getracht dit evenwicht in een formule vast te leggen. Hij voerde daarvoor, het begrip oplossingsspanning van het betreffende metaal in en omdat hier ionen worden vrijgemaakt sprak hij van „electrolytische oplossingspanning”. Is nu P deze z.g. electrolytische oplossingspanning en p de osmotische druk van de metaalionen in de vloeistof dan is:

$$E = \frac{RT}{n} \ln \frac{P}{p} \dots \dots \dots (1)$$

waarin n de waardigheid der ionen aangeeft.

Omtrent het begrip der electrolytische oplossingspanning merkt NERNST nog op, dat men zich de electrolytische oplossingspanning moet denken als een voor ieder metaal bestaande constante en wel een constante, die aangeeft de kracht waarmee de ionen van het metaal in de oplossing worden gedreven.

¹⁾ Langmuir. Journal of Industr. and Engineering Chemistry. Vol 12, No. 4. p. 386.

²⁾ Nernst. Theoretische Chemie 1913, p. 783 e.v. (1898)

SMITS¹⁾ heeft deze electrolytische oplossingsspanning nader gedefinieerd en aangenomen, dat zij gelijk is aan de verzadigingsconcentratie van de ionen in het oplosmiddel. Hij kwam daarbij tot de formule:

$$E = \frac{RT}{V\Sigma} \ln \frac{K}{c} \dots \dots \dots (2)$$

waarin $\ln K = \frac{\mu_{zn} - \mu'_{zn}}{RT}$ en waarbij dan μ_{zn} de moleculaire dynamische potentiaal is van het zink in het vaste metaal en μ'_{zn} de moleculaire dynamische potentiaal van het zink in de oplossing.

Zooals van LAAR²⁾ reeds heeft opgemerkt is de formule van SMITS identiek met de formule van NERNST, alleen met dit verschil, dat SMITS de osmotische druk ter zijde laat.

In de formule (2) is nu C de ionenconcentratie in het electrolyt en K een bepaalde constante. De grootte van deze constante kan bepaald worden voor het geval:

$$K = c.$$

dat is bij die ionenconcentratie in het electrolyt, waarbij het potentiaal verschil gelijk wordt aan nul.

Hoewel NERNST het begrip der electrolytische oplossingsspanning oorspronkelijk heeft gebruikt voor metalen, blijkt reeds voldoende uit de definitie, dat dit begrip ook tot andere vaste stoffen kan worden uitgebreid.

NERNST³⁾ zelf heeft hier het eerst opgewezen; terwijl dit later door HABER⁴⁾ en MICHAELIS⁵⁾ is uitgewerkt.

Beschouwen we een willekeurig zout, dan zal ook daar van een electrolytische oplossingsspanning sprake zijn. Bij een keukenzoutkristal zullen dan bij oplossing in water NaCl moleculen, Na ionen en Cl ionen in oplossing gaan, zoodat hier van drie oplossingsspanningen sprake is. Doordat echter electricisch neutrale NaCl moleculen en elkaar compenseerende Na- ionen en Cl- ionen in het spel zijn, zal hier van een electricisch verschijnsel alleen in zooverre sprake kunnen zijn, als de verschillende ionen een verschillende bewegelijkheid bezitten, welk verschijnsel verdwijnt zoodra het geheele molecuul is opgelost. De oplossingsspanning zal in dit geval

¹⁾ Smits. Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam Deel XIV p. 859, 1906

²⁾ v. Laar Electrochemie, 1907 p. 129 e.v.

³⁾ Nernst Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 9 p 137, 1892

⁴⁾ Haber. Annale der Physik (4), 26 p. 927. 1908.

⁵⁾ Michaelis, Zeitschr. f. Electrochemie. 14, p. 353, 1908.

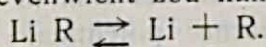
ibid., Dynamik der Oberflächen, Dresden 1909.

ook gelijk zijn aan de verzadigingsconcentratie der keuzenzoutoplossing.

Wanneer we nu te doen hebben met in de oppervlaktelaag van de cel voor komende eiwitmoleculen, waaraan kationen zijn gebonden of geadsorbeerd, dan zal ook hier van een oplossingsspanning sprake zijn. Nemen we eenvoudigheidshalve een eiwitmolecuul waarin een lithiumion aanwezig is, dan kunnen we dit voorstellen door de formule:



Dit eiwitmolecuul zal gedeeltelijk electrolytisch gedissocieerd kunnen worden, waardoor een evenwicht zou kunnen ontstaan:



In dit geval heeft men te doen met drie oplossingsspanningen t.w. de oplossingsspanning van het geheele molecuul en de electrolytische oplossingsspanningen van het lithium en radikaalion. Reeds Höber¹⁾ heeft hierop gewezen.

Van deze oplossingsspanningen zal die van het geheele molecuul zoowel als de electrolytische oplossingsspanning van het radikaalion practisch gelijk zijn aan nul. Zij kunnen tenminste verwaarloosd worden tegenover de electrolytische oplossingsspanning van het lithiumion. Doordat nu het radikaalion in de oppervlaktelaag wordt vastgehouden, zullen de uittredende Li-ionen een potentiaalverschil doen ontstaan, dat volgens Haber²⁾ en Michaelis³⁾ de wet van NERNST zal volgen.

Dientengevolge zal dus aan de oppervlaktelaag der cel een dubbel, laag van Helmholtz optreden als gevolg van een potentiaalverschil dat bepaald is door de reeds vroeger genoemde formule:

$$E = \frac{RT}{n} \ln \frac{K}{c} \dots \dots \dots (2)$$

Bij deze beschouwing is uitgegaan van de veronderstelling, dat in het, de cel omspoelende medium slechts één electrolyt aanwezig is. Eenvoudigheidshalve is deze veronderstelling aangenomen; in de nu volgende bladzijden zal dit worden uitgewerkt voor het geval er meerdere electrolyten aanwezig zijn.

Uit de formule blijkt dus, dat het potentiaalverschil afhankelijk is van de oplossingsspanning K en de concentratie van de ionen in de vloeistof. De moeilijkheid is om de waarde van deze constante K te vinden. Aangezien omtrent eiwitstoffen zeer weinig bekend is, is een berekening der oplossingsspanning direct uit de formule in het algemeen onmogelijk. Echter zal deze berekening in een bijzonder

1) Höber. Physik. Chemie der Zelle und der Gewebe. p. 242, 1914.

2) Haber. Annale der Physik (4), 26 p. 927 1908.

3) Michaelis, Zeitschr. f. Electrochemie. 14, p. 353, 1908.

ibid., Dynamik der Oberflächen, Dresden 1909.

geval kunnen plaats hebben, en wel voor het geval, dat het potentiaalverschil gelijk is aan nul. In die omstandigheden toch zal $K = c$ zooals reeds vroeger door SMITS¹⁾ is aangegeven.

Op welke wijze laat zich in dat geval de oplossingsspanning berekenen? Hierbij komt ons de kolloïdchemie te hulp.

Zooals reeds bekend is uit het werk van PICTON en LINDER²⁾ bezitten de micellen in de kolloïdale oplossing een positieve of negatieve lading. HARDY³⁾ heeft er het eerst op gewezen, dat het mogelijk is deze lading te veranderen, en dan voor het geval de lading gelijk wordt aan nul de stabiliteit der oplossing het geringst is. RONA en MICHAELIS⁴⁾ hebben dit nader uitgewerkt en gevonden, dat het verdwijnen der lading kan geschieden door verandering der H-ionenconcentratie. Bij een bepaalde ionen-concentratie bleek dan het z.g. isoelectrische punt bereikt te zijn. Bovendien is uit de onderzoekingen van RIDSDALE ELLIS⁵⁾ gebleken, dat tusschen de lading der micellen en de stabiliteit der oplossing een direct verband bestaat, en DONNAN heeft hieruit de gevolgtrekking getrokken, dat door de lading der micellen, deze elkaar afstooten.

Wordt nu de lading gelijk aan nul, dan zullen tengevolge daarvan de micellen, die de Brown'sche beweging uitvoeren, gelegenheid hebben met elkaar te versmelten en zodoende uit te vlokken.

Ook nog op nadere wijze dan door verandering der H-ionenconcentratie kan het iso-electrische punt bereikt worden.

De onderzoekingen van BURTON⁶⁾ hebben ons geleerd, dat wanneer aan een suspensiecolloïdale oplossing eene bepaalde hoeveelheid van een sterk electrolyt wordt toegevoegd er in de eerste plaats een vermindering optreedt in de kataphoretische snelheid; wordt er dan meer electrolyt toegevoegd, dan kan er onder bepaalde omstandigheden een omkeering der lading optreden.

Op grond van onderzoekingen van FREUNDLICH⁷⁾ neemt HÖBER aan, dat die electrolyten, die het sterkst worden geadsorbeerd ook in de geringste concentratie in staat zullen zijn om de lading der micellen te doen verdwijnen, als gevolg waarvan een uitvlokken tot

1) Smits l. o.

2) Lindér en Picton, Journ. Chemic. soc. 67, 63, 1795.

3) Hardy, Zeitschr. f. physik. Chemie. 33, 385, 1900.

4) Rona en Michaelis. Bioch. Zeitschr. 27; 38, (1910), ebenda 24, 79, 1910.

5) Ridsdale Ellis. Zeitschr. f. physik. Chemie, 78, 321, 1911, ebenda 18, 597, 1912.

6) Burton. Phil. Mag. (6), 12. 472, 1906.

7) Freundlich. Kolloïdzeitschr. 1, 321, (1907). Zeitschr. f. Physik. Chemie. Bd. 85, 641 (1913).

stand zou komen. Op die manier zou dan de werking der verschillende zouten in de reeks van HOFMEISTER¹⁾ verklaard moeten worden.

Men kan dus zeggen, dat het uitvlokken van een colloïdale oplossing tot stand zal komen als de lading nadert tot nul, en dat dit bereikt kan worden zoowel door verandering der H⁺ ionenconcentratie als door toevoeging van andere electrolyten. PAINE²⁾ denkt zich daarbij het uitvlokken zoodanig, dat de ionen zich niet overal gelijkmatig in de vloeistof verdeelen, waardoor er potentiaalverschillen ontstaan die de deeltjes tot elkaar brengen. De colloïdale deeltjes zullen zich meer en meer aan elkaar vasthechten, totdat de vlokken het isoelectrische punt hebben bereikt. Deze gegevens stemmen overeen met de gegevens van HOFMEISTER¹⁾, die vond, dat het uitvlokken bij een zekere concentratie begint, maar bij een andere hoogere concentratie zijn maximum bereikt. Dit maximum is dan te beschouwen als het bereiken van het isoelectrische punt. Voor de biologisch belangrijke hydrophyle colloïden kan in verband hiermede nog worden medegedeeld dat in tegenstelling met uitvlokking der suspensioïde colloïden de uitvlokkingen der emulsioïden reversibel is.

Keeren we nu terug tot de formule van NERNST, wanneer de lading gelijk is aan nul m. a. w. indien het isoelectrische punt is bereikt, dan zal: $K = c$.

Weten we de uitvlokkingsconcentratie van een electrolyt, dan volgt daar dus uit, dat de waarde gelijk is aan de waarde der gezochte electrolytische oplossingsspanning. Nu op deze manier de constante in de formule voor elk electrolyt is te bepalen, is het ook mogelijk om deze beschouwingen tot de celoppervlakte uit te breiden.

In de gegevens van LOEB omtrent *Fundulus* eieren blijkt, dat deze eieren zich kunnen ontwikkelen, indien KCl en CaCl₂ in bepaalde onderlinge verhouding aanwezig zijn. Noemen we de K-ionen concentratie van het KCl c_1 en die der Ca-ionenconcentratie van het CaCl₂ c_2 en de respectieve electrolytische oplossingsspanningen C_1 en C_2 . De aan de eiwitstoffen in de grenslaag gebonden ionen zullen een potentiaalverschil vertoonen tegenover de ionen in het electrolyt, waardoor dus voor K-ionen geldt:

$$E_1 = \frac{RT}{n_1} \ln \frac{C_1}{c_1} \dots \dots \dots (3)$$

en voor de Ca-ionen:

$$E_2 = \frac{RT}{n_2} \ln \frac{C_2}{c_2} \dots \dots \dots (4)$$

1) Hofmeister. Schmiedeberg's Archiv. Bd 24, p. 1 en 247.

2) Paine. Proc. Cambridge Phil. Soc. 16, 430, (1912).

Koll. chem. Beih. 4, 24, (1912).

Waar in deze formules alleen c_1 en c_2 variabel zijn blijkt, dat het potentiaalverschil in beide gevallen afhankelijk is van de verhouding der ionenconcentraties. Zijn deze beide willekeurig gekozen dan zal in het algemeen E_1 niet gelijk zijn aan E_2 . M.a.w. er zullen aan de oppervlakte der cel veranderingen in het potentiaalverschil optreden want in het algemeen correspondeeren de waarden van E_1 en E_2 niet met de waarden van c_1 en c_2 . Een verder gevolg is een verplaatsing van K-ionen of Ca-ionen.

Tengevolge dezer potentiaalverschillen en ter vereffening ervan moeten aan de oppervlakte der cellen elektrische stroompjes optreden, die niet ophouden voordat de omspoelende vloeistof haar evenwicht ook aan de oppervlaktelaag heeft opgedragen. Is dit tijdelijk bereikt, dan kan de samenstelling der oppervlaktelaag onmogelijk dezelfde zijn dan die in de diepte van het protoplasma. Onder welke omstandigheden die samenstelling juist dezelfde is, is lastig te zeggen aangezien omtrent de samenstelling der diepere lagen van het protoplasma vrijwel niets bekend is.

Het ontbreken van oppervlaktestroomen (niet echter de gelijkheid in samenstelling van oppervlaktelaag en diepte) kan ook nog op een andere wijze bereikt worden, n.l. door de samenstelling van het electrolytmengsel te wijzigen zoodanig dat zij met die van de oppervlaktelaag correspondeert.

Een cel omringd door vloeistof met electrolyten in evenwicht heeft een oppervlaktelaag zonder oppervlakte stroompjes.

Dit evenwicht zal alleen bestaan indien voldaan wordt aan de voorwaarde:

$$E_1 = E_2 \quad \dots \quad (5)$$

Uit de formules (3) en (4) volgt dan:

$$\frac{RT}{n_1} \ln \frac{C_1}{c_1} = \frac{RT}{n_2} \ln \frac{C_2}{c_2}$$

Nu is n_1 voor kalium = 1 en n_2 voor calcium = 2 dus:

$$\frac{RT}{1} \ln \frac{C_1}{c_1} = \frac{RT}{2} \ln \frac{C_2}{c_2}$$

hetgeen na herleiding wordt:

$$\frac{C_1^2}{c_1^2} = \frac{C_2}{c_2} \quad \dots \quad (6)$$

Ten einde dus aan de oppervlakte der cel een physiologisch evenwicht te verzekeren moeten de ionenconcentraties in een onderling constante verhouding aanwezig zijn. Voor het geval, dat alleen K ionen en Ca ionen aanwezig zijn, is deze constante afhankelijk van de electrolytische oplossingsspanning op de manier in formule (6) aangegeven. Hiermede is echter gelijktijdig de ionenbalanceering

bepaald en blijkt tevens, dat deze onafhankelijk is van de temperatuur¹⁾.

Bevinden zich in de omspoelende vloeistoffen drie electrolyten t.w. NaCl; KCl en CaCl₂ dan krijgen we drie vergelijkingen t.w.

1^o voor het kaliumchloride:

$$E_1 = \frac{RT}{n_1} \ln \frac{C_1}{c_1} \dots \dots \dots (3)$$

2^o voor het calciumchloride:

$$E_2 = \frac{RT}{n_2} \ln \frac{C_2}{c_2} \dots \dots \dots (4)$$

3^o voor het natriumchloride:

$$E_3 = \frac{RT}{n_3} \ln \frac{C_3}{c_3} \dots \dots \dots (9)$$

In deze formules moet nu, wil er een evenwicht optreden volstaan worden aan den eisch dat:

$$E_1 = E_2 = E_3.$$

voor het geval dat $E_1 = E_2$ blijkt dat:

$$\frac{C_1^2}{c_1^2} = \frac{C_2}{c_2} \dots \dots \dots (8)$$

Tevens volgt uit de formules (3) en (9) dat

$$\frac{RT}{n_1} \ln \frac{C_1}{c_1} = \frac{RT}{n_3} \ln \frac{C_3}{c_3}$$

Nu is n_1 voor kalium gelijk aan 1 en eveneens n_3 voor natrium gelijk aan 1 dus:

$$\frac{RT}{1} \ln \frac{C_1}{c_1} = \frac{RT}{1} \ln \frac{C_3}{c_3}$$

dus:

$$\frac{C_1}{c_1} = \frac{C_3}{c_3}$$

Substitueeren we de gevonden waarde voor $\frac{C_1}{c_1}$ in formule 8 dan is:

$$\frac{C_1 \times C_3}{c_1 \times c_3} = \frac{C_2}{c_2} \text{ of } \frac{c_1}{c_2} = \frac{C_1 \times C_3}{c_3 \times C_2} \dots \dots (10)$$

Op gelijke wijze kan ook de verhouding der ionenconcentraties $\frac{K}{Na}$ en $\frac{Ca}{Na}$ worden berekend.

Voor de verhouding $\frac{c_1}{c_3}$ vinden we:

¹⁾ Het onafhankelijk zijn der balanceering van de temperatuur is, in niet gepubliceerde proeven, gedaan in het physiologisch Laboratorium te Utrecht, ook vastgesteld.

$$\frac{c_1}{c_3} = \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2} \dots \dots \dots (11)$$

en voor:

$$\frac{c_2}{c_3} = \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3} \dots \dots \dots (12)$$

De verhouding der ionenconcentratie van het calcium kalium en natrium in de physiologische vloeistoffen moet dus voldoen aan den eisch:

$$\begin{aligned} 1^\circ \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} &= \frac{C_1 \times C_3}{c_3 \times C_2} \\ 2^\circ \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} &= \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2} \\ 3^\circ \frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} &= \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3} \end{aligned}$$

Waarin C_1 , C_2 en C_3 zijn de electrolytische oplossingsspanningen der K-, Ca- en Na-proteinen en c_1 , c_2 en c_3 de resp. ionenconcentraties.

Wanneer de vloeistof om de cellen in haar Na-, K-, Ca-gehalte ongebalanceerd is, zullen — zooals uit het bovenstaande blijkt — in de oppervlaktelaag der cel metaalpunten van verschillende potentiaal voorhanden moeten zijn. Het gevolg zijn elektrische stroompjes, die er in normale verhoudingen niet zijn.

Duurt de stoornis in de balanceering lang dan zal de concentratie der Na-, K-, Ca-atomen in de oppervlaktelaag geheel verschillen met die in het inwendige. Wanneer de mogelijkheid hiertoe bestaat zal bij vermindering van het aantal atomen van een bepaalde soort aanvulling vanuit het inwendige plaats hebben, omgekeerd bij vermeerdering verdringen naar het inwendige. In de hartspiercellen, die een groot K-magazijn inwendig herbergen, schijnt zulks voor het K mogelijk; voor het Na en Ca niet. In andere cellen zal dit wellicht anders zijn.

In welke mate nu het onttrekken van K uit het inwendige of het overmatig daarin ophoopen van K in het inwendige der hartcellen nadeelige gevolgen voor de functie van het orgaan heeft, waag ik niet te beoordeelen. Wel echter is het zeker, dat wegname van K uit de oppervlaktelaag of een geweldige ophooping daarvan beslist nadeelige gevolgen heeft. Dit hangt samen met een te weinig of te veel aan radio-actieven invloed van uit de oppervlaktelaag op de prikkelbare substantie uitgeoefend.

Ook het ontbreken van Ca uit de oppervlaktelaag of het daarin ophoopen van Ca-atomen is in hooge mate nadeelig. Een hypothese omtrent den aard dezer specifieke werking van calcium op de spier-

cel is nog nimmer opgesteld. Wel is van verschillende zijden vermoed, dat deze specifieke werking meer de samentrekbaarheid dan de automatie betreft, getuige het door MINES opgemerkte lang nablijven van het electrocardiogram aan het *m a s s a l* stilstaand hart van koudbloedigen. Strontium kan het calcium in zijn specifieke werking vervangen.

Eindelijk heeft het onttrekken van Na uit de oppervlaktelaag een zeer specifiek nadeelig gevolg. Het kan slechts ten deele, ongeveer de helft, door lithium worden vervangen. De oorzaak, waarom het eigenlijke natrium niet geheel gemist kan worden is evenmin bekend.

Dit alles betreft de specifieke werking der Na-, K-, Ca-ionen in de oppervlaktelaag. De balanceering, waarvoor ik hier een theorie ontwerp, vat echter uitsluitend een algemeene ionen-werking in het oog. Deze algemeene ionenwerking is normaal te achten, wanneer zij een onderling electrisch evenwicht tusschen de metaalpunten in de oppervlaktelaag der cellen verzekert; zij is gestoord, wanneer deze metaalpunten onderling in potentiaal verschillen en daardoor stroomen aan de oppervlakte der cel in het leven worden geroepen, een onrust, die naar het schijnt met een normaal functioneeren der hartcel onvereinigbaar is.

In een volgende paragraaf hoop ik aan te toonen, dat juist in een groot aantal gevallen, welke hoewel afwijkend van de norma, niettemin de physiologische functie niet verbreken, het kenmerk van electrisch evenwicht in het oppervlak verzekerd is.

HOOFDSTUK IV.

Toepassingen van de theorie.

§ 1. Het zeewater en de vloeistof van Sidney Ringer.

Hoewel schijnbaar irrationeel zullen wij onze berekeningen aanvangen met die vloeistoffen, waarin drie zouten zijn opgelost. Terwijl op het eerste gezicht het gebruik der formule voor drie electrolyten moeilijker schijnt dan de eenvoudige formule voor twee electrolyten, blijkt, dat er in de gevallen, waarin slechts twee zouten in de vloeistof zijn opgelost, complicaties optreden, die een goede balancering der twee zouten in den weg staan.

Uit de proeven van J. LOEB¹⁾ is gebleken, dat de eieren van *Fundulus heteroclitus* zich evengoed kunnen ontwikkelen in zuiver gedestilleerd water als in zeewater. In de plaats van zeewater is het ook mogelijk daarvoor een vloeistof te kiezen, waarin alleen het natriumchloride, kaliumchloride en calciumchloride in dezelfde verhouding als in het zeewater aanwezig zijn.

Volgens de onderzoekingen der Challenger Expeditie²⁾ bevinden zich in het zeewater op 100 moleculen NaCl ongeveer 2.2 moleculen KCl en 1 à 2 moleculen CaCl₂, terwijl de osmotische druk overeenkomt met die van een 0.54 mol. keukenzoutoplossing.

Indien er dus een evenwicht tusschen de verschillende kationen van een electrolytmengsel, waarin NaCl, KCl en CaCl₂ zijn opgelost, ten opzichte van de eiwitstoffen en lipoiden van het eioppervlak bestaat, dan moet de onderlinge verhouding van NaCl, KCl en CaCl₂ wat betreft hunne ionenconcentratie voldoen aan den eisch,

¹⁾ J. Loeb. Hdb. der Biochemie van Oppenheimer. Bd. II¹ p. 104, 1909.

²⁾ Report on the Scientific results of the Voyage of H. M. S. Challenger during the years 1872—1876, II. Physics and Chemistry I, p. 138.

dat het potentiaalverschil tusschen eioppervlak en electrolyt voor alle drie de kationen gelijk is. Aan dezen eisch is voldaan, indien de ionenconcentraties functies zijn der oplossingsspanningen volgens de boven aangegeven formules.

Deze oplossingsspanningen van de verschillende kationen zijn constanten, die aan de hand van de gegevens van HOFMEISTER¹⁾ ten naaste bij benaderd kunnen worden. Uit deze laatste leert men dat NaCl, KCl en CaCl₂ in bepaalde concentraties een uitvlokking van hydrophile colloïden veroorzaken.

Wat betreft het chloornatrium blijkt, dat bij een concentratie van ongeveer 0.213 gram NaCl in 1 c.c.M. uitvlokking plaats heeft. Berekenen we dit in grammoleculen dan blijkt, dat deze oplossing 3.6 molecuair is.

Bij een dusdanige concentratie is echter een gedeelte in ionen gesplitst, welk gedeelte is te bepalen uit het aequivalent-geleidingsvermogen. Voor een 3.6 molecuair NaCl oplossing is het $\frac{42.7}{109}$, zoodat van deze oplossing ook slechts dit gedeelte als werkzaam is te beschouwen. Rekenen we dit uit, dan blijkt, dat we hier te doen hebben met een keukenzoutoplossing, waarin 1.3 molecuair Na-ionen aanwezig zijn. Als maat der oplossingspanning der Na-ionen van de eiwitstoffen mogen we dus aannemen 1.3.

Voor het chloorkalium geeft HOFMEISTER aan, dat een gehalte der vloeistof van 0.253 gr. KCl in 1 c.c.M. reeds een uitvlokking geeft. Waar we hier te doen hebben met een oplossing, die 3.4 molecuair is, is het aantal in de vloeistof aanwezige kaliumionen in dit geval 2.3 molecuair. Als maat der oplossingspanning geldt dus hier 2.3.

Voor het chloorcalcium kunnen die gegevens op analoge wijze worden verkregen. Berekenen we ook hier naar de opgaven van HOFMEISTER de concentratie van het CaCl₂ waarbij eene uitvlokking wordt verkregen, dan blijkt, dat in dit geval de oplossingspanning de waarde 3.2 zal moeten bezitten.

Als constanten krijgen we dus hier de volgende drie waarden:

- 1^o voor kalium $C_1 = 2.3$
- 2^o voor calcium $C_2 = 3.2$
- 3^o voor natrium $C_3 = 1.3$

Hebben we dus eene oplossing, waarin het kaliumchloride, calciumchloride en het natriumchloride in dezelfde verhouding voorkomen als in het zeewater dan is volgens de formule (12).

¹⁾ Hofmeister. Schmiedeberg's Archiv. Bd. 24, p. 1. 1888.

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3}$$

Vullen we in deze formule de constanten in, dan vinden we:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{3.2 \times c_1}{1.3 \times 2.3}$$

In deze formule is nu c_1 de concentratie der K-ionen in het electrolytmengsel. Voor zeewater is deze $c_1 = 0.01$ moleculair, dan is:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{3.2 \times 0.01}{1.3 \times 2.3} = \frac{1.1}{100} \left(\frac{0.9}{100} \right) \text{ empirisch.}$$

Voor de balanceering tusschen het kalium en het natrium geldt de formule (11):

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2}$$

Vullen we hierin de concentratie in, dan is:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{2.3 \times 1.3 \times c_2}{1.6 \times c_3^2}$$

Nu is c_2 (calcium) = 0.0045 m.

c_3 (natrium) = 0.5 m.

$$\text{dus: } \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{2.9 \times 0.009}{3.2 \times (0.5)^2} = \frac{14}{1000}$$

$$\text{of uitgewerkt } \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{1.4}{100} \left(\frac{2}{100} \right) \text{ empirisch.}$$

Ten slotte blijft nog de berekening der ionenconcentratieverhouding tusschen kalium en calcium over.

Hiervoor geldt de formule (10):

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} = \frac{C_1 \times C_3}{c_3 \times C_2}$$

Stellen we hier voor de constanten hunne waarden in de plaats dan is:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} = \frac{2.3 \times 1.3}{c_3 \times 3.2}$$

waarbij c_3 (concentratie Na-ionen) = 0.5

$$\text{dus: } \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} = \frac{2.9}{0.5 \times 3.2} \text{ dus } = \frac{2.9}{1.6} \left(\frac{2}{1} \right) \text{ empirisch.}$$

In bovenstaande drie berekeningen is voor het kaliumchloride; calciumchloride en natriumchloride nagegaan of indien zij in een concentratie aanwezig zijn als dat in het zeewater het geval is, voldoen aan de eischen, die door ons boven aan een biologisch evenwicht zijn gesteld. De op deze wijze verkregen uitkomsten

kunnen direct vergeleken worden met de werkelijk bestaande verhoudingen in het zeewater, doordat deze opgaven tusschen haakjes er achter zijn gevoegd. Deze opgaven zijn berekend naar de ionenconcentraties der vloeistoffen. Ten overvloede zijn hieronder de berekende en empirisch gevonden waarden in een tabel vereenigd.

TABEL 8.

verhouding der ionenconcentraties van:	berekend	empirisch gevonden
$\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$	100 1.1	$\frac{100}{1.17}$
$\frac{\text{Na}}{\text{K}}$	$\frac{100}{1.4}$	$\frac{100}{2}$
$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$	$\frac{2.9}{1.6}$	$\frac{2.9}{1.45}$

Zooals hieruit blijkt zijn er weliswaar kleine verschillen waar te nemen, maar ten naaste bij stemmen de uitkomsten overeen. Dat er verschillen bestaan behoeft ons in het geheel niet te verwonderen, daar als uitgangspunt voor de berekeningen gebruik is gemaakt van de gegevens door HOFMEISTER verzameld en waarbij van eiwitstoffen gebruik is gemaakt. Indien de uitvlokking niet als indicator ter bepaling van het isoelectrische punt wordt gebruikt, maar deze bepalingen langs electrischen weg geschieden, dan zal daardoor zeker de nauwkeurigheid worden verhoogd. Ten einde echter de nauwkeurigheid in deze richting te verhoogen moeten verschillende moeilijkheden overwonnen worden, een reden waarom bij deze berekeningen voorloopig van bestaande gegevens gebruik gemaakt is.

De hierboven uitgevoerde berekeningen voor het zeewater kunnen zonder verdere wijzigingen worden uitgebreid tot de vloeistof van RINGER. Het is toch een algemeen bekend feit, dat, hoewel de totale concentratie der RINGERSche vloeistof geringer is dan die van het zeewater, de verhouding der bestanddeelen in beide vloeistoffen gelijk is ¹⁾.

Duidelijkheidshalve is het toch gewenscht om ook de berekening voor de vloeistof van RINGER uit te voeren. Noemen we ook hier C_1 ; C_2 en C_3 de oplossingsspanningen resp. van de K-, de Ca- en de Na- ionen in de proteïneverbindingen, en c_1 , c_2 en c_3 de con-

¹⁾ Bayliss. General Physiology, p. 209. 1915.

centraties van de K-, Ca- en Na-ionen in het electrolyt, dan gelden ook hier de formules, die op p. 62 e.v. zijn afgeleid.

$$\begin{aligned} 1_o \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} &= \frac{C_1 \times C_3}{c_3 \times C_2} \\ 2_o \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} &= \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2} \\ 3_o \frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} &= \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3} \end{aligned}$$

Ten einde uit deze formules de verhoudingen tusschen de verschillende ionen te kunnen berekenen is het noodig om eerst de samenstelling der RINGER'sche vloeistof na te gaan. Daarvoor is het als het meest geschikt te beschouwen de experimenteele gegevens, die in Hoofdstuk 2 zijn verzameld, als uitgangspunt te nemen. Indien de concentratie van het natriumchloride 0.12 mol. is, blijkt, dat bij een concentratie van het calciumchloride van 0.001 mol. de meest geschikte hoeveelheid kaliumchloride 0.004 mol is. Deze bepaling berust op de uitkomsten, die het onderzoek van de minimum- en maximumhoeveelheden KCl bij bepaalde hoeveelheden CaCl₂ in de RINGER'sche vloeistof heeft opgeleverd. Als meest geschikte dosis KCl werd daarbij dan genomen de waarde, die midden tusschen de maximum- en minimumhoeveelheid in gelegen was. Indien we nu deze waarden substitueeren in de formules dan levert dit de volgende resultaten op. Ten overvloede zij hier nog opgemerkt dat de constanten reeds aan het begin van dit hoofdstuk zijn bepaalde en hieronder nogmaals zijn opgegeven.

$$C_1 = 2.3$$

$$C_2 = 3.2$$

$$C_3 = 1.3$$

Ter bepaling van de verhouding: $\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}}$

vinden we:

$$\begin{aligned} \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} &= \frac{C_1 \times C_3}{c_3 \times C_2} \\ &= \frac{2.3 \times 1.3}{c_3 \times 3.2} \\ &= \frac{2.9}{3.2 \times c_3} \\ &= \frac{2.9}{3.2 \times 0.12} \\ \frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Ca}} &= 7 \left(\frac{0.004}{0.001} = 4 \right) \text{ empirisch.} \end{aligned}$$

Voor de verhouding

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2}$$

levert substitutie der waarden het volgende resultaat op:

$$\begin{aligned} &= \frac{2.3 \times 1.3 \times 0.001}{3.2 \times (0.12)^2} \\ &= \frac{2.9 \times 0.001}{3.2 \times 0.014} \\ &= \frac{2.9 \times 0.1}{3.2 \times 1.4} \end{aligned}$$

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = 0.012 \left(\frac{0.014}{0.12} = \frac{0.4}{12} = 0.03 \right) \text{ empirisch.}$$

In de derde plaats moet dan nog worden nagegaan de verhouding

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3}$$

Vullen we hier ook de getalwaarden in dan is:

$$\begin{aligned} \frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} &= \frac{3.2 \times 0.004}{2.9} \\ &= \frac{1.1 \times 4}{2.9} \end{aligned}$$

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{4.4}{1000} \left(\frac{0.001}{0.12} = \frac{8}{1000} \right) \text{ empirisch.}$$

Ook hier zijn de experimenteele gegevens tusschen haakjes achter de berekende waarden vermeld. Om het geheel overzichtelijk te maken zijn de waarden hieronder in een tabel vereenigd.

Tabel 9

verhouding der ionenconcentraties	berekend	empirisch gevonden
$\frac{K}{Ca}$	7	4
$\frac{K}{Na}$	0.012	0.03
$\frac{Ca}{Na}$	0.044	0.08

Indien deze berekening op dezelfde wijze voor de Ringer'sche vloeistof voor warmbloedigen wordt uitgevoerd, dan blijkt, dat de waarden voor deze vloeistof nauwkeuriger uitkomen, dan het voor de vloeistoffen voor koudbloedigen het geval was. Hiervoor wordt als volgt de verhouding der ionenconcentraties berekend.

Als geschikte RINGER'sche vloeistof voor warmbloedigen geeft LOCKE ¹⁾ een vloeistof op, die naast 0.90% NaCl meer kalium bevat dan calcium. Ook andere schrijvers achten een zoodanige vloeistof beter dan een vloeistof, waarin het kalium en calciumgehalte ongeveer gelijk is. Als geschikte vloeistof is dan te beschouwen een vloeistof, waarin de concentratie van het natrium, uitgedrukt in grammoleculen, is 0.15 mol. en daarnaast de concentratie van het kalium en calcium resp. 0.006 mol. en 0.001 mol.

Voor de verhouding der concentratie $\frac{\text{Ca}}{\text{K}}$ vinden we:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie K}} = \frac{c_3 \times C_2}{C_1 \times C_3}$$

Indien we in deze formule de waarden der constanten invullen, ter bepaling waarvan ook hier de gegevens van HOFMEISTER zijn gebruikt, dan krijgt de formule den volgende vorm:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie K}} = \frac{c_3 \times 3.2}{2.3 \times 1.3}$$

terwijl in deze formule $c_3 = 0.15$ mol.

We vinden dan:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie K}} = \frac{0.15 \times 3.2}{2.3 \times 1.3} = 0.165$$

Empirisch is gevonden:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie K}} = \frac{0.001}{0.006} = 0.166$$

Voor de formule, die de verhouding tusschen de ionenconcentraties van het kalium en natrium aangeeft wordt de verhouding als volgt:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_1 \times C_3 \times c_2}{C_2 \times c_3^2}$$

Substitutie der waarden in dit geval geeft:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{2.3 \times 1.3 \times 0.001}{3.2 \times (0.15)^2}$$

hetgeen na herleiding wordt:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = 0.04$$

Empirisch is voor deze verhouding gevonden:

$$\frac{\text{ionenconcentratie K}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{0.006}{0.15} = \frac{6}{150} = 0.04$$

Berekenen we ten slotte de verhouding tusschen de ionenconcentratie van het calcium en die van het natrium:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{C_2 \times c_1}{C_1 \times C_3}$$

¹⁾ Locke. Zentralbl. f. Physiol. Bd. XIV, p. 670, 1900.

$$\text{of} \quad \frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{3.2 \times 0.006}{2.3 \times 1.3} = 0.0064$$

Terwijl empirisch gevonden is:

$$\frac{\text{ionenconcentratie Ca}}{\text{ionenconcentratie Na}} = \frac{0.001}{0.15} = \frac{1}{150} = 0.0066$$

TABEL 10

verhouding der ionenconcentraties.	berekend	empirisch gevonden
$\frac{\text{Ca}}{\text{K}}$	0.165	0.166
$\frac{\text{K}}{\text{Na}}$	0.04	0.04
$\frac{\text{Ca}}{\text{Na}}$	0.0064	0.0066

Vergelijken we de tabellen 9 en 10 met elkaar, dan blijkt, dat voor de warmbloedige RINGER'sche vloeistof een betere overeenstemming tusschen de berekende en empirisch gevonden waarden bestaat, dan bij de vloeistof voor koudbloedigen het geval is. Terwijl voor de warmbloedige RINGER'sche vloeistof eenerzijds hoogstens verschillen bestaan van 0.001, zijn deze voor de koudbloedige vloeistof veel grooter en bereiken eene waarde van 0.2. De oorzaak moet m.i. gezocht worden in het feit, dat de door mij gebruikte gegevens ter berekening van de constanten in de formule door HOFMEISTER zijn verkregen door gebruik te maken van eiwitoplossingen van warmbloedige dieren. Zodoende is het verklaarbaar, waarom voor de warmbloedige RINGER'sche vloeistof betere uitkomsten verkregen werden dan met de koudbloedige vloeistof het geval was. Voor eene nauwkeurige berekening van de RINGER'sche vloeistof in het laatste geval zou het dan noodzakelijk zijn om de bepalingen, door HOFMEISTER verricht, met eiwitstoffen van koudbloedige dieren te herhalen. Maar ook al heeft men dit gedaan, dan nog blijft de moeilijkheid over, om het verschillende gedrag tusschen zomer- en winterkikvorschen te verklaren. Door het sterk uitgesproken verschil in gedrag tegenover electrolyten dat hier bestaat komt men er toe om aan een overeenkomst te denken met de agglutininen van BORDET. HÖBER denkt zich het verschijnsel zoo, dat er door het vasthechten der agglutininen aan de oppervlakte der cel toestandveranderingen optreden aan de oppervlakte, waardoor de hydrophyle colloïden zouden veranderen in suspensiecolloïden.

Men zou zich op analoge wijze kunnen denken, dat in gevallen van evenwicht de spiercellen in haar oppervlaktelagen 's zomers minder kalium zullen bevatten dan met het oog op de radioactiviteit voor de cel noodig is. In dat geval zou dan een sensibilisator (ZWAAR-DEMAKER) te hulp moeten komen om de activiteit van het mindere kalium te versterken. De mogelijkheid is daarbij niet uitgesloten, dat de agglutinine-achtigen en de sensibiliseerende eigenschappen in een stof vereenigd zijn.

§ 2. Proeven van Loeb.

Ingewikkelder, maar tevens van groot belang, zijn de berekeningen, die uitgevoerd kunnen worden aan de hand van de gegevens van LOEB. Nemen we als uitgangspunt de reeds boven beschreven eieren van *FUNDULUS heteroclitus* dan blijkt, dat de ontwikkeling, die plaats heeft in zuiver gedestilleerd water te niet gedaan kan worden door toevoeging aan het gedestilleerde water van een zekere hoeveelheid KCl. Toevoeging van kaliumchloride in een zoodanige hoeveelheid, dat dit in een concentratie van 0.01 moleculair aanwezig was, bleek voor de zich ontwikkelende eieren een zeer sterk gift te zijn. Werd aan deze oplossing, dan bovendien een zekere hoeveelheid CaCl_2 toegevoegd, dan bleek dat de giftige werking van het KCl sterk verminderde¹⁾. Daarbij kwam aan het licht, dat de ontgiftende werking het sterkste was indien de onderlinge verhouding van het KCl en CaCl_2 in de oplossing een bepaalde waarde had.

Deze verhouding heeft hier blijkbaar dezelfde beteekenis als de onderlinge verhouding der bestanddeelen in zeewater of vloeistof van RINGER. LOEB²⁾ heeft hiervoor het begrip „ontgiftigingscoefficient” ingevoerd. Hij verstaat hieronder de verhouding van de concentraties van het giftige tot het ontgiftende zout, die voor de ontgiftiging juist voldoende is. Het is LOEB gelukt om voor verschillende electrolytcombinaties deze ontgiftigingscoefficient te bepalen, waarbij door hem steeds de ontwikkeling der Funduluseieren als maatstaf werd gebruikt. Door de ongevoeligheid dezer eieren voor verschillen in den osmotischen druk was het hem mogelijk om in de electrolytoplossing slechts twee electrolyten te gebruiken en dan van deze twee zouten de ontgiftigingscoefficient vast te stellen. Op deze wijze

bepaalde hij o.a. de ontgiftigingscoefficient $\frac{\text{KCl}}{\text{CaCl}_2}$

¹⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 32 p. 308. 1911.

²⁾ J. Loeb. Biochem. Zeitschr. Bd. 31, p. 451. 1911.

Het is echter LOEB direct opgevallen, dat er in deze proefreeksen, waarin de verhouding $\frac{\text{KCl}}{\text{CaCl}_2}$ werd bepaald en waarin dus opzettelijk in het electrolyt het NaCl was weggelaten, onregelmatigheden optraden, die voor een gedeelte afhankelijk waren van de totaalconcentratie en voor een gedeelte daar geen verband mee hielden. Deze onregelmatigheden openbaarden zich in een sterke variatie in de grootte van den ontgiftigingscoëfficiënt, welke wisselingen varieerden tusschen 17 en 220. LOEB verklaarde deze afwijkingen door aan te nemen, dat de gevoeligheid der eieren voor KCl aan veranderingen onderhevig was. Gelijktijdig echter maakte LOEB van een vondst gewag, die voor deze afwijkingen van het grootste belang is. Voegde hij aan het electrolytmengsel bovendien 0.01 moleculair NaCl toe, dan bleek, dat de ontgiftigingscoëfficiënt constanter werd, ter verklaring van dit verschijnsel wordt niets gezegd, alleen merkt LOEB op, dat hij het keuzenzout toevoegde „um die Bestimmung der Grenzkonzentration für die Entgiftung schärfer zu machen”.

In het licht der hier ontwikkelde theorie wordt dit verschijnsel echter volkomen duidelijk. Plaatsen we in gedachte een Fundulusei in gedestilleerd water, dan zijn in de oppervlaktelagen der cellen eiwitstoffen aanwezig, waarin natrium, kalium en calcium hetzij gebonden heztij geadsorbeerd zijn. Voegen we nu aan het gedestilleerde water kaliumchloride en calciumchloride toe, dan zal een wisselwerking optreden tusschen het kalium, natrium en calcium, dat gebonden of geadsorbeerd is aan de eiwitstoffen en de ionen in het electrolytmengsel. Doordat nu in dit mengsel in den beginne geen natriumionen aanwezig zijn, zullen er door de wisselwerking eenige natriumionen uit de eiwitstoffen vrij komen, waardoor de concentratie van het mengsel aan Na-ionen oneindig klein wordt. In dit geval zullen er echter volgens NERNST¹⁾ tusschen electroden en electrolytmengsel abnormale spanningen optreden, die zooals uit onze theorie blijkt een juiste balanceering in den weg staan. Des te sterker de concentratie van het NaCl wordt, des te meer zullen deze abnormale spanningen verdwijnen en des te meer zal een balanceering kunnen optreden. Toevoeging van 0,01 mol. NaCl verminderde de wisselvalligheid der ontgiftigingscoëfficiënt reeds van 17 tot 55 en het is begrijpelijk, dat een juiste balanceering eerst aanwezig is, indien de concentratieverhouding nadert tot die van het zeewater, dus waarin het NaCl in nog grootere hoeveelheid aanwezig is. In het schijnbare eenvoudige geval, dat voor de ontwikkeling van Funduluseieren dus

¹⁾ Nernst. Theoret. Chemie. p. 787, 1913.

twee zouten aanwezig zijn, wordt de verhouding tusschen eiwitstof en electrolyt ten opzichte van de ionen zoo ingewikkeld, dat zij voor berekening moeilijk toegankelijk wordt, eene moeilijkheid, die zich in het experiment uit door groote wisselvalligheid der uitkomsten.

§ 3. De gewijzigde vloeistoffen van Ringer.

In de RINGER'sche vloeistof is het mogelijk om het kaliumchloride door andere zouten met een radioactief bestanddeel te vervangen, zooals in Hoofdstuk 2 uitvoeriger is besproken¹⁾. Zoo is b.v. voor de normale automatie van het geïsoleerde kikkerhart het KCl in de RINGER'sche vloeistof te vervangen door 25 mgr. $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$, welke waarde geldt voor een kikvorschenhart, dat in wintertoestand verkeert. Zooals uit het vorige hoofdstuk bekend mag worden verondersteld, is tusschen het $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ en het CaCl_2 in deze gewijzigde vloeistof van RINGER een balanceering vast te stellen²⁾. Aangezien we hier te doen hebben met het tweewaardige uranylion in tegenstelling met het in de gewone RINGER'sche vloeistof aanwezige eenwaardige K^+ ion, is het noodzakelijk onze formule daarvoor eenigszins te wijzigen.

Nemen we nu aan, dat de drie electrolyten een electrisch evenwicht vormen 1^o voor calcium:

$$E_2 = \frac{RT}{n_2} \ln \frac{C_2}{c_2} \dots \dots \dots (4)$$

2^o voor natrium:

$$E_3 = \frac{RT}{n_3} \ln \frac{C_3}{c_3} \dots \dots \dots (9)$$

3^o voor uranyl nitraat:

$$E_4 = \frac{RT}{n_4} \ln \frac{C_4}{c_4} \dots \dots \dots (13)$$

dan zal, ten einde een evenwicht tusschen eiwitstoffen en electrolyten onderling te verkrijgen voldaan moeten worden aan den eisch

$$E_2 = E_3 = E_4$$

Werken we dit nu uit dan krijgen we, daarbij rekening houdende met het feit, dat het uranylion tweewaardig is:

$$\frac{\text{ionenconcentratie calcium}}{\text{ionenconcentratie uranyl}} = \frac{C_3^2 \times c_3^2}{C_4 \times C_2 \times c_2} \dots \dots (15)$$

waarin weer C_2 , C_3 en C_4 de oplossingsspanningen zijn van het calciumchloride, het natriumchloride en het uranyl nitraat. c_2 is de concentratie der calciumionen en c die der natriumionen in het electro-

¹⁾ Zie hiervoor p. 23 e.v.

²⁾ T. P. Feenstra. Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. Dl. 24, pg. 1822, 1916. Dl. 25, pg. 37, 1916.

lytmengsel. Substitueeren we nu voor deze oplossingsspanningen weer de reeds bekende waarden voor die van het calciumchloride en die van natriumchloride dan krijgen we:

$$\frac{\text{ionenconcentratie calcium}}{\text{ionenconcentratie uranyl}} = \frac{3.2^2 \times c_3^2}{1.3^2 \times C_4 \times c_2}$$

In deze formules zijn thans nog niet ingevuld de waarden voor de ionenconcentratie van het calcium en natrium in het mengsel n.l. c_2 en c_3 . Deze waarden zijn gemakkelijk te berekenen, en wel is $c_2 = 0.002$ moleculair en $c_3 = 0.1$ moleculair beiden natuurlijk in dit geval voor de RINGER'sche vloeistof voor koudbloedige dieren. Alleen wat betreft de oplossingsspanning van het uranyl-nitrat bestond de moeilijkheid, dat omtrent de uitvlokingsconcentratie van dit zout opgaven ontbraken. Het was daarom noodzakelijk om deze bepalingen zelf uit te voeren. Hierbij moest echter rekening worden gehouden met het feit, dat een oplossing van uranyl-nitrat zuur reageert, waardoor de uitvlokking van eiwitoplossingen sterk wordt beïnvloed. Daardoor werd een uranyl-nitrat eerst met alcali geneutraliseerd tot een zoodanig punt, dat geen neerslag optrad; de zuurgraad was dan met behulp van rosolzuur vast te stellen. Werd er dan langs dezen weg voor gezorgd, dat alle te gebruiken uranyl-nitratoplossingen evenveel waren geneutraliseerd, dan kon langs dezen weg de concentratie worden bepaald, waarbij een maximum uitvlokking optrad. Dit bleek dan op te treden bij een 0.1 moleculair oplossing, zoodat als waarde der oplossingsspanning 0.1 kon worden gebruikt.

Plaatsen we nu deze waarden in de formule (15), dan krijgen we:

$$\frac{\text{ionenconcentratie calcium}}{\text{ionenconcentratie uranyl}} = \frac{3.2^2 \times 0.1^2}{1.3^2 \times 0.1 \times 0.002}$$

$$\frac{\text{ionenconcentratie calcium}}{\text{ionenconcentratie uranyl}} = \frac{120}{1}$$

Hebben we nu in de RINGER'sche vloeistof 10 mgr. uranyl-nitrat p.L. dan is deze verhouding $\frac{\text{Ca}}{\text{UO}_2}$ volgens de experimenteele gegevens $\frac{120}{1.2}$, een waarde, die dus dicht tot de berekende nadert.

Voor het geval, dat het kalium in de RINGER'sche vloeistof door thorium is vervangen, wordt de berekening volgens de NERNST'sche formule vrijwel onmogelijk. De samengesteldheid, die optreedt bij de bepaling van de uitvlokking van de eiwitoplossing door het 4 waardige thoriumion, komt tot uiting in de onregelmatigheid, die bij het uitvlokken plaats heeft. Bij deze uitvlokking gaat ook een gedeelte

van het vierwaardige thoriumion door hydrolyse in colloidaal thoriumhydroxyde over, waardoor dit colloidaalcomplex ook zijn invloed op de uitvloeking van de eiwitoplossing doet gelden. Dientengevolge spreekt men van „onregelmatige reeksen”, waarover BECHHOLD ¹⁾ ons nader heeft ingelicht. Het is daardoor onuitvoerbaar de oplossingsspanning van thoriumnitraat te bepalen, waardoor het berekenen der verhouding van de ionenconcentratie niet kan geschieden.

¹⁾ Bechhold. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 48 p. 418, 1904.

HOOFDSTUK V.

Beschouwingen over de theorie.

De in het vorige hoofdstuk aangegeven theorie is eene poging om het balanceeringsvraagstuk uit een algemeen gezichtspunt te beschouwen. Zooals blijkt is daarbij een belangrijke plaats ingeruimd aan de electriche verschijnselen, die zich onder invloed van de electrolyten in de oppervlaktelaag der cellen kunnen afspelen. Ten gevolge van de wisselwerking tusschen de voedingsvloeistof en de ionen, die in de oppervlaktelaag der cel op een of andere wijze worden vastgehouden, ontstaan er potentiaalverschillen tusschen het electrolytmengsel en de celfilm. Daarbij werd aangenomen, mee op grond van de onderzoekingen van HABER, KLEMENCKIEWICZ, MICHAELIS en HÖBER, dat deze ionenwerkingen de wet van NERNST volgen. Hierop voortbouwende kwam ik tot de conclusie, dat indien er voldaan moet worden aan den eisch, reeds door LOEB gesteld, dat in de bestanddeelen der celfilms de calcium-, kalium- en natriumionen in een bepaalde verhouding aanwezig moeten zijn, dit alleen dan kan geschieden, indien er tusschen de ionen in het electrolytmengsel en de ionen in de celfilm een electriche evenwicht bestaat. Een directe consequentie van deze beschouwing is, dat de celoppervlakte een lading moet bezitten tegenover de omgevende vloeistof. En aangezien zulk een lading negatief zal zijn zoolang de oplossingsspanning grooter is dan de ionenconcentratie in de omringende vloeistof zal deze lading ook meestal negatief worden aangetroffen.

Omtrent het bestaan van een dergelijke lading zijn reeds verschillende opgaven bekend geworden. LILLIE¹⁾ ontdekte in 1903 dat spermatozoën in het electriche veld meestal een negatieve lading vertoonen. Kort daarna kon BECHHOLD²⁾ hetzelfde voor bacterien

¹⁾ Lillie. Am. Journ. of Physiol. Vol. 8 p. 273 (1903).

²⁾ Bechhold. Zeitschr. f. physik. Chemie. 48. p. 385, (1904).

en HÖBER¹⁾ voor roode bloedlichaampjes aantoonen. Van groot belang hierbij is het feit, dat bacteriesuspensies door toevoeging van electrolyten tot agglutinatie gebracht kunnen worden. BORDET²⁾ vond daarbij, dat de werking van agglutinine alleen plaats had in tegenwoordigheid van zouten. HÖBER³⁾ veronderstelt, dat de agglutinatie is te verdeelen in twee fasen t. w. een adsorptie van agglutinine, waardoor de emulsoide colloïden der oppervlakte veranderd worden in suspensioide colloïden en voorts een uitvlokking door de electrolyten. In laatste instantie is de uitvlokking dan te beschouwen als een verdwijnen der lading aan de oppervlakte der cel. Mogelijkerwijze is het agglutinine niets anders als een eiwitstof met speciale eigenschappen t. o. z. van de electrolyten.

Zooals uit de boven uitgevoerde berekeningen volgt, komen de uit de formule van NERNST verkregen uitkomsten vrij goed overeen met de werkelijk gevonden feiten. Hoewel dit natuurlijk op zich zelf beschouwd nog geen bewijs is voor de juistheid der theorie, geeft dit toch grond genoeg om haar als werkhypothese te aanvaarden en voorloopig tot verklaring van het balanceeringsvraagstuk aan te wenden, iets wat tot nu toe langs andere wegen niet gelukt is. Wel is vroeger door MATHEWS⁴⁾ er op gewezen, dat bij de ionenbalanceering naast de waardigheid ook de oplossingsspanning een rol moet spelen, maar bij deze opmerking blijft het en tot een nader uitwerken der gedachte is het niet gekomen.

Als uitgangspunt mijner beschouwingen heb ik de ionenconcentratie gekozen, waarbij een eiwitstof wordt uitgevlokt. In dit geval toch is het potentiaalverschil gelijk aan nul en is de oplossingsspanning gelijk aan de ionenconcentratie in het electrolytmengsel.

Het is begrijpelijk, dat in mijnen gedachtengang aan de lading, die aan de oppervlakte der cel is waar te nemen een bijzondere beteekenis wordt toegekend. Daarbij wordt in het midden gelaten of de lading alleen afhankelijk is van de wisselwerking tusschen de eiwitzouten en de electrolyten in de omspoelende vloeistof, dan wel dat ook geadsorbeerde metaalionen hun bijdragen geven.

Een consequentie onzer theorie is, dat men zich elke levende cel heeft te denken als aan haar oppervlakte met een lading toegerust. De lading zal moeten varieeren naar gelang de samenstelling der celfilm verandert. Met haar zal de oplossingsspanning veranderen, waardoor het potentiaalverschil tegenover de omringende vloeistof

¹⁾ Höber. Pflüger's Archiv. 101, 607, (1904); 102, 196, (1904).

²⁾ Bordet. Ann. Instit. Pasteur. 13, 225, (1899).

³⁾ Höber. Physik. Chemie der Zelle und der Gewebe. p. 299, 1914.

⁴⁾ Mathews. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 12, 419, (1905).

wordt gewijzigd. Daarbij is het zelfs heel goed denkbaar, dat in de levende cel het potentiaalverschil tusschen celfilm en electrolyt geen oogenblik constant is.

Er is nog een ander belangrijk punt, waarover hier nadere bijzonderheden dienen vermeld te worden. Volgens de theorie zal een balanceering in het algemeen tusschen de verschillende zouten, die in oplossing bestaan, aanwezig moeten zijn. Die balanceering wordt daarbij in de eerste plaats afhankelijk gesteld van de aanwezigheid van ionen.

De balanceering d.w.z. de juiste onderlinge verhouding der ionen, is van belang om er voor te zorgen, dat alle ionen in bepaalde verhouding in de celfilm aanwezig zijn, teneinde daar hunne specifieke werking te kunnen verrichten. Zonder balanceering der ionen en colloïdale complexen in het weefselvocht is deze bepaalde samenstelling van den celfilm niet gewaarborgd. Het doel der bovengenoemde theorie der balanceering is dus niets anders dan te trachten het verschijnsel der balanceering tot bepaalde verschijnselen der physischescheikunde terug te brengen.

Opzettelijk zijn in deze beschouwingen de anionen buiten beschouwing gelaten, aangezien hier speciaal de balanceering uit physiologisch oogpunt is beschouwd en waarvoor de onderzoekingen van LOEB e.a. de indifferentie der anionen hebben aangetoond. Bovendien is door het gebruik van de gegevens van HOFMEISTER voor de berekening reeds met den invloed der mogelijk quantitative anionen rekening gehouden. Wil men echter het probleem uitbreiden tot een algemeen colloidchemisch vraagstuk en het trachten toe te passen ter verklaring van de lading der micellen dan zal men theoretisch zeker ook aan de anionen zijn aandacht moeten wijden.

Eene opmerking naar aanleiding van eene publicatie van r. f. LOEB¹⁾ is hier tevens op zijn plaats. In aansluiting aan de onderzoekingen van ZWAARDEMAKER heeft deze onderzoeker nagegaan of het kalium ook voor de ontwikkeling van de eieren van zeeegels door andere radioactieve bestanddeelen vervangen kon worden. Voor het uranyl-zout gebruikte hij oplossingen van $\frac{1}{250.000}$ moleculair en sterker, nadat de eieren eerst in kaliumvrij zeewater waren uitgewasschen. Het resultaat, dat op deze wijze werd verkregen, is absoluut negatief. Gebruikt men echter onze formules om de balanceeringsconstanten te vinden, dan blijkt, dat, in het zeewater, waarin de concentratie van het NaCl hooger is dan in de Ringer'sche vloeistof, de maximale concentratie UO₂ zout, die gebruikt mag worden $\frac{1}{500.000}$

¹⁾ r. f. Loeb. Journ. of gen. Physiology. Vol. 3 p. 229, 1920.

moleculair moet zijn. Ten einde dus aan een juiste balanceering te voldoen zou het uranylzout in deze verdunning gebruikt moeten zijn geworden. Evenwel ook dan is het geenszins uitgesloten, dat de radioactieve sterkte der vloeistof te gering zou zijn geweest. Wellicht is wanneer ook 1 : 500.000 met zorg is beproefd, dit de oorzaak der negatieve uitslag der proefneming. Maar het kan ook zijn, dat de gestoorde balanceering aansprakelijk is. Beide voorwaarden en niet een van de 2 moeten verwezenlijkt zijn, zal het leven op den duur bestaanbaar blijken. Is de eerste veronderstelling gerealiseerd dan zouden we hier een duidelijk voorbeeld hebben van het absoluut gescheiden zijn van balanceering en biologische radioactiviteit. Een tweede voorbeeld hiervan is onlangs door ZWAARDEMAKER en FEENSTRA¹⁾ beschreven voor het geval de het kaliumvervangende stof radiumemanatie is. De emanatie is in staat het kalium te vervangen, maar vertoont geen balanceering met het natrium en calcium. In die proeven was de balanceering gestoord en bleef zij gestoord, evenwel niet in die mate, dat de functie der cellen onmogelijk werd gemaakt.

Het is als vanzelf sprekend te beschouwen; dat aan de in dit proef-schrift ontwikkelde theorie der balanceering vele zwakke punten ontdekt zullen worden. Wanneer men voor gevallen als de onze de wet van NERNST aanvaardt, dan zal men bij de uitwerking der hypothese stooten op de moeilijkheid de electriche oplossings-spanning te vinden. Dat ter berekening de electrolytische oplossings-spanningen der zuivere metalen niet gebruikt kunnen worden, is gemakkelijk te begrijpen. Ten einde tot een doel te komen restte niets anders dan voor de bepalingen van het isoelectrische punt de uitvlokingsproeven van HOFMEISTER te hulp te roepen, hoewel ik mij er zeer goed van bewust was, dat de eiwitoplossingen van HOFMEISTER nog geen levende celeiwitstoffen zijn. Omtrent de laatste zijn de gegevens in de physiologische scheikunde echter zoo spaarzaam, dat zij voor mijn doel geheel en al te kort schoten. Maar misschien wordt hierover in de toekomst meer licht geworpen.

In de tweede plaats heb ik mij de omspoelende vloeistof steeds gedacht samengesteld te zijn als de eenvoudige RINGER'sche vloeistof. Met opzet heb ik dit gedaan om de berekeningen niet te ingewikkeld te maken. Natuurlijk is het hierdoor slechts mogelijk de normale physiologische toestand te benaderen, want alle andere bestanddeelen van bloed, weefselvloeistof en lympe heb ik, om de voorstelling te vereenvoudigen, verwaarloosd.

¹⁾ Zwaardemaker en Feenstra. C. R. Soc. de Biologie. T. 84 p. 377. 1921.

Men zou zich voorts kunnen denken, dat nieuw toegevoerde zouten, zooals b.v. het uranyl-nitrat in de RINGER'sche vloeistof, in de proeven van ZWAARDEMAKER zich niet onmiddellijk met de eiwitstoffen vereenigen en daarom niet in mijne theorie mogen worden opgenomen. Stelt men zich echter voor, dat ook in een zich in evenwicht bevindende vloeistof de ionen steeds in beweging zijn, dus dat in een gebalanceerde vloeistof zich steeds evenveel ionen met de eiwitstoffen kunnen binden als er ionen worden afgestooten, dan is er m.i. geen hinderpaal zich in te denken dat zich ook nieuw toegevoegde ionen met de eiwitstoffen zullen verbinden. Ook is het geen bezwaar, dat misschien bij de natuurlijke aanhechting van Na-, K-, en Ca-ionen aan het protoplasma, of de kunstmatige te voorschijn geroepen aanhechting van vervangers de binding niet van zoogenaamd chemischen aard is, maar tot het terrein der adsorpties moet worden gerekend. Immers de oplossingsspanning van NERNST komt onder alle omstandigheden tot uiting, hoe ook de atomen vastgehouden worden, mits het slechts niet geschiedt in ionvorm, Om dezelfde reden is het ook onverschillig voor de toepassing van de in Hoofdstuk 3 ontwikkelde theorie of de aangehechte atomen al dan niet herkomstig zijn uit een colloïdale oplossing. Het eenige waarmee de theorie rekening heeft te houden is met de aanwezigheid van niet-geïoniseerde atomen aan het celoppervlak en met de concentratieverhouding van het metaalpunt in dit opzicht tot de metaalionen van dezelfde soort in de omringende vloeistof.

De theorie, die ik in Hoofdstuk 3 heb trachten te ontwikkelen, verschilt van de oorspronkelijke theorie van J. LOEB in tweeerlei opzicht:

- 1^o doordat het protoplasma vrij van een membraan gedacht wordt, zoodat alle permeabiliteitsbeschouwingen, in dit verband althans, komen te vervallen.
- 2^o doordat de oplossingsspanning van NERNST in het geding gebracht wordt met een potentiaal, bepaald door de concentratie der ionen in het electrolyt en de waarde der oplossingsspanning.

Wat sub. 1 betreft zij nog opgemerkt, dat ik wel een oppervlaktelaag aan het celprotoplasma toedenk, maar niet als een continuee membraan van bepaalde permeabiliteit. De oppervlakte moge als vlak continu zijn, niet als film van overal gelijkwaardige stof. Volgens de wet van Gibbs kan hier deze soort bestanddeelen, daar een andere zijn opgehoopt. Wat sub. 2 aangaat zij het mij vergund er nog eens uitdrukkelijk op te wijzen, dat ik mij de Na-, K- Ca-atomen of in het experiment hun vervangers mij bepaaldelijk op zeer omschreven plaatsen gelocaliseerd denk en het de bestanddeelen op die plekken zijn, welke de oplossingsspanning bepalen.

Wanneer de potentialen in deze metaalpunten niet op alle plaatsen van het celoppervlak gelijk zijn, zullen zich uit den aard der zaak electriche stroomen ontwikkelen, die tot vereffening van deze ongelijke potentialen zullen bijdragen en niet tot rust komen, alvorens overal op het celoppervlak dezelfde electriche lading is ontstaan. Om tot bedoelden toestand van electricch evenwicht der oppervlakte te geraken zal van het eene metaalpunt atomen moeten worden weggenomen, van het andere moeten worden toegevoegd. De weggenomen atomen worden tot ionen en voegen zich bij de ionen in de vloeistof, de bijgemetselde atomen worden in het algemeen aan de omringende vloeistof ontleend, onverschillig of zij daar in ionvorm dan in dien vorm van moleculen, of van colloïdale complexen mochten worden aangetroffen.

De theorie is genoodzaakt aan het celoppervlak een eigen lading toe te kennen, onafhankelijk van ionen-adsorptie. Ik vind vrijheid van deze veronderstelling uit te gaan, daar zulk een lading voor een drietal soorten van vrij bewegelijke cellen empirisch werd aangetoond. Bovendien maakt het feit, dat de moderne colloïdchemie op grond van de onderzoekingen van POWIS het isoelectriche punt niet meer met den ladingloozen toestand vereenzelvigt, het minder gewaagd aan vaste cellen eveneens een eigen zelfstandige lading toe te kennen.

Door welke krachten in de metaalpunten de niet-geïoniseerde atomen Na, K, Ca, of in het experiment hunne vervangers, worden vastgehouden, is voorshands niet te zeggen. Het kunnen chemische krachten zijn, zooals J. LOEB en BRAILSFORD ROBERTSON zich dit denken of wel oppervlaktewerkingen in den trant van LANGMUIR. De eenige voorwaarde, waaraan de ophooping van metaal met oplossingsspanning moeten voldoen is de niet geïoniseerde toestand, waarin de atomen op die plekken komen te verkeerren. Slechts de ion-vorm is onvereinigbaar met de veronderstelling eener oplossingsspanning.

In de zoeven geopperde aanname van atoombinding ligt ook het willekeurige mijner theorie, die overigens niets anders bedoelt dan de mogelijkheid te openen eener verklaring der physiologische electrolytwerkingen, welke tot dusverre langs anderen weg niet te bereiken viel.

Wanneer het electrolytgehalte der omringende vloeistof aan het celoppervlak een nieuw evenwicht van aangehechte metaalionen opdringt, geldt de nieuwe samenstelling van het protoplasma uitsluitend voor de oppervlaktelaag. De mogelijkheid van een wisselwerking tusschen oppervlaktelaag en diep protoplasma moet onge-

twijfeld opengelaten worden. Aangezien dit terrein echter volslagen terra incognita is, durf ik mij er niet op begeven.

Van de spier wordt gezegd, dat zij in haar cellen geen natrium zou bevatten¹⁾. Kalium is echter in een groote hoeveelheid aanwezig. Omtrent het calcium verkeert men in het onzekere, vooral wat de localisatie van de sporen, die werden gevonden, betreft. Hoe deze atomen, voor zoover zij aanwezig zijn, in het diepe protoplasma gebonden zijn, zeer vast of los, is geheel onbekend. Alleen is door ZWAARDEMAKER en zijne medewerkers vastgesteld, dat uit de cellen der hartspier door voortdurende doorstrooming met kaliumvrije RINGER'sche vloeistof sporen kalium worden vrijgemaakt. Het is dus mogelijk, voor het kalium althans, dat zich een weinig atomen uit de diepte naar de oppervlakte begeven. Ook het omgekeerde kan misschien plaats hebben, zelfs met atomen die de omringende vloeistof aan de oppervlaktelaag opdringt. Hiervoor zal vermoedelijk vrij veel tijd noodig zijn. De balanceeringsverschijnselen ontwikkelen zich echter met groote snelheid, zoowel wanneer zij zich in herstel van functie verraden als wanneer stoornis in balanceering stoornis van functie te weeg brengt. In de theorie der balanceering behoef ik, naar het mij voorkomt deze dieptewerkingen voorloopig niet te betrekken.

¹⁾ F. Urano. Zeitschr. f. Biologie. Bd. 50 p. 212. 1907.

HOOFDSTUK VI.

De ionenbalanceering en het radio-physiologisch antagonisme.

De studie van de physiologische balanceering van ionen kan plaats hebben zonder dat men bekend is met het radio-physiologisch antagonisme en geheel onafhankelijk daarvan. Deze volkomen onafhankelijkheid ten opzichte van de radio-biologische functies wordt verkregen, wanneer men er voor zorg draagt nooit meer dan één soort radioactieve ionen in de vloeistof te hebben. Zoodra er echter twee zijn is het radio-physiologisch antagonisme een factor, waarmee rekening moet worden gehouden.

Daarom is het goed de twee verschijnselen: ionenbalanceering en radio-physiologisch antagonisme naast elkaar te stellen.

Wat men onder ionenbalanceering heeft te verstaan, hebben we op de voorafgaande bladzijden getracht uiteen te zetten. Het geldt een eigenschap, welke verwezenlijkt kan worden met behulp van alle denkbare ionen ¹⁾.

Onder het radio-physiologisch antagonisme wordt verstaan het ophouden der automatie, door een radioactieve substantie onderhouden, na toevoeging van een tweede radioactief bestanddeel van tegengesteld teeken, dat indien alleen aanwezig ook in staat zou zijn om het hart te doen kloppen. Dit heeft plaats indien het eene bestanddeel α -stralen en het andere β -stralen uitzendt. Bij het onderzoek naar de werking van radioactieve stoffen op de hartspier, indien deze de plaats van het radioactieve kalium in

¹⁾ In de theorie der ionenbalanceering is gebruik gemaakt van het door Nernst ingevoerde begrip: „electrolytische oplossingsspanning”. Deze oplossingsspanning heeft een hooge waarde voor de z.g. onedele metalen, terwijl zij daarentegen voor de edele metalen zeer laag is. Of ditzelfde voor de verbindingen der metalen ook geldt is niet bekend en kan voorloopig ook niet onderzocht worden. Merkwaardig is het echter, dat de physiologisch werkzame metalen allen een zeer hooge oplossingsspanning bezitten.

de Ringersche vloeistof innemen, kwam dit verschijnsel toevallig aan het licht. Werd het hart doorstroomd met een vloeistof, waarin in plaats van 100 mgr. KCl 25 mgr. $\text{UO}_2 (\text{NO}_3)_2$ aanwezig was, dan kon het hart hiermede regelmatig blijven kloppen. Indien echter dit mengsel werd vervangen door Ringer'sche vloeistof, waarin dus meer kalium aanwezig was, dan ging, merkwaardigerwijze het hart met deze vloeistof stilstaan. Ter verklaring van dit verschijnsel heeft Zwaardemaker verondersteld, dat in dit geval de werking der α -stralen, die door het uranium worden uitgezonden, door het gelijktijdig aanwezig zijnde β -stralen uitzendende kalium te niet worden gedaan. Voortgezet onderzoek in deze richting heeft meer en meer bewijzen voor deze opvatting opgeleverd, zoodat thans mag worden aangenomen, dat inderdaad het radio-physiologisch antagonisme moet worden toegeschreven aan eene werking tusschen de positieve α -stralen en de negatieve β -stralen. Indien de α -stralende stof en de β -stralende stof beiden gelijktijdig in aquiradioactieve hoeveelheid aanwezig zijn, dan zal het hart zijne automatie verliezen.

Men kan op die manier bij twee van deze in bepaald opzicht tegengesteld werkende radioactieve stoffen verschillende hoeveelheden vinden, waarbij de automatie te loor is gegaan. Vereenigt men dan deze punten in een graphiek, dan krijgt men een curve van den vorm als hieronder voor het antagonisme tusschen kalium en uranium afgebeeld.

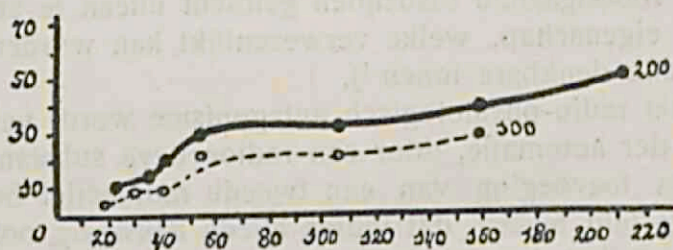


Fig. 5. Graphische voorstelling van het radiophysiological antagonisme; op de abscis de hoeveelheid KCl in mgr. p. L. op de ordinaat de hoeveelheid $\text{UO}_2 (\text{NO}_3)_2$ in mgr. per Liter.

Eene vergelijking van deze curve met de graphische voorstelling der balanceering is *niet* geoorloofd. De punten, die te zamen de lijnen vormen, geven in beide graphische voorstellingen *iets geheel verschillends* aan. In het eene geval bij het radio-physiologische antagonisme, waar de hoeveelheden der beide radioactieve stoffen op ordinaat en abscis zijn uitgezet, moet men de punten beschouwen als de meetkundige plaats der gecombineerde hoeveelheden kalium en uranium, die het hart tot stilstand brengen.

Daarentegen moet men in de balanceeringscurven het gedeelte, dat als balanceeringszone is aangeduid, beschouwen als het gebied, waarin de gecombineerde hoeveelheid der beide balanceerende zouten het hart juist zijne automatie hergeeft en doet behouden.

In het eerste geval dus *vernietiging van functie*, in het tweede *herstel*. Reeds daarom is het onmogelijk om beide curven aan eene vergelijking te onderwerpen, maar bovendien zijn de beide processen in wezen geheel en al verschillend.

Voor het geval dat de electrolyten in de vloeistof gebalanceerd zijn kan men aannemen, dat er een evenwicht aan de oppervlakte der cellen en tusschen protoplasma en omgevende vloeistof is gevormd.

Dit evenwicht is een electrisch evenwicht en wordt geïnflueneerd door elke aanbrenging van ionen van buiten af.

Voor organen zooals de eieren van *Fundulus*, waarvoor J. Loeb heeft vastgesteld, dat zij ook in gedestilleerd water kunnen ontwikkelen, zijn de zouten primair voor de ontwikkeling niet noodig. Maar indien toevalligerwijze de zouten aanwezig zijn, dan moeten zij in een gebalanceerde hoeveelheid erin voorkomen.

Voor andere organen, zooals het kikvorschenhart, wordt het algemeene verschijnsel der ionenbalanceering op den achtergrond gedrongen. In dit geval zijn de zouten beslist noodig voor een goede functioneering. Hunne tegenwoordigheid wordt niet alleen vereischt ter onderhouding van een goeden osmotischen druk, maar ook met het oog op hunne specifieke werking zijn zij onontbeerlijk. Natuurlijk is het ook in zulke vloeistoffen noodzakelijk, dat de zouten in gebalanceerde hoeveelheid voorkomen, omdat ook hier een evenwicht tusschen protoplasma en omgevende vloeistof vereischt is (algemeen biologisch vereischte). Voor het hart moet er echter bovendien voor worden zorg gedragen, dat de verschillende bestanddeelen hunne specifieke werking kunnen ontvouwen. De specifieke werking van het kalium berust in zijn radioactief karakter. Er komt daar dan bij, dat in bijzondere omstandigheden het radio-physiologisch antagonisme het spel der ionen nog gecompliceerder kan maken. Bij onderzoekingen van de ionenbalanceeringen is het daarom een dringende eisch, dat in de vloeistof slechts één radioactief bestanddeel aanwezig is.

Neemt men meer dan een radioactief bestanddeel dan loopt men kans, dat door het optreden van het radio-physiologisch antagonisme groote complicaties insluipen.

Ook het natrium en het calcium spelen een specifieke rol voor het kikvorschenhart. Had men hier alleen te doen met de alge-

meene ionenwerkingen, dan zou het mogelijk moeten zijn om b.v. het calcium door alle niet-toxische bivalente ionen te vervangen. In werkelijkheid echter is dit niet aldus.

Zoals reeds aan Ringer was gebleken kan het calcium alleen door het strontium geheel en al vervangen worden. Hierdoor komt duidelijk aan het licht dat de aanwezigheid van het calcium of het strontium vereischt wordt om een of andere aan deze beide stoffen toekomende eigenschap, waaromtrent tot heden nog niets bekend is. Hetzelfde geldt voor het natrium. Deze stof kan door niets geheel vervangen worden, door lithium alleen eenigermate. De drie in de Ringersche vloeistof aanwezige ionen t. w. natrium, kalium en calcium moeten in de hartspeer aanwezig zijn voor hunne specifieke werking, maar teneinde een evenwicht te krijgen tusschen protoplasma en omspoelend electrolytmengsel moet bovendien aan de algemeene eigenschap der ionen voldaan zijn.

De balanceering is het gevolg van deze algemeene eigenschap, het radio-physiologisch antagonisme is het gevolg van een der specifieke werkingen, t. w. de radioactiviteit. Balanceering en radio-physiologisch antagonisme zijn twee geheel verschillende verschijnselen, die onafhankelijk van elkaar in de hartspeer kunnen optreden.

SAMENVATTING.

1. De balanceering der zouten in physiologische oplossingen is een tot onderling evenwicht komen van ionenwerkingen en moet als een algemeene eigenschap der ionen worden opgevat.
2. De waardigheid der ionen is een factor voor het verschijnsel, maar een factor van ondergeschikte beteekenis.
3. De anionen zijn voor de balanceering van weinig belang.
4. Een invloed van de temperatuur op de balanceering is niet merkbaar.
5. Het verloop der balanceeringscurven komt voor alle onderzochte gevallen overeen.
6. Daarbij blijkt er een zekere variatiebreedte te bestaan; de curve wordt daardoor tot een zone.
7. Voor radiumemanatie, dat in de vloeistof niet in ionenvorm, maar als gas is opgelost, kan geene balanceering met calciumionen worden aangetoond.
8. Ten einde eene verklaring te kunnen vinden voor de ionenbalanceering is het noodzakelijk zich rekenschap te geven van de verschijnselen, die zich in de grenslaag protoplasma-weefselvloeistof afspelen.
9. Neemt men aan, dat de in het grensvlak opgehoopte ionen, die daar vastgehouden worden, in evenwicht verkeereren met het omspoelende electrolyt, dan kan op dit evenwicht, dat als een electricch evenwicht moet worden opgevat, de formule van Nernst toegepast worden.

10. Ter berekening der balanceeringsverhoudingen is het noodzakelijk voor de in de grenslaag vastgehouden ionen de „electrolytische oplossingsspanning” te bepalen.
11. Ten einde deze bepaling te kunnen verrichten, werd de toestand beschouwd, waarin de concentratie van het beschouwde electrolyt dezelfde waarde bezit als de constante der electrolytische oplossingsspanning. In dat geval is het potentiaalverschil gelijk aan nul en is dus het isoelectrische punt bereikt.
12. Uitgaande van de gegevens van Hofmeister was het mogelijk om de waarde der electrolytische oplossingsspanningen te bepalen.
13. Gebruik makende van de gegevens in de daartoe uitgebreide formule van Nernst, was het mogelijk om het evenwicht tusschen de ionen in verschillende physiologische oplossingen te berekenen.
14. De uitkomsten der berekeningen komen voor physiologische vloeistoffen voor warmbloedigen zeer goed overeen met de experimenteele gegevens. Voor de koudbloedigen zijn de verschillen grooter. De oorzaak hiervan moet waarschijnlijk gezocht worden in het feit, dat Hofmeister eiwitstoffen van warmbloedige dieren voor het onderzoek heeft gebruikt. Voor koudbloedige dieren zullen de constanten een eenigszins andere waarde bezitten.
15. In de uitgebreide formule van Nernst komt ook de onafhankelijkheid van temperatuursinvloed en de ondergeschikte beteekenis van de waardigheid der ionen aan het licht.
16. De door J. Loeb gebruikte formule $\frac{\text{Na} + \text{K}}{\text{Ca} + \text{Mg}}$ heeft volgens deze theorie wel globale maar geen nauwkeurig quantitative beteekenis.
17. Voor zomerkikvorschen zijn de uitkomsten geheel afwijkend. Door vergelijking van de werking der sensibilatoren, die stellig in de grenslaag zullen worden opgehoopt, met de stoffen, die in werking met agglutinine overeenkomen, wordt begrijpelijk, dat hier de constanten een geheel andere waarde moeten verkrijgen.

18. Balanceering is een verschijnsel van algemeenen aard uit het gebied der ionenwerkingen; het radio-physiologisch antagonisme daarentegen is een specifieke werking van in een physiologische vloeistof aanwezige radioactieve stoffen.
 19. Voor cellen, wier normaal functioneeren gebonden is aan de aanwezigheid van ionen, heeft men rekening te houden
 - a. met het al of niet gebalanceerd zijn der in de omringende vloeistof voorkomende ionen;
 - b. met de specifieke natuur der in zulk een vloeistof aanwezige ionen.
-

