

8
43

158

G

3

v.d.S.

158.C.43.

D. F. van Esveld,
Utrecht.



D

No. *719*.

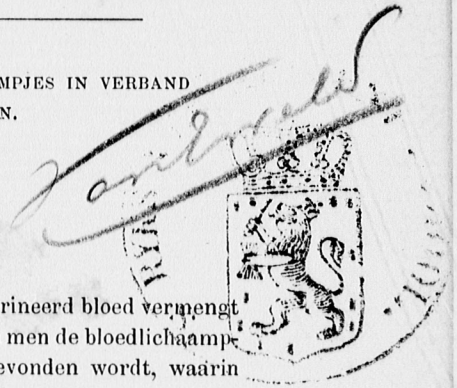
§ 119.
158 8 43

Overgedrukt uit het Maandblad voor Natuurwetenschappen, No. 4 en 5, Jaargang 1889.

OVER DE PERMEABILITEIT DER ROODE BLOEDLICHAAMPJES IN VERBAND
MET DE ISOTONISCHE COËFFICIËNTEN.

DOOR

H. J. HAMBURGER.



Vroeger ¹⁾ toonden wij aan, dat wanneer men gedefibrineerd bloed vermengt met zoutoplossingen van verschillende concentraties en men de bloedlichaampjes laat bezinken, van ieder zout een concentratie gevonden wordt, waarin geen kleurstof uit de bloedlichaampjes treedt, terwijl de solutie, die een even geringere concentratie bezit wel kleurstof doet uittreden. Wij zagen, dat zoo men voor ieder zout telkens het gemiddelde van beide grenzen neemt en dan de gemiddelden onderling vergelijkt, de laatsten nauwkeurig beantwoorden aan de isotonische coëfficiënten van Prof. HUGO DE VRIES.

Wellicht is het voor sommige lezers niet overbodig, de beteekenis dier „coëfficiënten” met een enkel woord toe te lichten.

Wanneer men levende plantencellen eenigen tijd in een zoutoplossing laat liggen, die een grooter wateraantrekkend vermogen vertegenwoordigt, dan de inhoud der plantencel, dan zal de cel zoolang water verliezen, totdat de celinhoud hetzelfde wateraantrekkend vermogen heeft verkregen als de zoutoplossing. Bij dit waterverlies trekt de protoplast zich van den celwand terug. Men noemt dit verschijnsel plasmolyse.

Wanneer men van verschillende zouten de zwakste concentratiën zoekt die nog juist plasmolyse, d. i. scheiding van celinhoud en membraan, bij dezelfde soort van cellen kunnen teweeg brengen, dan blijkt tusschen deze concentratiën een eenvoudige verhouding te bestaan. Voor sommige zouten zijn ze evenredig met de moleculair-gewichten, zoodat dus ieder molecuul van deze zouten met gelijke kracht water uit de cel aantrekt. Tot deze zouten behooren KNO_3 , KBr , KCl , NaI enz.; kortom, alle zouten der alkali-metalen, die één atoom alkali in het molecule hebben.

Kan dus bijv. in een zeker soort van plantencel, een KNO_3 -oplossing van 1,01%, juist plasmolyse teweegbrengen, dan zal dit ook geschieden door een oplossing van KBr van 1,49%, door een oplossing van KCl van 0,745% en door een oplossing van NaI van 1,5% (de moleculair-gewichten van genoemde zouten zijn ook resp. 101, 119, 74,5 en 150).

Ging nu de gegeven regel voor alle zouten door, dan zou men voor hetzelfde

¹⁾ Onderzoekingen, gedaan in het physiol. lab. der Hoogeschool te Utrecht, Derde reeks, IX, p. 22. Ook

Archiv. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abth. 1886. S. 476.

doel een oplossing van K_2SO_4 van $1,74^\circ/\text{o}$ noodig hebben, daar het molec. gewicht van K_2SO_4 , 174 is. Intusschen blijkt dat men voor zouten met 2 atomen alkali in het molecule, met $\frac{3}{4}$ moet vermenigvuldigen, zoodat de benodigde concentratie wordt $\frac{3}{4} \times 1,74 = 1,3^\circ/\text{o}$; zoo zal men van rietsuiker, waarvan het moleculair-gewicht 342 is, in ons geval niet noodig hebben een oplossing van $3,42^\circ/\text{o}$, maar van $3,42 \times \frac{3}{2} = 5,13^\circ/\text{o}$.

De concentratiën van genoemde zouten, die een begin van plasmolyse in dezelfde cellen kunnen teweeg brengen, noemt DE VRIES *isotonisch*, van *isos* en *tonos*, omdat zij een gelijke spanning in de cel veroorzaken, met gelijke kracht water aantrekken, en zoo zijn dan de oplossingen van KNO_3 van $1,04^\circ/\text{o}$, KBr $1,19^\circ/\text{o}$, NaI $1,5^\circ/\text{o}$, K_2SO_4 , $1,3^\circ/\text{o}$ en rietsuiker $5,13^\circ/\text{o}$, onderling isotonisch.

Uit deze feiten volgt, dat het wateraantrekkend vermogen van een molecule KNO_3 , K_2SO_4 en rietsuiker tot elkaar staan als $1 : \frac{3}{4} : \frac{3}{2}$ of als $3 : 4 : 2$. Noemt men dus het wateraantrekkend vermogen van een molecule KNO_3 , 3, dan is dit van K_2SO_4 , 4, en van rietsuiker 2. Deze getallen noemt HUGO DE VRIES *isotonische coëfficiënten* ¹⁾.

Hij vindt voor:

Organische metaalvrije verbindingen den isotonischen coëff.	2
Alkalizouten met één atoom metaal in het molecuul den isotonischen coëff. .	3
Alkalizouten met 2 atomen metaal " " " " " "	4
" " 3 " " " " " "	5
Zouten der aardalkaliën met één atoom zuur i. h. molec. "	2
" " " " 2 atomen " " " "	4

Door deze coëfficiënten kan men berekenen, welke concentratie van een willekeurige stof een gelijk wateraantrekkend vermogen heeft als, m.a.w. isotonisch is met bijv. een KNO_3 -oplossing van $2^\circ/\text{o}$. Vragen we dit bijv. voor druivesuiker. Daarvan is het moleculair gewicht 180, dus is de met $2^\circ/\text{o}$ - KNO_3 isotonische oplossing $\frac{180}{401} \times 2 \times \frac{3}{2} = 5,34^\circ/\text{o}$ ²⁾.

En zoo vonden wij ook, dat wanneer een weinig gedefibrineerd runderbloed vermengd was met 20 c.c van een KNO_3 -oplossing van $1,04^\circ/\text{o}$, geen kleurstof uit de bloedlichaampjes trad, maar bij vermenging met KNO_3 van $0,96^\circ/\text{o}$ wel. Het gemiddelde was dus $1^\circ/\text{o}$.

¹⁾ Zie de bepaling van den isotonischen coëfficiënt van glycerine in dit *Maandblad*, Jaarg. 14, p. 100, en van dien van raffinose in den 15den Jaargang p. 8.

²⁾ Wie omtrent deze hoogst interessante onderzoekingen van DE VRIES meer wenschte te weten, leze o.a. *Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft*, in *Pringsheims Jahrbücher für Wissensch. Botanik*, B. XIV. Heft 4.

Zochten we nu dit gemiddelde ook voor andere zouten, dan leerde de proef dat het voor Na Cl was: $\frac{0,585}{101} \times 1^\circ = 0,58^\circ$, voor Na I, $\frac{1,5}{101} \times 1 = 1,49^\circ$; voor rietsuiker $\frac{342}{101} \times \frac{3}{2} = 5,13^\circ$; voor kalium-oxalaat $\frac{166}{101} \times \frac{3}{4} = 1,24^\circ$; concentratiën dus, beantwoordende aan de isotonische coëfficiënten van DE VRIES.

Later ¹⁾ toonden wij aan, dat de zoutoplossing, waarin de bloedlichaampjes kleurstof beginnen te verliezen, in wateraantrekkend vermogen ver beneden het overeenkomstige serum staan. Men moet dit met 50, gewoonlijk met meer percent water verdunnen, voordat het in staat is, na met gedefibrineerd bloed vermengd te zijn, kleurstof uit de lichaampjes te doen treden. De zoutoplossingen, die in wateraantrekkend vermogen met het serum gelijk staan, noemden we *isotonisch*, de daarboven gelegene *hyperisotonisch* en de daaronder gelegene *hypisotonisch*.

Wij hebben thans deze onderzoekingen voortgezet.

Vermengden we 20 c c gedefibrineerd runderbloed met 40 c c van een oplossing van KNO₃ van 1,67°/o, (in het onderhavige geval isotonisch met het serum), deden door middel van een centrifugaal machine ²⁾ de bloedlichaampjes op den bodem van het vat bezinken, verwijderden dan de vloeistof, die boven de lichaampjes stond, en vermengden van de laatste eenige druppels met 20 c c van chloornatrium-oplossingen van 0,48°/o, 0,49°/o, 0,5°/o, 0,51°/o, 0,52°/o, dan bleek na eenigen tijd, dat in een NaCl-oplossing van 0,5°/o en daaronder, kleurstof uit de lichaampjes was getreden, maar niet in een oplossing van 0,51°/o en daarboven.

Dezelfde grenzen: 0,5 en 0,51°/o vertoonde ook het oorspronkelijke gedefibrineerde bloed, (dat dus niet met KNO₃ was behandeld).

Dezelfde resultaten verkregen wij bij de behandeling van runderbloed met een KNO₃-oplossing van 3°/o (hyperisotonisch) en van 1,25°/o (hypisotonisch). Ook hier bleken de grenzen voor het uittreden en niet-uittreden van kleurstof te zijn resp. NaCl 0,5°/o en 0,51°/o. Gelijke uitkomsten werden verkregen met bloedlichaampjes, die behandeld waren met oplossingen van NaNO₃, NaCl, Na₂SO₄, NaI, druivesuiker en rietsuiker, (verbindingen met ongelijke isotonische coëfficiënten) en verder met serum, dat vooraf met water verdund was. Zooals ook uit de volgende tabel blijkt, verhielden honden-, paarden- en varkensbloed zich evenals runderbloed.

¹⁾ Archiv. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abth. 1887, S. 31.

²⁾ Deze toestel werd mij welwillend door Prof. ENGELMANN en PEKELHARING in bruikleen afgestaan. Ik zeg hun hiervoor mijn dank.

T A B E L.

I	II	III	IV	V	VI
Diersoort	 cM ³ bloed, vermengd met cM ³ zoutoplossing.	Isoto- nische coëff- iciënt v.h. ge- bruik- te zout.	Zoutoplossing, isoto- nisch met het bij 't ge- bruikte bloed behoo- rende serum.	Grenzen voor het uit- treden en niet uittre- den van kleurstof uit de lichaampjes van het zoutoplossing behandelde bloed (II).	Grenzen voor het uit- treden en niet uittre- den van kleurstof uit de lichaampjes van het oorspronkelijke gede- fibrineerde bloed.
Rund	20 bloed + 40 KNO ₃ — opl. van 4,67°/o (isotonisch.)	3	KNO ₃ 4,67°/o	4,05°/o en 4,41°/o KNO ₃	4,05°/o en 4,41°/o KNO ₃
	20 bloed + 40 KNO ₃ — opl. van 3°/o... (hyperisot.)	3	" "	4,05°/o en 4,41°/o KNO ₃	" " " "
	20 bloed + 40 KNO ₃ — opl. van 4,25°/o (hypisot.)	3	" "	4,05°/o en 4,41°/o KNO ₃	" " " "
Rund	40 bloed + 30 rietsuiker opl. van 42°/o (hyperisot.)	2	rietsuiker 8,51°/o	0,5°/o en 0,51°/o NaCl	0,5°/o en 0,51°/o NaCl
	40 bloed + 30 rietsuiker opl. van 6°/o. (hypisot.)	2	" "	0,5°/o en 0,51°/o NaCl	" " " "
	40 bloed + 30 MgSO ₄ — opl. van 40°/o (hyperisot.)	2	MgSO ₄ + 7 aq. 5,5°/o	0,46°/o en 0,47°/o NaCl	" " " "
	40 bloed + 30 MgSO ₄ — opl. van 4°/o. (hypisot.)	2	" "	0,47°/o en 0,48°/o NaCl	" " " "
40 bloed + 30 NaCl — opl. van 3°/o...		3	NaCl 0,928°/o	0,54°/o en 0,55°/o NaCl.	0,55°/o en 0,56°/o NaCl

(hypisot.)	3	NaCl 0,928°/o	0,54°/o en 0,55°/o NaCl.	0,55°/o en 0,56°/o NaCl
10 bloed + 30 NaCl. — opl. van 3°/o... (hyperisot.)	3			
10 bloed + 30 NaI — opl. van 4°/o... (hyperisot.)	3	NaI 2,04°/o	0,54°/o en 0,55°/o NaCl.	0,55°/o en 0,56°/o NaCl.
10 bloed + 30 druivesuiker opl. van 4°/o (hyperisot.)	2	druivesuiker 3,45°/o	0,55°/o en 0,56°/o NaCl.	" " "
10 bloed + 30 verdund serum..... (40 serum op 5 water)			0,55°/o en 0,56°/o NaCl.	" " "
10 bloed + 40 MgSO ₄ — opl. van 10°/o (hyperisot.)	2	MgSO ₄ + 7 aq. 5,3°/o	0,48°/o en 0,49°/o NaCl.	0,52°/o en 0,53°/o NaCl.
10 bloed + 40 MgSO ₄ — opl. van 10°/o (hypisot.)	2	" " "	0,48°/o en 0,49°/o NaCl.	" " "
10 bloed + 30 verdund serum..... (40 serum op 2 water.)			0,54°/o en 0,55°/o NaCl.	0,54°/o en 0,55°/o NaCl.
10 bloed + 30 verdund serum..... (40 serum op 4 water.)			0,54°/o en 0,55°/o NaCl.	" " "
10 bloed + 30 Na ₂ SO ₄ -opl. van 5°/o... (hyperisot.)	4	Na ₂ SO ₄ 4,1°/o	0,38°/o en 0,39°/o NaCl.	0,38°/o en 0,39°/o NaCl.
10 bloed + 30 NaCl — opl. van 3°/o... (hyperisot.)	3	NaCl 0,84°/o	0,48°/o en 0,49°/o NaCl.	0,48°/o en 0,49°/o NaCl.

Uit deze tabel blijkt, dat de behandeling van verschillende bloedsoorten met hyper- en hypisotonische oplossingen van stoffen, wier isotonische coëfficiënt afwisselt tusschen 2 en 4, geen verandering in het wateraantrekkend vermogen teweeg brengt. Op dezen regel schijnt slechts het Mg SO_4 met zijn lagen isotonischen coëfficiënt een uitzondering te maken, en wel constant, zoowel bij runder- als bij paarden- en varkensbloed. Steeds wordt door behandeling met dit zout het wateraantrekkend vermogen der bloedlichaampjes *verlaagd*. Wij hebben getracht na te gaan of dit ook voor Ba en Ca-zouten het geval was. Varkensbloed-lichaampjes bleven echter na behandeling met een oplossing van $\text{Ba Cl}_2 + 2\text{aq}$ van 5% dezelfde isotonische waarde behouden, die zij vóór de behandeling vertoonden.

Met Ca Cl_2 mislukte de proef: wanneer het bloed met een oplossing van dit zout vermengd was en het mengsel werd in de centrifugaalmachine geplaatst, dan was na eenigen tijd de bovenstaande vloeistof volkomen kleurloos. Behandelden wij dan echter de bezonken bloedlichaampjes met NaCl-soluties van verschillende sterkten, om te zien bij welke concentratie kleurstof begon uit te treden, dan bleek, dat dit bij alle NaCl-soluties het geval was, ook bij vrij sterke. Het scheen, dat Ca-zouten, in de gevorderde concentratie, de bloedlichaampjes permeabel maakten voor kleurstof. Om zeker te zijn, dat het weinigje $\text{Ca H}_2\text{O}_2$ dat in Ca Cl_2 pleegt voor te komen, niet de oorzaak er van was, voerden we CO_2 door, maar kregen geen neerslag.

Met Mg Cl_2 kregen wij dezelfde uitkomst als met Ca Cl_2 . Wij hebben toen getracht den ongunstigen invloed van het Ca Cl_2 en Mg Cl_2 op de bloedlichaampjes te verminderen door zwakkere oplossingen te vermengen met NaCl-soluties en ze dan met het bloed te vermengen. Dit gelukte inderdaad: de bloedlichaampjes lieten zich, nadat ze in de mengsels gecentrifugeerd waren, evenals normale lichaampjes met NaCl-oplossingen onderzoeken. Zoo werden mengsels bereid van 20 cM³. Ca Cl_2 -oplossing van 4% en 20 cM³. NaCl-oplossing van 1%, verder van 20 cM³. Mg Cl_2 -oplossing van 1.5% en 20 cM³. NaCl-oplossing van 1% en ter vergelijking ook een mengsel van 20 cM³. Mg SO_4 -oplossing van 3% en 20 cM³. NaCl-solutie van 1%.

Bij 30 cM³. van deze drie mengsels werden 10 cM³. bloed gevoegd. Na bezinking der lichaampjes werden deze met NaCl-soluties onderzocht.

Het bleek nu, dat Ca Cl_2 en Mg Cl_2 geen verandering in isotonische waarde hadden teweeg gebracht; Mg SO_4 daarentegen een zeer geringe en wel in de vroeger reeds waargenomen richting.

Hoe kunnen wij nu, afgezien van de geringe afwijking van het Mg SO_4 , het verrassende resultaat van bovenstaande proeven verklaren?

Wij zouden kunnen aannemen, dat de bloedlichaampjes slechts voor water permeabel zijn. In dit geval zouden zij in isotonische zoutsoluties geheel onveranderd blijven, in hyperisotonische slechts water verliezen en in hypisotonische water opnemen.

Worden dan de bloedlichaampjes, na in deze oplossingen gelegen te hebben,

in een zwakke Na Cl-solutie gebracht, dan zullen ze in de drie gevallen ten slotte een gelijke hoeveelheid water bevatten: een hoeveelheid, die beantwoordt aan de absolute hoeveelheid zout, er in aanwezig, welke hoeveelheid, ingevolge de onderstelling gelijk gebleven is. Daar het opnemen van een zeker volumen water aanleiding geeft tot zwellen en eindelijk tot verlies van kleurstof, zal men bij de bloedlichaampjes, die in isotonische, zoowel als bij die welke in hyper- en hypisotonische zout-soluties hadden gelegen, door dezelfde Na Cl-oplossingen kleurstof zien uittreden.

Echter hebben wij door eene reeks van chemische analyses met zekerheid kunnen uitmaken, dat de bloedlichaampjes van het gedefibrineerde bloed in isotonische, hyper- en hypisotonische oplossingen in aanzienlijke mate voor zouten permeabel zijn.

Wij laten hier eenige proeven volgen:

20 cM³. paardebloed worden vermengd met 50 cM³. Na NO₃-oplossing van 1½%. Het mengsel wordt in de centrifugaalmachine gebracht en na eenigen tijd 20 cM³. van de gele bloedlichaampjes-vrije vloeistof afgezogen. Van deze vloeistof worden chloor-bepalingen gedaan, nadat de eiwitstoffen door verwarming met 1½ maal het volumen van een verzadigde oplossing van (NH₄)₂ SO₄ zijn neergeslagen. ¹⁾

De chloorbepalingen geschieden door toevoeging van overmaat van Ag NO₃, bij aanwezigheid van vrij H NO₃ en titrage van het Ag NO₃, dat niet door het chloor gebruikt is, door KCNS en ferrinitraat.

Het chloorgehalte van 20 cM³. van de door centrifugeeren verkregen vloeistof komt overeen met 4.86 cM³. Ag NO₃-opl. ($\frac{1}{10}$ normaal).

Neemt men aan, dat in 100 vol. paardebloed aanwezig zijn 40 vol. bloedlichaampjes en 60 vol. serum, dan zijn in 20 cM³. bloed, 12 cM³. serum aanwezig en bedraagt dus de geheele hoeveelheid vloeistof van het mengsel $50 + 12 = 62$ cM³. Daar nu 20 cM³. van deze vloeistof overeenkomen met 4.86 cM³. Ag NO₃, zullen 62 overeenkomen met 15.06 cM³. $\frac{1}{10}$ norm. Ag NO₃.

Het chloorgehalte van 12 cM³. serum komt overeen met $\frac{1}{10} \times 20.409 = 12.24$ cM³. Ag NO₃.

Terwijl dus in de vloeistoffen, voordat zij bij elkaar gevoegd worden, een hoeveelheid chloor aanwezig is, overeenkomende met 12.24 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃, blijken zij na vermenging een hoeveelheid chloor te bevatten, die overeenkomt met 15.06 cM³. $\frac{1}{10}$ norm Ag NO₃.

De sereuze vloeistof is dus $\frac{15.06 - 12.24}{12.24} \times 100 = 23.04\%$ in chloorgehalte toegenomen ten koste van dat der bloedlichaampjes, m. a. w. er is chloor uit de bloedlichaampjes getreden.

¹⁾ Het is bekend, dat (NH₄)₂ SO₄ reeds in de koude, alle eiwitstoffen neerslaat. Wanneer men echter in een waterbad verwarmt, heeft men veel minder zoutoplossing nodig, zooals boven blijkt. Voor oplossing van haemialbumose heeft men hier niet te vreezen, daar deze stof in het serum zoo goed als niet voorkomt.

Dit resultaat schijnt in zekere mate afhankelijk van de onderstelling, dat in 100 volumina bloed 60 vol. serum aanwezig zijn. Stelt men echter, dat 100 volumina van het paardbloed 50 of 70 vol. serum bevatten — wat zeker niet waar was — dan geeft de berekening toch nog een uittreden van chloor uit de bloedlichaampjes.

2. Van deze proef en de 6 volgende, die wij geheel op dezelfde wijze uitvoerden als de sub. 1 beschrevene, laten wij de berekening achterwege, doch deelen slechts de resultaten mede:

20 cM³. kalfsbloed + 40 cM³. Na NO₃ van 1½°/o.

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

20 cM³. = 8.62 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Van het bij het gedefibrineerde bloed behoorende serum zijn:

12 cM³. = 12.46 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof is 79.8°/o in chloorgehalte toegenomen ten koste der bloedlichaampjes.*

3. 20 cM³. kalfsbloed + 50 cM³. Na NO₃ van 1½°/o.

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

20 cM³. = 6.04 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Van het bij het gedefibrineerde bloed behoorende serum zijn:

12 cM³. = 12.46 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof is 55.7°/o in chloorgehalte toegenomen ten koste der bloedlichaampjes.*

4. 20 cM³. kalfsbloed + 40 cM³. serum + 10 cM. Na NO₃ van 1½°/o.

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

20 cM³. = 19.6 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Van het bij het gedefibrineerde bloed behoorende serum zijn:

12 cM³. = 12.46 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof is 12.46°/o in chloorgehalte toegenomen ten koste der bloedlichaampjes.*

5. 20 cM³. paardbloed + 40 cM³. serum + 10 cM³. Na Cl-oplossing, ongeveer isotonisch met (serum).

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

20 cM³. = 16.77 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Van het bij het gedefibrineerde bloed behoorende serum zijn:

12 cM³. = 12.24 cM³. $\frac{1}{10}$ normaal Ag NO₃.

Van de Na Cl-oplossingen zijn 10 cM³. = 18.57 cM³. Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof heeft 36.4°/o van haar chloorgehalte aan de bloedlichaampjes afgestaan.*

6. 20 cM³. paardebloed + 40 cM³. Na Cl-oplossing, ongeveer isotonisch met het serum.

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

$$20 \text{ cM}^3. = 32.65 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Van het bij het gedefibrineerde bloed behorende serum zijn:

$$12 \text{ cM}^3. = 12.24 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Van de Na Cl-oplossing zijn 10 cM³. = 48.57 cM³. $\frac{1}{10}$ norm. Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof heeft 1.9°/o van haar chloorgehalte aan de bloedlichaampjes afgestaan.*

7. 20 cM³. paardebloed + 50 cM³. Na Cl-oplossing, ongeveer isotonisch met het serum.

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

$$20 \text{ cM}^3. = 31.71 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Van het bij het gedefibrineerde bloed behorende serum zijn:

$$12 \text{ cM}^3. = 12.24 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Van de Na Cl-oplossing zijn 10 cM³. = 48.57 cM³. Ag NO₃.

Resultaat: *De sereuze vloeistof heeft 6.5°/o van haar chloorgehalte aan de bloedlichaampjes afgestaan.*

8. 20 cM³. paardebloed + 40 cM³. serum + 10 cM³. water

Van de door centrifugeeren verkregen vloeistof zijn:

$$20 \text{ cM}^3. = 17.33 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Van het bij het gedefibrineerde bloed behorende serum zijn:

$$12 \text{ cM}^3. = 12.24 \text{ cM}^3. \cdot \frac{1}{10} \text{ normaal Ag NO}_3.$$

Resultaat: *De sereuze vloeistof is 1.24°/o in chloorgehalte toegenomen ten koste van de bloedlichaampjes.*

Wij hebben, hoewel met een ander doel, nog een aantal proeven in deze richting genomen, zoo bijv. met isotonische, hyper- en hypisotonische KNO₃- en druivesuiker-oplossingen en zijn ook door deze tot het resultaat gekomen, dat *de bloedlichaampjes van het gedefibrineerde bloed voor chloriden permeabel zijn en wel, extra- en intrameabel.*¹⁾

Van deze proeven willen wij nog ééne vermelden, waarbij gebleken is, dat terwijl chloor *uit* de bloedlichaampjes trad, het phosphorzuur den omgekeerden weg volgde:

200 cM³. paardebloed werden vermengd met 300 cM³. KNO₃-oplossing van 1.55°/o (isotonisch met het serum). Bij 300 cM³. van de door centrifuge-

¹⁾ „Extrameabel” noemt JANSE plantencellen, wanneer er stoffen *uit*, en „intrameabel” wanneer er stoffen *in* kunnen treden. Zie Dr. J. M. JANSE, „Die Permeabilität des Protoplasma”, in de Verslagen en Mededeelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde. Derde reeks, Deel IV, pag. 336.

geeren verkregen sereuse vloeistof werden 2250 cM³. water gevoegd; het mengsel werd in een kolf verwarmd in een waterbad, en daarna met zooveel droppels verdund azijnzuur behandeld, tot dat men tusschen het vlokkig neerslag van het eiwit door, een zwarte plaat kon zien; dan werd de kolf op de open vlam verhit. De eiwitstoffen konden nu geheel door filtratie verwijderd worden. In een deel van het filtraat werd het chloor bepaald door AgNO₃ en KCNS, terwijl het andere deel zoover op een waterbad werd ingedampt, tot het phosphorzuur ongeveer de voor de titrage met Uraanacetaat gevorderde concentratie had verkregen.

Het bleek nu, dat *de sereuze vloeistof 15,5°/o in chloorgehalte was genomen, terwijl zij 20°/o van haar phosphorzuur aan de bloedlichaampjes had afgestaan.*

Uit de boven vermelde proeven ziet men verder, dat de betrekkelijke hoeveelheden in- en uitgetreden chloor aanzienlijke verschillen vertoonen. Wij hebben hier te doen met een osmotisch evenwicht, waarvan de voorwaarden ceteris paribus behalve van het quantum water, ook van den aard en de hoeveelheid der vaste bestanddeelen moeten afhangen. Het zou wellicht de moeite loonen, de voorwaarden tot dit evenwicht bij de bloedlichaampjes aan een onderzoek te onderwerpen.

Dit hebben wij reeds kunnen opmerken, dat het osmotisch evenwicht zich spoedig heeft ingesteld. Wij vermengden bloed met zoutoplossingen, centrifugeerden onmiddellijk na vermenging, waarvoor ongeveer ½ uur gevorderd werd en bepaalden in de boven de lichaampjes staande vloeistof het chloor. Dezelfde bewerkingen herhaalden wij met dezelfde hoeveelheden, met dit onderscheid echter dat wij het mengsel, voordat het in de centrifugaalmaschine werd gebracht, gedurende een dag herhaaldelijk schudden. In beide gevallen was de hoeveelheid chloor volkomen dezelfde. Het behoeft nauwelijks gezegd te worden, dat het voor ons van belang was, hieromtrent zekerheid te hebben. Wij mochten nu den factor „tijd” bij onze proeven buiten beschouwing laten.

Zijn de bloedlichaampjes, zooals de zooeven beschreven proeven leerden, voor zouten aanzienlijk permeabel, dan kunnen wij de resultaten der tabel op de daaronder aangegeven wijze niet verklaren. Vroeger hebben wij uiteen gezet, dat de geldigheid der isotonische coëfficiënten bij onze proeven met bloedlichaampjes hoogstwaarschijnlijk in hoofdzaak berust op wateraantrekking. Waren onze redeneeringen werkelijk juist, dan mogen wij thans in verband met de cijfers der tabel aannemen, dat na vermenging van bloed met isotonische, hyper- en en hypisotonische zout- en suiker-oplossingen, *het wateraantrekkend vermogen van den inhoud der lichaampjes onveranderd is gebleven: in dit geval moet er tusschen de laatste en hun omgeving een wisseling van bestanddeelen hebben plaats gehad in isotonische verhoudingen.*

Dat nu inderdaad het wateraantrekkend vermogen der bloedlichaampjes

na vermenging met verschillende zout-soluties onveranderd is gebleven, hebben wij met zekerheid kunnen aantonen.

Wij redeneerden aldus:

Vermengt men een willekeurige hoeveelheid gedefibrineerd bloed met een willekeurige hoeveelheid van een zout- of suikeroplossing, die isotonisch is met het serum, dan zal, indien nu inderdaad de bloedlichaampjes geen verandering van wateraantrekkend vermogen ondergaan, dit met het verdunde serum ook niet het geval zijn.

Wij hebben het wateraantrekkend vermogen der vloeistof bepaald door middel van roode bloedlichaampjes (makroskopische grens) en bovendien, — om geen gevaar te loopen in een cirkel te redeneeren — met *Tradescantia discolor* (naar de methode van HUGO DE VRIES.)

Het resultaat was zeer bevredigend.

Wij willen een der proeven nader beschrijven:

Gedefibrineerd paardbloed werd aan de werking der centrifugaalmaschine onderworpen en het verkregen serum afgezogen.

5 cM³ van dit serum werden vermengd met 4, 3,75, 3,5, 3 en 2,5 cM³ water en bij deze mengsels werden een paar druppels gedefibrineerd bloed gevoegd. Na eenigen tijd bleek, dat in de vloeistof, bestaande uit een mengsel van 5 cM³ serum en 3,75 cM³ water een weinig bloedkleurstof was uitgetreden, terwijl dit niet het geval was in de vloeistof, bestaande uit een mengsel van 5 cM³ serum 3,5 cM³ water.

Tegelijk met deze proeven werden 20 cM³ van een rietsuikeroplossing van 5,04‰, 4,93‰, 4,82‰, 4,73‰ en 4,64‰ vermengd met eenige druppels van hetzelfde gedefibrineerde bloed. Het bleek, dat in de oplossing van 4,73‰ een weinigje kleurstof was uitgetreden, maar in de oplossing van 4,82‰ niets, (deze beide rietsuikeroplossingen zijn isotonisch, resp. met KNO³-soluties van 0,94 en 0,96‰.)

5 Serum met $\frac{3,75 + 3,5}{2}$ water verdund, was dus isotonisch met een rietsuikeroplossing van $\frac{4,73 + 4,82}{2} = 4,77\%$, zoodat het onverdunde serum als zoodanig in isotonische waarde gelijk stond met een oplossing van rietsuiker van $\frac{172,5}{100} \times 4,77 = 7,22\%$.

Deze oplossing werd bereid en 60 cM³ gedefibrineerd bloed vermengd met 100 cM³ van deze oplossing. Na het centrifugeeren werd de bovenstaande vloeistof afgezogen. Van deze vloeistof werden weer 5 cM³ vermengd met 4, 3,75, 3,5 en 3,25 cM³ water en vervolgens met enkele druppels van het oorspronkelijke gedefibrineerde bloed. Na bezinking der bloedlichaampjes bleek ook nu weer kleurstof uitgetreden te zijn bij het mengsel van 5 cM³ van de sereuse vloeistof en 3,75 cM³ water, terwijl dit niet het geval was bij het mengsel van 5 cM³ sereuse vloeistof en 3,5 cM³ water.

Het serum bleek dus inderdaad niet in wateraantrekkend vermogen veranderd te zijn; hetgeen toch wel begrijpelijk zou geweest zijn, wanneer men bedenkt, dat, zooals wij boven hebben aangetoond, bij vermenging van bloed met *isotonische* oplossingen zelfs, een wisseling van zouten in de bloedlichaampjes en omgevende vloeistof plaats grijpt. Deze wisseling blijkt nu zoodanig plaats te hebben, dat het wateraantrekkend vermogen van de bloedlichaampjes en van de omringende sereuze vloeistof geen verandering ondergaat.

Ten einde geen gevaar te loopen in een cirkel te redeneeren hebben wij nog een anderen indicator gebruikt, welks werking wij zeker tot wateraantrekking mogen terugbrengen, nl. de plasmolyse in de cellen van *Tradescantia discolor* ¹⁾.

Tot dit doel verdunden wij 5 cM³ van het gecentrifugeerde serum ²⁾ met 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,5 en 2 cM³ water en bestudeerden, in welke vloeistof, alle cellen, de helft en geen der cellen een begin van plasmolyse had ondergaan. Het bleek, dat bij verdunning met 0,6 cM³ water bijna alle, met 0,8 cM³ water ongeveer de helft en met 1 cM³ water geen der cellen geplasmolyseerd was.

Tegelijkertijd waren andere opperhuidscellen, naar het voorschrift van DE VRIES, in de nabijheid der bovenbedoelde gelegen, in suikeroplossingen van 5,13‰, 5,64‰, 6,15‰, 6,67‰, 7,18‰ en 7,69‰ gebracht, en na 3 tot 4 uren onderzocht. Het bleek, dat in de suikeroplossing van 5,64‰ geen, in die van 6,15‰ ongeveer de helft en in die van 6,67‰ ongeveer alle cellen plasmolyse vertoonden.

5 cM³ serum met $\frac{1 + 0,6}{2} = 0,8$ cM³ water verdund, bleek dus in wateraantrekkend vermogen gelijk te staan met een suikeroplossing van 6,15‰, dus het onverdunde serum stond gelijk met een suikeroplossing van $\frac{116}{100} \times 6,15 = 7,13\%$ (een getal weinig afwijkende van hetgeen wij met behulp der bloedlichaampjes verkregen).

Met 60 cM³ van deze vloeistof vermengden wij 40 cM³ van het gedefibreerde bloed, centrifugeerden en zogen de sereuze vloeistof af.

Van deze moesten nu ook 5 cM³ met 0,8 cM³ water verdund worden, om in de helft der cellen plasmolyse teweeg te brengen, terwijl 5 cM³ met 1 water verdund, in bijna geen en met 0,6 cM³ water verdund, in alle cellen plasmolyse veroorzaakten.

Wij hebben nu aangetoond, dat wanneer bloed vermengd wordt met een

¹⁾ Over de methode van onderzoek, zie HUGO DE VRIES: Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft i.e.

²⁾ Het zal wellicht vreemd schijnen, dat wij niet het serum gebruikten, dat door den bloedkoek wordt uitgezweet. Meermalen hebben wij ons er van overtuigd, dat dit vaak aanzienlijk in wateraantrekkend vermogen, enz. verschilt van het serum van het gedefibreerde bloed.

isotonische suikeroplossing, de bloedlichaampjes en vloeistof van bestanddeelen wisselen in isotonische verhoudingen. Thans rest ons nog, hetzelfde experimenteel aan te toonen voor hyper- en hypisotonische oplossingen.

Wij redeneerden hiertoe aldus:

Vermengt men een bekende hoeveelheid gedefibrineerd bloed met een hyper- of hypisotonische oplossing — laten we, om de gedachte te bepalen, een hyperisotonische rietsuikeroplossing nemen, nl. eene van $12^{\circ}/_{\circ}$ —, dan zal de vloeistof, die na het centrifugeeren zich boven de bloedlichaampjes bevindt, een geringer wateraantrekkend vermogen bezitten dan de suikeroplossing van $12^{\circ}/_{\circ}$ en wel des te geringer, naar mate meer serum aanwezig was. Kent men de hoeveelheid serum, in de bekende hoeveelheid bloed aanwezig, dan zal men kunnen voorspellen, hoe groot het wateraantrekkend vermogen van het mengsel van serum en suikeroplossing zal geworden zijn, *indien namelijk het mengsel door het in- of uitreden van stoffen van de zijde der bloedlichaampjes, geen verandering in wateraantrekkend vermogen heeft ondergaan.*

Nu kennen wij echter het betrekkelijk volumen van het serum in bloed niet, maar kunnen dit — indien onze hypothese (het zooeven cursief gedrukte) waar is — uit de verandering, die het wateraantrekkend vermogen der suikeroplossing ondergaat, berekenen. Doen wij dan vervolgens de proef ook met een andere hoeveelheid der hyperisotonische oplossing en blijken de cijfers voor het volumen van het serum bij de verschillende proeven met elkander overeen te stemmen, dan moet ook onze hypothese waar zijn; ¹⁾ immers zonder deze zou de overeenstemming in de bewuste cijfers niet mogelijk zijn.

Wij laten hier een proef volgen:

30 cM³. gedefibrineerd paardbloed worden vermengd met 30 cM³. van een rietsuikeroplossing van $12^{\circ}/_{\circ}$; vervolgens wordt het mengsel in de centrifugaalmachine gebracht en worden van de afgezogen vloeistof telkens 5 cM³. vermengd met 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.25 en 2.5 cM³. water. Nu worden een aantal coupes van dezelfde plaats van een blad van Tradescantia vervaardigd. Van deze coupes, die zonder regelmaat door elkander liggen, worden telkens twee in bovengenoemde mengsels gelegd en ook in suikeroplossingen, isotonisch met KNO₃ van $1.8^{\circ}/_{\circ}$, $1.7^{\circ}/_{\circ}$, $1.6^{\circ}/_{\circ}$, $1.5^{\circ}/_{\circ}$, $1.4^{\circ}/_{\circ}$ en $1.3^{\circ}/_{\circ}$, ten einde de suikerwaarde der Tradescantia-coupes te bepalen.

Het blijkt, dat de sereuze vloeistoffen, vermengd met 0.75, 1 en 1.25 cM³. water, in beide praeparaten plasmolyse van *alle* cellen hebben veroorzaakt,

¹⁾ Eigenlijk zou het volumen der bloedlichaampjes, na inwerking van zekere hoeveelheid eener hyperisotonische oplossing moeten verschillend gevonden worden van het volumen, dat zij aannemen door inwerking van een andere hoeveelheid, daar de sereuze vloeistoffen dan toch verschillende concentratiën krijgen. Echter is de plasmolytische methode met Tradescantia niet nauwkeurig genoeg, om deze verschillen te kunnen aantonen.

maar dat de vloeistof, vermengd met 1.5, 1.75, 2, 2.25 en 2.5 cM³. water in geen der cellen plasmolyse heeft teweeggebracht.

Verder wordt opgemerkt, dat plasmolyse van alle cellen is ingetreden door suikeroplossing van 8.21‰ (isotonisch met KNO₃ van 1.6‰) en van geen der cellen door suiker-oplossing van 7.69‰ (isotonisch met KNO₃ van 1.5‰).

Hieruit blijkt, dat het mengsel van 5 cM³. der sereuze vloeistof en 1.375 cM³. water isotonisch is met rietsuiker-oplossing van $\frac{8.21 + 7.69}{2} = 7.95‰$, dus de sereuze vloeistof zelf met $\frac{5 + 1.375}{5} \times 7.95 = 10.14‰$ suiker-oplossing.

Op dezelfde wijze vinden wij, met behulp van een stukje Tradescantia, waarvan wij afzonderlijk de suikerwaarde bepalen, die van het oorspronkelijke serum = 7.11‰.

Stel nu het aantal cM³. serum in 30 cM³. gedefibreerd bloed = x, dan is de berekende suikerwaarde van het mengsel van 30 bloed en 30 rietsuiker van 12‰ = 7.11 x + 30 × 12 en deze moet gelijk zijn aan de gevondene = 10.13 × (30 + x).

$$7.11 x + 30 \times 12 = 10.13 (30 + x).$$

Waaruit volgt x = 18.8.

In 100 cM³. van het gedefibreerde bloed zouden dus naar deze proef voorkomen $\frac{18.8}{30} \times 100 = 62.6$ cM³. serum.

Voor een tweede proef worden 20 cM³. vermengd met 30 cM³. rietsuiker-oplossing van 12‰.

Het blijkt, dat 5 cM³. van de door centrifugeeren verkregen vloeistof met 0.75 cM³. water moeten verdund worden, ten einde plasmolyse teweeg te brengen; bij 5 cM³. sereuze vloeistof + 1 cM³. water vertoonen ongeveer de helft der cellen en bij 5 cM³. der sereuze vloeistof + 1.25 cM³. water, zoo goed als geen der cellen plasmolyse. De Tradescantia-praeparaten zijn thans isotonisch met suiker-oplossing van 8.77‰; de sereuze vloeistof dus met een suikeroplossing van $\frac{5 + 1}{5} \times 8.77 = 10.52‰$.

Het serum = 7.11‰ suikeroplossing.

Stellen wij het aantal cM³. serum in de 20 cM³. gedefibreerd bloed = x, dan is:

$$7.11 x = 30 \times 12 = 10.52 (30 + x).$$

$$x = 13.$$

In 100 cM³. van het gedefibreerde bloed zouden dus naar deze proef voorkomen $\frac{13}{20} \times 100 = 65$ cM³. serum.

Dit getal stemt vrij wel met het eerst gevondene overeen.

Voor hypisotonische oplossingen toonden wij hetzelfde aan.

20 cM³. gedefibreerd paardeblood werden vermengd met 50 cM³. van een rietsuiker-oplossing van 6‰.

Volgens de zooveen beschreven methode vonden we voor de suikerwaarde van de sereuze vloeistof 6.24.

Die van het serum (afkomstig van hetzelfde bloed, als boven gebruikt) was 7.11.

Stelt men weer het aantal cm^3 . serum in 20 cm^3 . gedefibrineerd bloed = x , dan is:

$$7.11 x + 50 \times 6 = (x + 50) \times 6.24.$$

$$x = 12.8.$$

Dus in 100 cm^3 . gedefibrineerd bloed komen voor 64 cm^3 . serum.

Verder werden 20 cm^3 . gedefibrineerd paardbloed vermengd met 30 cm^3 . van een rietsuiker-oplossing van 6‰.

De suikerwaarde der sereuze vloeistof was 6.32; die van het serum 7.11.

Stelt men het aantal cm^3 . serum in 20 cm^3 . gedefibrineerd bloed = x , dan is:

$$7.11 x + 30 \times 6 = (x + 30) \times 6.32.$$

$$x = 12.2.$$

In 100 cm^3 . gedefibrineerd paardbloed bevonden zich dus 64 cm^3 . serum.

Ook voor hypotonische oplossingen stemmen dus de getallen vrij wel overeen.

De basis, waarop DE VRIES zijn gebouw der isotonische coëfficiënten grondvestte, was de impermeabiliteit van *zijn* ¹⁾ plantencellen voor zouten en het moet dus in het eerste oogenblik vreemd schijnen, dat terwijl de bloedlichaampjes aanzienlijk permeabel blijken te zijn, deze toch bij het afgeven van kleurstof de wetten der isotonische coëfficiënten volgen.

Analyseert men echter de feiten, dan is een bevredigende verklaring niet moeilijk te vinden.

Wij nemen bijv. een zwakke oplossing van KNO_3 en voegen daarbij een weinig gedefibrineerd bloed. De bloedlichaampjes zullen dan zoolang water aantrekken, totdat de concentratie van hun inhoud een gelijk wateraantrekend vermogen vertegenwoordigt als die van de KNO_3 -oplossing.

Intusschen is het in de bloedlichaampjes bij de opneming van water niet gebleven; er is ook o.a. KNO_3 in de bloedlichaampjes getreden; echter heeft een daarmede isotonische quantiteit van andere stoffen het lichaampje verlaten, zoodat het wateraantrekend vermogen daarin gelijk gebleven is.

Door het opnemen van water nu, zwellen enkele ²⁾ bloedlichaampjes zoo aanzienlijk, dat ze hun kleurstof verliezen en de boven de lichaampjes zich bevindende vloeistof een roode tint heeft. ³⁾

¹⁾ Wij leggen den nadruk op „zijn”, omdat JANSE gevonden heeft, dat sommige levende plantencellen wel permeabel zijn voor zouten. Zie DR. JANSE, Die Permeabilität des Protoplasma, l. c.

²⁾ Het ligt voor de hand, dat niet alle roode bloedlichaampjes identisch zullen zijn; al ware het slechts, omdat zij verschillenden ouderdom bezitten.

³⁾ Andere bloedlichaampjes zijn nog niet zoover, maar zullen eerst hun kleurstof verliezen, wanneer een nog zwakkere zout-solutie wordt toegevoegd; in dit geval is de bovenstaande vloeistof dan ook rooder.

Gebruikt men nu in plaats van de eerst bedoelde KNO_3 -oplossing, een solutie van NaCl , die hetzelfde wateraantrekkend vermogen heeft, m. a. w. er mede isotonisch is, dan zal ook door deze NaCl -oplossing bij enkele bloedlichaampjes uittreding van kleurstof plaats hebben, dus de vloeistof een roode tint vertoonen. Immers ook hier hebben de bloedlichaampjes, hoewel zij door de omringende NaCl -solutie in samenstelling zijn gewijzigd, hetzelfde wateraantrekkend vermogen behouden.

Wat voor de NaCl -oplossing geldt, vindt men ook voor andere daarmede isotonische zoutoplossingen en zoo meenen wij verklaard te hebben, waarom bij de bloedlichaampjes de isotonische coëfficiënten worden terug gevonden, wanneer men een even zichtbare kleurstof-uittreding als indicator gebruikt.

Resumé.

Het bovenstaande onderzoek heeft ons geleerd:

1° dat de bloedlichaampjes van het gedefibrineerde bloed voor zouten aanzienlijk permeabel zijn;

2° dat na vermenging van gedefibrineerd bloed met isotonische, hyperisotonische en hypisotonische ¹⁾ zout- en suiker-oplossingen en met serum, dat vooraf met water verdund is, een uitwisseling van bestanddeelen plaats grijpt tusschen bloedlichaampjes en omgeving en wel, in zoodanige verhouding, dat de wateraantrekkende kracht van geen van beiden hierdoor verandering ondergaat, m. a. w. in isotonische verhouding.

Wij houden ons thans bezig met de vraag of de hier gevonden feiten ook geldig zijn voor het circuleerende bloed. Is dit werkelijk het geval, dan blijkt de natuur daarin een treffend en doelmatig middel te bezitten, om, ondanks de vele physiologische en pathologische veranderingen, waaraan het bloedvocht is blootgesteld, den inhoud der bloedlichaampjes te regelen.

¹⁾ Over de beteekenis dier woorden, zie pag. 65.

