



Bijdrage tot de kennis van de beschuttende werking van het reticulo-endotheliale stelsel

<https://hdl.handle.net/1874/301635>

BIJDRAGE
TOT DE KENNIS
VAN DE
BESCHUTTENDE WERKING
VAN HET
RETICULO-ENDOTHELIALE
STELSEL

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN DE
BESCHUTTENDE WERKING VAN HET
RETICULO-ENDOTHELIALE STELSEL

BIJDRAGE TOT DE KENNIS
VAN DE BESCHUTTENDE WERKING VAN
HET RETICULO-ENDOTHELIALE STELSEL.

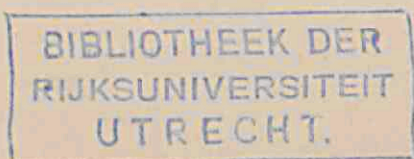
PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT
TE UTRECHT OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAG-
NIFICUS DR. L. S. ORNSTEIN HOOGLEERAAR
IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNI-
VERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN
OP DINSDAG 17 NOVEMBER 1931 DES NAMIDDAGS
TE 4 UUR

DOOR

JOHANNES DER WEDUWEN
ARTS
GEBOREN TE AALTEN

DRUKKERIJ VIJLBRIEF — NEUDE 37 — UTRECHT



Aan mijn Ouders
Aan mijn Vrouw

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij de welkome gelegenheid U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en Docenten der Geneeskundige en Philosophische Faculteiten van de Utrechtsche Universiteit mijn dank te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U mocht genieten.

Hooggeleerde Ringer, Hooggeachte Promotor, U geldt mijn bijzonderen dank. Zoo niet reeds als Uw assistent Uw groote welwillendheid mij gebleken was, des te duidelijker is dit geworden bij de bewerking van het onderwerp van mijn proefschrift. Uw heldere blik, Uw critisch oordeel hebt Gij mij ten allen tijde ten dienste gesteld. Zoo zullen de jaren, dat ik onder Uw leiding heb mogen verkeeren, voor mij van blijvende waarde zijn.

Hooggeleerde de Josselin de Jong, dat Gij steeds bereid waart, wanneer ik bij U aanklopte, de organen der proefdieren, welke met oost-indischen inkt waren ingespoten, te onderzoeken, waardeer ik zeer. Ik werd daardoor in staat gesteld de beteekenis van deze inspuiting veel beter te beoordeelen.

Dat ik ook nog na mijn arts-examen van Uw voortreffelijk onder-richt mocht genieten, Hooggeleerde Hijmans van den Bergh, reken ik mij tot een groot voorrecht. De gastvrijheid, waarmede Uw kliniek immer voor mij openstond, zal mij steeds in dankbare herinnering blijven.

Hooggeleerde Bijlsma, U dank ik voor de gelegenheid, die Gij mij geboden hebt, in Uw laboratorium een deel mijner onderzoekingen te verrichten.

U, Hooggeleerde Schoorl, ben ik dankbaar voor de bereidwilligheid, waarmede Gij de samenstelling van de door mij bij de proeven gebruikte oost-indischen inkt hebt willen onderzoeken.

Dat Gij, mej. Bijleveld, mij behulpzaam waart bij het uitvoeren van mijn proeven, waardeer ik zeer.

De medewerking, die ik van U, waarde Herber ontving, ook bij mijn werkzaamheden als assistent, zal ik niet licht vergeten.

Ten slotte mijn hartelijken dank aan allen, die op eenige wijze medegewerkt hebben aan het tot stand komen van dit proefschrift.

INHOUDSOPGAVE.

	Blz.
Inleiding.	1
HOOFDSTUK I.	
De milt en hare werkingen.	4
HOOFDSTUK II.	
Het reticulo-endotheliale stelsel.	15
HOOFDSTUK III.	
Rotting in den darm.	31
HOOFDSTUK IV.	
Beschrijving van de gevolgde werkwijzen.	44
HOOFDSTUK V.	
Eigen onderzoek en uitkomsten.	61
HOOFDSTUK VI.	
Beschouwingen over de verkregen uitkomsten.	96
Samenvatting.	101

INHOUDSOPGAVE.

	Blz.
Inleiding.	1
 HOOFDSTUK I.	
De milt en hare werkingen.	4
 HOOFDSTUK II.	
Het reticulo-endotheliale stelsel.	15
 HOOFDSTUK III.	
Rotting in den darm.	31
 HOOFDSTUK IV.	
Beschrijving van de gevolgde werkwijzen.	44
 HOOFDSTUK V.	
Eigen onderzoek en uitkomsten.	61
 HOOFDSTUK VI.	
Beschouwingen over de verkregen uitkomsten.	96
Samenvatting.	101

INLEIDING.

Bij het onschadelijk maken van vergiftige stoffen, welke óf van buiten af aan het organisme worden toegediend, óf in het lichaam ontstaan, speelt, op grond van de uitkomsten van vele onderzoekingen, de lever een zeer belangrijke rol.

Zonder deze onderzoekingen volledig en met name te noemen, zij toch terloops vermeld, op welke verschillende wijzen men de lever heeft getoetst op hare wijze van werken bij het onschadelijk maken van vergiften.

Zoo heeft men gevonden, dat, wanneer een vergiftige stof in de poortader werd ingespoten, deze stof minder schadelijk was voor het lichaam, dan wanneer dezelfde stof in een andere ader werd ingespoten. Ook de uitkomsten van proeven, waarbij een fitsel van Eck aangelegd was, wezen in deze richting.

Doorstroomingsproeven met de overlevende lever toonden eveneens aan, dat de lever in staat is de vergiftige werking van verschillende stoffen op te heffen of te verminderen.

Eveneens wijzen waarnemingen, gedaan bij ziektes van de lever, op de beschuttende werking van de lever tegen vergiften.

In den laatsten tijd is echter vaak gebleken, dat bepaalde werkingen, die men voordien aan een bepaald orgaan had toegeschreven, ook aan andere organen toekomen.

Het behoeft ons dan ook niet te verwonderen, dat uitkomsten van onderzoekingen uit de laatste jaren aantoonen, dat het onschadelijk maken van vergiftige stoffen niet uitsluitend is gebonden aan de lever, maar dat ook andere organen deze werking bezitten. Enkele van deze onderzoekingen mogen reeds hier iets uitvoeriger besproken worden.

In 1927 deed K. Mitsuba ¹⁾ mededeeling van zijn onderzoek

¹⁾ K. Mitsuba. Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 164, 1927, blz. 236.

waarbij hij de urine van honden en konijnen onderzocht op het gehalte aan estersulfaten en glucuronzuur vóór en na het wegnemen der milt. Hij stelde vast, dat na het wegnemen der milt de afscheiding van gepaarde verbindingen in sterkte toeneemt.

Op grond van zijn onderzoek en uitkomsten kent Mitsuba aan de milt een rol toe bij het onschadelijk maken van bepaalde voor het lichaam schadelijke stoffen, welke, zooals bekend, onder normale omstandigheden in het darmkanaal worden gevormd en in de bloedbaan opgenomen. De milt zou deze schadelijke stoffen afbreken tot onschadelijke. Schiet echter deze werking van de milt tekort, dan moeten andere afweermiddelen in versterkte mate in het werk worden gesteld.

Dat het lichaam deze schadelijke stoffen kan paren aan zwavelzuur, glucuronzuur of andere stoffen tot voor het lichaam onschadelijke verbindingen, is een reeds lang bekend feit. Indien de milt nu inderdaad in staat is om uit het darmkanaal opgenomen schadelijke stoffen af te breken en onschadelijk te maken, dan is na het wegnemen van de milt het aanbod van schadelijke stoffen voor verbinding met andere stoffen tot onschadelijke grooter geworden en kan men een versterkte afscheiding van gepaarde verbindingen met de urine verwachten.

M. H ä n d e l en E. H. R o s e n z u a i g ¹⁾ hadden kort tevoren er reeds op gewezen, dat bij het onschadelijk maken van vergiftige stoffen de milt naast de lever een voorname plaats inneemt.

Vergiftigingen met cocaine verdragen de muizen, waarbij de milt weggenomen is, veel minder goed dan de ter vergelijking op dezelfde wijze vergiftigde normale dieren. Dat de heilkundige bewerking niet de oorzaak was van den verminderden weerstand tegen het vergift cocaine, toonden zij aan door bij een derde groep van dieren een laparotomie te verrichten. Deze laatste dieren gedroegen zich tegenover de vergiftiging met cocaine als normale muizen.

Zij hebben echter ook nog op een andere wijze getracht deze werking van milt en lever nader te onderzoeken. Uitgaande van de gedachte, dat een bepaalde soort van cellen, welke èn in de lever èn in de milt ruimschoots voorkomen en welke tot het reticulo-endotheliale stelsel gerekend worden, voor dit onschadelijk maken van vergiften verantwoordelijk gesteld moet worden, hebben zij door middel van blokkade met ferrum oxydatum saccharatum het reticulo-endotheliale stelsel in zijn werkingen getracht te belemmeren.

Inderdaad vonden zij na deze blokkade dat de weerstand van de dieren tegenover vergiftiging met cocaine nog meer afgenomen is dan na het wegnemen der milt alleen. Zij besluiten, dat de reticulo-endothe-

¹⁾ M. H ä n d e l en E. H. R o s e n z u a i g. Deutsche Medizinische Wochenschrift, deel 52, 1926, blz. 320.

liale elementen bij het onschadelijk maken van cocaine een belangrijke rol spelen.

Deze belangrijke onderzoeken, waarbij gewezen wordt op de beteekenis van de milt en het reticulo-endotheliale stelsel bij de verdediging tegen schadelijke stoffen, hebben mij ertoe geleid een dergelijk onderzoek te verrichten. Hierbij is dan meer in het bijzonder de vraag gesteld, of milt en reticulo-endotheliale stelsel een rol spelen bij het vernietigen van vergiftige rottingsproducten uit den darm.

Om een indruk te krijgen omtrent den graad van vernieling van deze vergiften in het lichaam, werd bij het onderzoek, hetwelk in dit proefschrift besproken zal worden, de urine onderzocht op het gehalte aan gepaarde verbindingen.

Met het doel invloed te oefenen op het proces van het vernietigen van schadelijke rottingsproducten uit het darmkanaal, werd nu eens gebruik gemaakt van de blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel, dan weer van het wegnemen van de milt.

Alvorens de uitkomsten van deze proeven te beschrijven, wil ik in de nu volgende hoofdstukken het vraagstuk van de werkingen van de milt en het reticulo-endotheliale stelsel bespreken.

HOOFDSTUK I.

DE MILT EN HARE WERKINGEN.

In zijn leerboek der physiologische en pathologische chemie begint O. Fürth het hoofdstuk over de milt met de volgende woorden: „Dasz man mit einem so voluminösen Organe, wie es die Milz ist, nur gar so wenig anzufangen weisz, ist eine Tatsache, welche die Physiologen von jeher schwer betrübt hat und auch heute noch betrübt.“¹⁾

Toch is het niet te wijten aan te geringe belangstelling voor dit orgaan, dat er zoo weinig met zekerheid over de milt en hare werkingen bekend is.

Integendeel, het aantal onderzoekingen op dit gebied is omgekeerd evenredig aan wat er met zekerheid over bekend is.

Van de werkingen, die min of meer vast staan, zullen in dit hoofdstuk de belangrijkste besproken worden. Daar echter verschillende van deze werkingen in nauw verband gebracht worden met den merkwaardigen bouw van de milt, dient eerst een bespreking over den anatomischen bouw vooraf te gaan.

Anatomische bouw der milt.

De bekende vergelijking van de milt met een spons heeft zeer zeker veel aantrekkelijks. Niet alleen in bouw, maar ook in bepaalde eigenschappen is een zekere overeenkomst waar te nemen.

Het balkenstelsel in de milt zou men, wat de bouw betreft, kunnen vergelijken met het elastische bestanddeel van de spons, terwijl de mazen ertusschen vergeleken kunnen worden met de pulpa-ruimtes in de milt.

Natuurlijk gaat deze vergelijking in meer opzichten mank, dan dat

¹⁾ O. Fürth. Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, deel 1, 1928, blz. 403.

zij overeenkomsten biedt. Toch heeft zij iets aanlokkends en komt zeer zeker ons voorstellingsvermogen te hulp.

De trabecula, de balkjes der milt, bezitten, althans bij den mensch en vele dieren, spiervezels; de beteekenis hiervan zal later, bij de bespreking der werkingen van de milt, nader onder het oog worden gezien.

Door deze balkjes loopen de groote bloedvaten, die aan den hilus der milt intreden en zich in de trabecula vertakken.

De vraag over het beloop der bloedvaten, meer in het bijzonder der uitloopers der bloedvaten, heeft reeds vele pennen in beweging gebracht. Hoewel er heden ten dage nog geenszins eensluidendheid heerscht in de opvattingen, welke aangaande deze zaak bestaan, is er toch in de laatste jaren een bepaalde meening op den voorgrond getreden, welke door vele onderzoekers verdedigd wordt.

De belangrijkste vraag over het beloop der bloedvaten in de milt is altijd geweest: bestaat er een gesloten of open bloedbaan. Met andere woorden, stroomt het bloed langs de gebruikelijke, gebaande wegen, of bestaan er zijwegen, zonder bloedvaatwand, zonder endotheel, langs welke zijwegen het bloed uit de slagaderlijke haarvaten tenslotte toch weer in de aders terecht komt.

Over het beloop der groote bloedvaten heerscht wel eenstemmigheid. De miltslagader treedt aan den hilus de milt binnen, veelal na zich eerst kort tevoren eenige malen vertakt te hebben. Aanvankelijk door het weefsel der trabecula omgeven, verliest zij, kleiner wordend, dit weefsel en treedt zij uit in de pulparuimte der milt.

Daar wordt de smalle slagader ¹veel omgeven door een lymfoïdweefsel, hetwelk reeds in 1669 door *Marcello Malpighi* beschreven is. Deze plaatselijke ophooping van lymfoïd weefsel worden dan ook meestal lichaampjes van *Malpighi* genoemd. Na uit dit lichaampje van *Malpighi* getreden te zijn, verdeelt de kleine slagader zich op een merkwaardige wijze, door onze landgenoot *F. Ruysch* in 1696 beschreven in twee of soms drie takken. Deze typische vertakkingen werden door *Ruysch* penicilli genoemd.

Na deze vertakking worden de haarvaten over een geringe lengte omgeven door een weefsel van bijzonderen bouw en, zooals vooral uit de onderzoekingen der laatste decennien is gebleken, van zeer bijzondere eigenschappen.

F. Schweigger-Siedel heeft in 1863 deze weefselverdichtingen van den cappillairwand „Hülsenarteriën” genoemd. In vorm gelijken zij op een ellips, terwijl zij concentrisch opgebouwd zijn uit enkele lagen van cellen.

De samenstellende deelen van een dergelijk ellipsoïde lichaam liggen niet vast aaneengesloten naast elkaar, maar, althans onder sommige om-

standigheden, bestaat er een open verbinding tusschen de omgevende pulparuimte en het lumen van het haarvat.

Verschillende bekende feiten pleiten voor deze opvatting. Zoo kan men een in de slagader ingespoten kleurstof aantoonen tusschen de elementen, welke de ellipsoïden vormen. Er zijn echter onderzoekers, die dit verschijnsel door beschadiging van den wand van het haarvat verklaard willen zien.

Ook konden in deze veronderstelde mazen roode en witte bloedlichaampjes gevonden worden.

J. W. N a c N e e ¹⁾ kon in zijn microscopische praeparaten zeer duidelijk kanaaltjes, bij sommige dieren met endothelium bekleed, waarnemen, welke kanaaltjes door de wanden van de ellipsoïden heen een verbinding tot stand brengen tusschen de pulparuimte en het inwendige der haarvaten.

Maar ook kon deze onderzoeker in microscopische praeparaten duidelijk aantoonen, dat er soms een direkte verbinding bestaat tusschen de capillaire arteriën en de uitloopers der aders, de miltsinus. M a c N e e staat dus, en met hem vele andere onderzoekers, de meening voor van een zoowel open als gesloten bloedbaan in de milt.

Mogen al de verschillende onderzoekers in bijzonderheden verschillende opvattingen hebben, zij stemmen hierin toch wel overeen, dat een tweevoudige bloedbaan mogelijk is.

Het bekende onderzoek van J. B a r c r o f t ¹⁾ is een groote steun voor deze opvatting. Bij vergiftiging met koolmonoxyde-gas bleef het bloed in de miltpulpa zoo goed als vrij van gas, wanneer het proefdier zich rustig gedroeg. Wanneer het dier echter in zijn rust gestoord werd en diens gevolg samentrekkingen van de spiervezels in en om de milt tot stand kwamen, bevatte het bloed in de miltpulpa zeer spoedig een even hoog gehalte aan koolmonoxyde als het door het overige lichaam circuleerende bloed.

Behalve dat de ellipsoïden dienen voor de verbinding tusschen bloedbaan in de gebaande wegen en bloed in de miltpulpa, kennen sommige onderzoekers hen nog een beteekenis toe van een soort klep in de bloedbaan, die de stroom van het bloed slechts in een richting toelaat. Zoo wijzen J. T a i t ²⁾ en M. F. C a s h i n op het bekende feit, dat bij inspuiten in een miltader de vloeistof niet uit de slagaders te voorschijn komt maar uit de andere opengelaten aders. Wanneer deze afgebonden worden, zwelt het orgaan wel op, maar de vloeistof komt niet of moeilijk te voorschijn uit de slagaders. Wanneer T a i t en C a s h i n oost-indi-

¹⁾ J. W. MacNee. The Lancet, 2 Mei, 1931, blz. 951.

¹⁾ J. Barcroft. Ergebnisse der Physiologie, deel 25, 1926, blz. 818.

²⁾ J. Tait en M. F. Cashin. Quarterly Journal of Experimental Physiology, deel 15, 1925, blz. 421.

schen inkt in een miltader inspoten, dan konden zij de kooldeeltjes wel in de pulparuimtes vinden, maar nooit in den wand of het lumen der ellipsoïdes. Zij besluiten, dat de ellipsoïdes als kleppen dienst doen, welke de strooming van het bloed slechts toestaan in de richting van slagader naar miltsinus en niet in omgekeerde richting. Dat men deze vormsels niet vindt bij de overgangen van slagaderlijke in aderlijke haarvaten elders in het lichaam, moet wel gezocht worden in de zoo wisselende stroomsnelheid en hoeveelheid van het bloed in de milt.

Voor Tait en Cashin hadden reeds anderen, o.a. F. M. Mall in 1902, op deze vermeende werking der ellipsoïdes gewezen.

De capillaire slagadertjes kunnen dus, door de ellipsoïdes gaande, hun bloed direct afgeven aan de capillaire uitloopers der aderen, de miltsinus. Maar ook kan het bloed, of door de openingen in den wand der ellipsoïdes of, zooals sommigen meenen, vrij uit de open capillaire arterie in de miltpulparuimte treden, van waaruit het door openingen in den wand der miltsinus weer opgenomen wordt in het aderlijke stelsel. In de schematische voorstelling der bloedbaan in de milt, welke in fig. 1 weergegeven wordt en welke overgenomen is uit het artikel van MacNee in the Lancet van 2 Mei 1931, treedt het bloed, dat in de miltpulpa beland is, niet in het aderlijke stelsel binnen door openingen in den wand der sinus, maar door openingen in den wand der vene, die reeds door Malpighi stigmata genoemd werden.

In ieder geval staat vast, dat het bloed uit de miltpulpa in de aderen kan komen. Samenvattende wat er tot nu toe gezegd is over dit vraagstuk van den bloedsomloop in de milt, is het wel zeer waarschijnlijk, dat er zoowel een open als gesloten bloedbaan in de milt bestaat.

Maar er zijn ook heden ten dage nog onderzoekers, die deze opvatting over de tweevoudige bloedbaan niet deelen.

Zoo meent C. Helly ¹⁾, dat slechts onder ziekelijke omstandigheden het bloed zijn weg kiest buiten de gebaande wegen om. Onder normale omstandigheden zou er volgens deze onderzoeker een volkomen gesloten bloedbaan in de milt voorkomen.

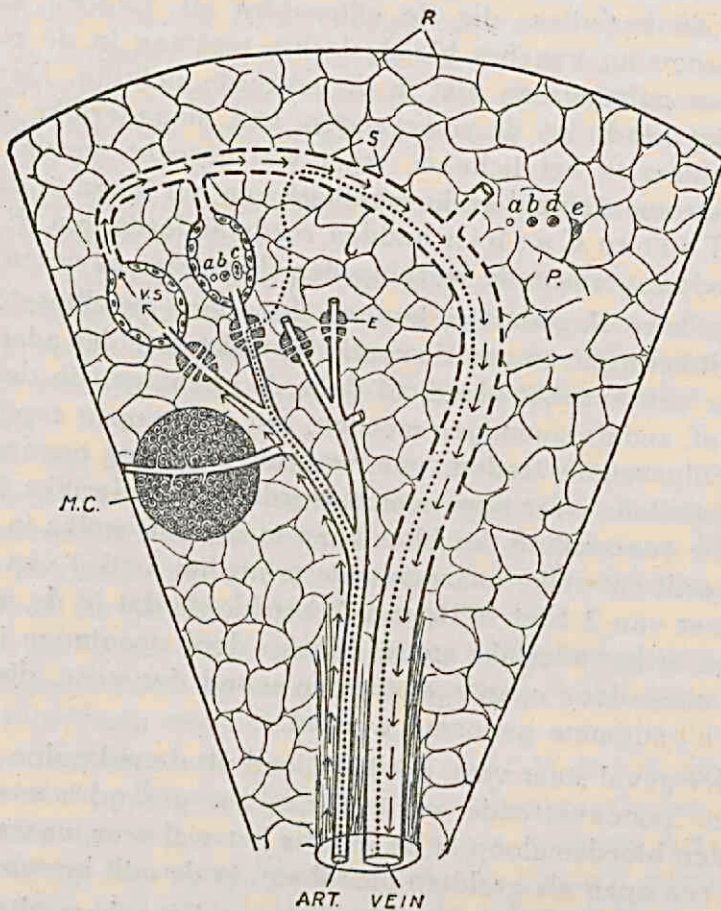
Lijnrecht tegenover hem staat Held ²⁾, die bij zijn microscopische praeparaten nooit een directe overgang van een slagaderlijk haarvat in een aderlijk kon vinden. Hij verdedigt dus de totaal open bloedbaan.

Misschien kan deze merkwaardige tegenstrijdigheid ten deele verklaard worden door de verschillende techniek, doch ook moet men niet vergeten, dat deze waarnemingen gedaan zijn bij milten van vaak zeer

¹⁾ C. Helly. Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft, 23ste Tagung, 1928, blz. 126.

²⁾ Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft, 23ste Tagung, 1928, blz. 102.

Figuur 1.



Schematische voorstelling van den bloedsomloop in de milt.
(vlgs. Mac Nee).

De door pijltjes aangegeven lijn stelt de gesloten bloedbaan voor, de door punten aangegeven lijn de open bloedbaan door de miltpulpa.

M.C., lichaampje van Malpighi; E, ellipsoïde; V.S. miltsinus; P, miltpulpa; R, reticulum; S, stigmata; a, rood bloedlichaampje; b, wit bloedlichaampje; c, endothelium-cel der miltsinus; d, lymphocyt; e, reticulumcel.

verschillende dieren. Mac Nee en M. F. Cashin vonden, dat b.v. bij visschen in den regel een open bloedbaan bestaat, terwijl bij reptielen een gesloten bloedbaan regel is.

Indien men zich echter niet doodstaart op coupes, maar ook dierproeven, zooals b.v. de reeds vermale van Barcroft in aanmerking neemt, is men toch zeer geneigd een tweevoudige bloedbaan in de milt aan te nemen.

In de pulparuimtes der milt, waardoor het bloed zich dus een weg kan kiezen vanuit het slagaderlijke stelsel naar het aderlijke, bevindt zich een merkwaardig weefsel, dat het eerst door *Atto Tigris* beschreven en later door *F. B. Mall* reticulum genoemd is geworden.

Zich hechtende aan de collagene vezels der miltbalkjes, doorkruizen de vezels van het reticulum in alle richtingen de pulparuimte, vaak als dunne draden van syncytiaal karakter, ook wel als dunne membranen. Op deze wijze worden de pulparuimtes zelf weer verdeeld in talloze zeer kleine holtes, die onderling samenhangen. De kernen der cellen van het reticulaire weefsel liggen op de knooppunten der draden, zooals in de schematische voorstelling in figuur 1 is geteekend.

Op sommige punten verdicht zich het reticulum, zooals b.v. om de lichaampjes van *Malpighi*, om de miltsinus en in de wanden der ellipsoïdes.

Het veelvuldig samengaan van een reticulum en van bepaalde cellen met sterk phagocytaire eigenschappen is reeds lang bekend. Behalve in de milt, waar deze cellen, splenocyten genoemd, in groote getale in de pulpa liggen, als het ware hun steun vindend in en liggend op het reticulum, wordt dit verschijnsel ook zeer duidelijk aangetroffen in de lymphoglandulae.

Zooals in het volgende hoofdstuk uitvoerig besproken zal worden, behoren deze cellen, met het reticulum en nog andere cellen, tot het reticulo-endotheliale stelsel, zoo genoemd door *L. Aschoff*.

Door de mazen van het reticulum, langs de splenocyten, vinden nu de lichaampjes van het bloed, dat de haarvaten verlaten heeft om in de pulparuimte te treden, hun weg naar het aderlijke stelsel, „wandering, perhaps, aimlessly, through the pathless forest”, zooals *E. B. Krumhhaar*¹⁾ het zoo schilderachtig uitdrukt.

Zooals o.a. uit de onderzoekingen van *Bancroft* en van anderen blijkt, beweegt zich het bloed, dat in de pulpaholtes tusschen de mazen van het reticulum belandt, meestal niet met dezelfde snelheid als het bloed in den overigen bloedsomloop, maar het kan er geruimen tijd, afgesloten van den gewonen bloedsomloop, blijven liggen. Men kan zich zelfs voorstellen, dat in sommige daarvoor in aanmerking komende holtes of nissen, door het reticulum gevormd, bestanddeelen uit het bloed belanden, die zij nooit meer, althans niet in hun oorspronkelijken vorm of samenstelling, verlaten.

Zoo kan men de verbetering der ziekte begrijpen, die vaak optreedt, wanneer bij malaria of syphilis de vergroote milt wordt verwijderd, nadat medicamenteuse therapie, die overigens bij deze ziektes zulk een goed gevolg kan hebben, gefaald heeft.

¹⁾ *E. B. Krumhhaar*. *Physiological Reviews*, deel 6, 1926, blz. 160.

De geneesmiddelen, die ten doel hebben met het bloed alle micro-organismes te bereiken en te doden, kunnen blijkbaar de zich in de nissen der miltpulpa bevindende micro-organismes niet bereiken.

Ongetwijfeld staan vele werkingen der milt met deze merkwaardige eigenschap van den bloedsomloop in de milt, namelijk dat allerlei bestanddeelen uit het bloed in langdurig en innig contact met de elementen der pulpa, in het bijzonder met phagocyteerende splenocyten, kunnen komen, in nauw verband.

Werkingen der milt.

Schijnbaar zonder schade voor de gezondheid verdragen menschen en vele dieren het wegnemen van de milt; van deze omstandigheid is zeer veelvuldig gebruik gemaakt bij de bestudeering der werkingen van de milt.

Men dient zich echter, wanneer men zich van deze wijze van onderzoek bedient, bij het maken van gevolgtrekkingen er rekenschap van te geven, dat eveneens andere organen vrijwel alle werkingen, die men aan de milt toekent, bezitten of dat deze werkingen zeer spoedig na het wegnemen der milt door andere organen kunnen worden overgenomen. Hieraan is het wellicht o.a. te wijten, dat over de veranderingen, welke optreden in de normale levensverrichtingen na het wegnemen der milt, zooveel verschillende en tegenstrijdige meeningen bestaan.

Een tweede wijze van onderzoek, waarbij men de samenstelling van het bloed uit de miltader vergelijkt met het bloed, dat naar de milt stroomt, is aan minder bedenkingen onderhevig; vooral wanneer een stof, die vóór het binnentreden in de milt niet aanwezig was, aangetoond kan worden. Maar wanneer men tot een werking der milt besluit door vergelijking der hoeveelheid van b.v. de bloedlichaampjes in het bloed der miltader met de hoeveelheid in het bloed, dat nog door de milt stroomen moet, dient men te denken aan de eigenschap der milt van reservoir. Het reservoir, dat onder invloed van verschillende factoren nu eens zijn voorraad aan het door de milt stroomende bloed afstaat, dan weer zijn kas-tekort aanvult uit de passerende bloed, bezit in zijn reserve-depôts bloed van waarschijnlijk een andere samenstelling dan het stroomende bloed, zonder dat daarbij andere dan mechanische factoren in het spel behoeven te zijn.

Deze eigenschap der milt van bloedreservoir staat wel vast, vooral sedert het bekende onderzoek van J. Barcroft.¹⁾ Sinds in 1854 reeds door H. Gray er op gewezen was, dat de milt de hoeveelheid en hoedanigheid van het bloed regelt, zijn verscheidene onderzoeken op dit gebied verricht, waarvan het onderzoek van Barcroft en mede-

¹⁾ J. Barcroft. *Ergebnisse der Physiologie*. deel 25, 1926, blz. 818.

werkers toch wel het volledigste en minst aanvechtbare is. Bij zijn proeven op konijnen, katten en honden bevestigd deze onderzoeker aan de randen der milt metalen klemmen, welke door middel van Röntgenstralen de wisselende grootte van het orgaan onder invloed van verschillende factoren onmiskenbaar aantoonde. Ook maakte bij de milt door een celluloid-venster in den buikwand zichtbaar, terwijl de wisseling der grootte der milt eveneens nagegaan is bij honden, waar de milt buiten het lichaam, maar met intacte vaat- en zenuwverbindingen, was gebracht.

Het bleek o.a., dat de milt van een kat bij snelle verbloeding tot $\frac{1}{6}$ van haar oorspronkelijke grootte samentrekt. Ook bij inspanning, zuurstofgebrek of koolmonoxyd-vergiftiging vindt samentrekking der milt plaats. Deze samentrekking staat zonder twijfel grootendeels onder nerveuzen invloed.

Nu is deze sterke samentrekking der milt, die men bij de proefdieren heeft waargenomen, niet zonder meer te vergelijken met de samentrekking der menschelijke milt. Deze bezit slechts in de miltbalkjes spiervezels, terwijl in de miltkapsel van b.v. de hond veel spiervezels voorkomen. Ook is de milt zeer zeker niet het eenige bloedreservoir, waarover het lichaam kan beschikken; het poortader-gebied met zijn wijde aders heeft in dit opzicht ook eenige beteekenis.

In den doolhof der pulparuimtes in de milt zijn de bestanddeelen van het bloed in langdurig en innig contact met de cellen van de milt en met de stoffen, welke deze afscheiden.

In het bijzonder voor de roode bloedlichaampjes heeft dit oponthoud in de milt groote beteekenis. Vooral de oudere, minder weerstandskrachtige onder hen worden, zooals men thans algemeen aanneemt, door de milt vernietigd. Reeds in 1847 wezen A. E c k e r en A. K ö l l i k e r ¹⁾ op deze eigenschap der milt. Er zijn verschillende verschijnselen, welke het waarschijnlijk maken, dat roode bloedlichaampjes in de milt vernietigd kunnen worden. Zoo heeft men in de phagocyteerende cellen der milt roode bloedlichaampjes of brokstukken ervan gevonden. Ook bevat de milt een betrekkelijk hoog gehalte aan ijzer. Dat de roode bloedlichaampjes in de miltader een verminderden weerstand bezitten tegen hypotonische zoutoplossingen en dat na het wegnemen der milt de weerstand der roode bloedlichaampjes tegenover hypotonische zoutoplossingen versterkt is, pleit eveneens voor een beschadigende werking der milt op de roode bloedlichaampjes. Of de milt bij het aantasten der erythrocyten selectief te werk gaat en alleen de versleten bloedlichaampjes uitzoekt, of dat zij alle erythrocyten een krachtproef doet

¹⁾ geciteerd vlg. J. Tait en M. F. Cashin. Quarterly Journal of Experimental Physiology, deel 15, 1925, blz. 421.

ondergaan, waarbij alleen de sterkste heelhuidsche ontsnappen, is een nog onuitgemaakte zaak.

Een belangrijke steun, ja een zeker bewijs voor de vernieling der roode bloedlichaampjes in de milt, is toch wel het onderzoek van A. A. H ij m a n s v a n d e n B e r g h, waarbij hij bilirubine in de miltader kon aantoonen. Sedert is deze waarneming herhaalde malen gedaan. Zoo bericht O. N a e g e l i, ¹⁾ dat hij bij vrijwel alle onderzoeken van het bloed uit de miltader bilirubine kon aantoonen.

Zeër zeker is de milt niet het eenige orgaan, waar de vernieling der roode bloedlichaampjes plaats vindt, maar onder bepaalde ziekelijke omstandigheden kan haar beteekenis in dit opzicht toenemen. Zoo wijst het gunstige gevolg van het wegnemen der milt bij haemolytischen icterus, een ziekte, die o.a. met versterkte vernieling van erythrocyten gepaard gaat, wel op de belangrijke, overwegende rol, die de milt in dit opzicht speelt.

In nauw verband met de vernietigende werking op roode bloedlichaampjes staat de stofwisseling van het ijzer. Vooral door L. A s h e r en medewerkers ²⁾ wordt aan de milt een regelende werking bij de ijzerstofwisseling toegekend. Bij honden konden zij na het wegnemen der milt een versterkt afscheiden van ijzer vaststellen. Zij stellen zich voor, dat de milt het bij de vernieling der roode bloedlichaampjes vrijgekomen ijzer vastlegt en voor het lichaam behoudt. Maar ook in dit opzicht is weer gebleken, dat niet alleen de milt deze eigenschap bezit, maar dat andere organen, met name de lever, deze werking, soms zelfs in grootere mate, bezitten. Men is geneigd aan te nemen, dat ook hier het reeds vermelde reticulo-endotheliale stelsel een belangrijke rol speelt. Deze zelfde reticulo-endotheliale elementen in de milt moeten ook waarschijnlijk verantwoordelijk gesteld worden voor de werkingen, die men aan de milt bij de verdediging tegen besmettingen en het vormen van afweerstoffen toekent. Reeds lang was het bekend, dat micro-organismen, in de bloedbaan gebracht, voor een groot deel in de milt teruggevonden worden maar ook in andere organen, welke rijk aan reticulo-endotheliale elementen zijn.

Na het wegnemen der milt is volgens vele onderzoekers de weerstand tegen sommige besmettingen verminderd en eveneens de vorming van afweerstoffen afgenomen. Zoo zegt W. K i k u t h ³⁾ in een uitgebreid overzicht over de beteekenis van de milt als beschuttend orgaan

¹⁾ Naegeli, Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft, 23ste Tagung. 1928, blz. 43.

²⁾ L. Asher en H. Grossebacher. Biochemische Zeitschrift. deel 17, 1909, blz. 78. F. Neuenschwander, ibidem, deel 190. 1927, blz. 465. R. Kalbermatten, ibidem. deel 226, 1930, blz. 429.

³⁾ W. Kikuth. Klinische Wochenschrift, deel 6, 1927, blz. 406.

tegen besmettingen: „Das Vorhandensein der Milz genügte die Infektion zum Erlöschen zu bringen, die Extirpation bewirkte eine tödliche Erkrankung.”

Deze apodictische uitspraak geldt zeker niet onder alle omstandigheden en bij alle besmettingen. Vele onderzoekingen wijzen er echter op, dat zij wel een kern van waarheid bezit.

De vorming der afweerstoffen is na het wegnemen der milt vaak verminderd. Zoo vonden A. Luckhardt en F. C. Becht ¹⁾ dat de vorming van haemolysines, haemo-agglutinines en haemo-opsonines bij een hond na het wegnemen der milt afgenomen is.

De onderzoekingen uit den laatsten tijd over dit onderwerp tezamen-vattende, komt P a s c h k i ²⁾ tot het besluit, dat: „man das Retikulo-endothel als das immunkörperbildende Gewebe zu bezeichnen hat und das hierbei das Milzretikulo-endothel weitaus im Vordergrund steht.”

De ligging van de milt in de onmiddellijke nabijheid der spijsverteringsorganen heeft van oudsher het vermoeden van het bestaan van een samenhang doen rijzen. Ook het verschijnsel, dat de milt gedurende de spijsvertering in volume toeneemt, droeg er toe bij een verband te zoeken.

De, nu verouderde, theoriën over dezen samenhang zijn vele. Tegenwoordig neemt men echter aan, dat er geen duidelijk verband bestaat. Deze meening moge zijn uitdrukking vinden in de woorden, waarmede W. M o l l o w zijn mededeeling over de zeer uitgebreide proeven met maag- en duodenumfistels bij honden besluit: „Meine mit vollkommenster Methodik ausgeführten Versuche haben also durchaus keinen Einfluss der Milz auf die Verdauungsorgane erkennen lassen.”³⁾

Als klier met inwendige afscheiding, of misschien op andere wijze, staat de milt in verband met de werkingen van het beenmerg. Volgens H. H i r s c h f e l d oefent zij een remmenden invloed op de bloedvormende werking van het beenmerg. Zeer zeker worden na het wegnemen der milt verschijnselen waargenomen, welke wijzen op versterkte bloedvorming. O. N a e g e l i is eveneens met groote beslistheid de meening toegedaan, dat de milt langs hormonalen weg de bloedvorming in het beenmerg remt.

L. A s h e r meent, dat de milt de stofwisselings-processen remt en zich hierbij als een antagonist van de schildklier gedraagt. Zoo verklaart hij het, dat na het wegnemen der milt bij ratten de grondstofwisseling is toegenomen.

¹⁾ geciteerd vlgs. E. B. K r u m b h a a r. Physiological Reviews, deel 6, 1926, blz. 160.

²⁾ geciteerd vlgs. H. R a u t m a n n. Deutsche Medizinische Wochenschrift, deel 52, 1926, blz. 964.

³⁾ W. M o l l o w. Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 117, 1921, blz. 218.

Een merkwaardig licht op de beschuttende werking der milt werpt haar houding bij den groei van kwaadaardige gezwellen. Opmerkelijk is het, dat zoo zelden deze gezwellen in de milt worden aangetroffen. Daarnaast meent men te hebben opgemerkt, zooals nog onlangs door J. W. M c N e e ¹⁾ werd medegedeeld, dat na het wegnemen der milt in verhouding meer kwaadaardige gezwellen voorkomen, dan bij aanwezigheid der milt. M c N e e deelt twee gevallen mede van het ontstaan van een kanker-gezwel bij nog jonge menschen, betrekkelijk korten tijd na het wegnemen der milt. Ook is het bekend dat overplantingen van rattensarkoom niet zoo goed of in het geheel niet gelukken, wanneer deze tegelijk met een stuk milt geschieden.

Nog één onderzoek, over de eigenschappen der milt wil ik vermelden, niet omdat dit opzichzelf zoo belangrijk is, maar omdat het een steun is voor de reeds in de inleiding vermelde meening van K. M i t s u b a, over de vernietigende werking der milt op rotting-producten uit het darmkanaal. D e l a u n a y en S é r é g é ²⁾ vonden het gehalte van het miltaderbloed aan amino-stikstof geringer, dan in het bloed, dat naar de milt gevoerd wordt.

In de milt vindt dus, volgens dit onderzoek, een vernieling van aminozuren en polypeptides plaats.

¹⁾ J. W. M c N e e. The Lancet, 9 Mei 1931, blz. 1009.

²⁾ geciteerd vlgs. H. R a u t m a n. Deutsche Medizinische Wochenschrift, deel 152, 1926, blz. 964.

HOOFDSTUK II.

HET RETICULO-ENDOTHELIALE STELSEL.

L. A s c h o f f en M. L a n d a u voegden in 1913 bepaalde groepen van cellen, die door het geheele lichaam verspreid voorkomen, samen onder den naam van het „reticulo-endotheliale stelsel”. Zij deden dit op grond van vroegere waarnemingen door anderen op dit gebied gedaan en op grond van eigen onderzoek.

Historisch overzicht.

Reeds in 1890 wees L. R a n v i e r ¹⁾ op het bestaan van bepaalde groote cellen van onregelmatigen vorm, met ovale kern en gekorrelt protoplasma, welke in los verband in het bindweefsel, in het bijzonder in het omentum, gelegen zijn. Hij noemde deze cellen „clasmatocten” en kende hen sterk phagocyttaire eigenschappen toe. Ook zouden zij dienen als vervoermiddel van voedingsstoffen. Naar zijn meening waren het in vorm en eigenschappen veranderde witte bloedlichaampjes.

E. M e t s c h n i k o f f ²⁾ kwam in 1892 met zijn mededeeling over het stelsel der macrophagen. Daaronder vatte hij samen de stercellen van K u p f f e r in de lever, groote cellen uit miltpulpa en lymfklieren, neuroglia cellen en de monocytten uit het stroomende bloed. Deze cellen vertoonen sterk phagocyttaire eigenschappen. E. M e t s c h n i k o f f erkende hun beteekenis bij ontsteking en besmetting, bij het ontstaan van immuniteit en bij de vorming van haemolysines en agglutinines. Wij zien dus, dat eigenlijk E. M e t s c h n i k o f f de eerste is geweest, die,

¹⁾ L. R a n v i e r. Comptes rendues de l'Academie des sciences, deel 120, 1891, blz. 822.

²⁾ E. M e t s c h n i k o f f. Lecons sur la pathologie comparée de l'inflammation, Paris, 1892.

hoewel niet zoo scherp omschreven als L. Aschoff dit deed, overal in het lichaam verbreide cellen op grond van overeenkomende eigenschappen samenvoegde onder den naam van het macrophagen-stelsel.

Van zeer groote beteekenis is het, dat F. Marchand ¹⁾ in 1897, in afwijking van de opvatting van L. Ranvier, aantoonde, dat de clasmatocten van Ranvier wat betreft hun afkomst tot het bindweefsel behooren en geen veranderde leucocyten zijn, zooals Ranvier betoogde. F. Marchand toonde eveneens aan, dat zij bij ontsteking over kunnen gaan in de macrophagen van Metschnikoff. Ook zouden zij het vermogen hebben, zich te veranderen in vorm en dan op witte bloedlichaampjes te gelijken, terwijl zij ook in het stroomende bloed zouden kunnen overgaan.

Echter eerst met H. Ribbert's onderzoek ²⁾ over de verdeeling van lithiumcarmijn in het lichaam is de grondslag gelegd voor een juiste omschrijving van het stelsel, dat in 1913 door L. Aschoff en Landau samengevat zou worden onder den naam van het reticulo-endotheliale stelsel. H. Ribbert kon aantoonen, dat na inspuiten van lithiumcarmijn, dit hoofdzakelijk teruggevonden werd in bepaalde cellen, met name in de endotheel- en reticulumcellen van milt, beenmerg en lymphklieren, in de reticulumcellen van de thymus en in de stercellen van Kupffer van de lever. Bij andere cellen in het lichaam werd deze belading met kleurstof niet of in veel mindere mate waargenomen. Het kenmerkende van de uitkomsten van Ribbert's onderzoek is, dat een in het levende lichaam ingespoten kleurstofoplossing in den vorm van kleine neerslagdeeltjes door de hierboven genoemde groep van cellen wordt vastgelegd. Ribbert wees ook op het vermogen van deze cellen om niet alleen lithiumcarmijn, maar ook ijzer bevattende kleurstof en vetdeeltjes in zich op te nemen.

Het is de groote verdienste van E. E. Goldman ³⁾ dat hij met behulp van kleuring gedurende het leven met kort te voren door W. Ehrlich ontdekte aniline-kleurstoffen, in 1909 aantoonde, dat onder de cellen, die zoo gretig kleurstoffen in zich opnamen, ook gerekend moeten worden de clasmatocten van Ranvier, de macrophagen van Metschnikoff en ook de cellen, die Marchand beschreven had.

De uitkomsten van E. E. Goldman en H. Ribbert vonden hun bevestiging in het uitgebreide onderzoek, dat verricht werd door een leerling van Aschoff, K. Kiyono, die vooral de verwantschap van de monocytten in het bloed met de overige cellen, die zoo duidelijk het opnemen van kleurstof laten zien, verdedigde.

¹⁾ F. Marchand. Verhandlungen der deutschen pathologischen Gesellschaft, deel 4, 1901, blz. 124.

²⁾ H. Ribbert. Zeitschrift für Physiologie, deel 5, blz. 201, 1904.

³⁾ E. E. Goldman. Beiträge zur klinischen Chirurgie, deel 64, 1909, blz. 192.

Omschrijving van het begrip „reticulo-endotheliale stelsel”.

Op grond van de beschreven onderzoeken en op grond van eigen onderzoek, werd door L. A s c h o f f en M. L a n d a u vastgesteld, dat een ingespoten kleurstofoplossing regelmatig in bepaalde groepen van cellen van mesenchymale afkomst neergeslagen en vastgelegd wordt, welke groepen van cellen zich door deze eigenschap als een in dit opzicht physiologisch bijeenhoorend stelsel kenmerken.

De volgende, afhankelijk van de hoeveelheid en grootte der neergeslagen kleurstofdeeltjes opklimmende reeks laat zich opstellen:

1. endotheelcellen van bloed- en lymphvaten.
2. fibrocyten of gewone bindweefselcellen.
3. reticulumcellen van miltpulpa en lymphklieren.
4. reticulo-endotheelcellen van de lymphsinus der lymphklieren, van de sinus der milt, van de capillairen der leverlapjes (stercellen van K u p f f e r) van de capillairen van beenmerg, bijnierschors en hypophyse.
5. histiocyten, de bewegelijke, van plaats kunnende veranderen, cellen in het bindweefsel.
6. splenocyten der miltpulpa en de kleurstofopnemen-
de monoccyten uit het bloed, welke afkomstig zijn
van groepen 4 en 5.

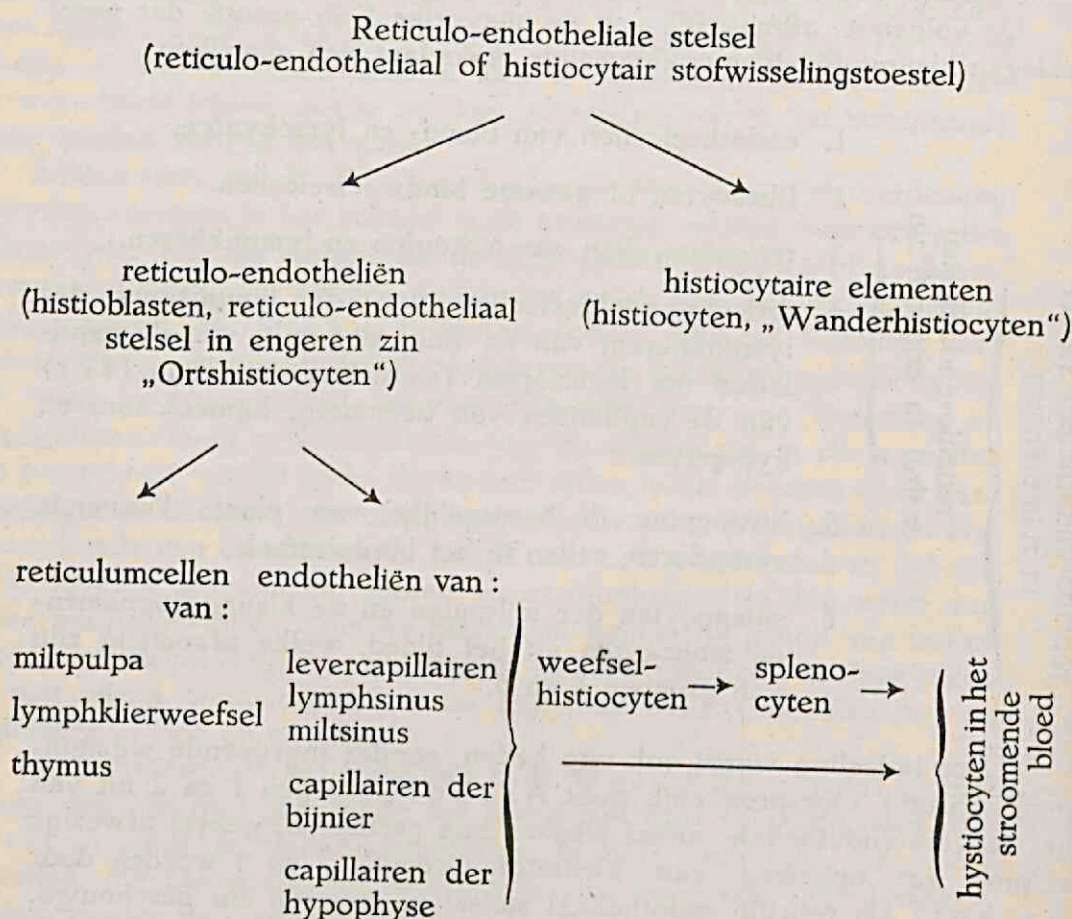
reticulo-endotheliale stelsel
in ruimeren zin

reticulo-endotheliale
stelsel in engeren zin

Deze indeeling wordt ook nog heden, zonder ingrijpende wijzigingen, gebruikt. Oorspronkelijk sloot A s c h o f f groepen 1 en 2 uit van het reticulo-endotheliale stelsel wegens hun geringe of geheel afwezige neiging tot opnemen van kleurstof. Groepen 3 en 4 worden door A s c h o f f als reticulo-endotheliale stelsel in engeren zin beschouwd. Bij deze cellen sluiten zich de, niet aan een bepaalde plaats gebonden, elementen uit groepen 5 en 6 aan.

K. K i y o n o, een leerling van A s c h o f f, heeft de cellen uit groepen 3 en 4 histioblasten genoemd in verband met hun eigenschap over te kunnen gaan in cellen, welke op histiocyten uit groepen 5 en 6 gelijken. Groepen 5 en 6 werden door K i y o n o histiocyttaire elementen genoemd. Tot deze behooren de cellen, die los in het bindweefsel of in het stroomende bloed gelegen, niet aan een bepaalde plaats gebonden zijnde, de eigenschap van opnemen van kleurstof in even sterke mate laten zien als de cellen uit groepen 3 en 4.

S. Gräff heeft de reticulo-endotheliale cellen uit groepen 3 en 4 dan ook „Ortshistiocyten” genoemd in tegenstelling tot de cellen uit groepen 5 en 6 de „Wanderhistiocyten”. In 1926 geeft Aschoff in een overzichtsbeschouwing over het reticulo-endotheliale stelsel het volgende schema:



Deze indeeling is dus voornamelijk gegrond op het meer of minder duidelijk aan den dag treden van het neerslaan van een opgeloste kleur-stof in het protoplasma en zoo is een bepaalde groep van cellen in het lichaam verzameld onder den naam van het reticulo-endotheliale stelsel. Het is daarom van belang eens na te gaan, welke invloeden zich bij dit opnemen van kleurstof doen gelden en welke processen zich hierbij afspelen.

De „vitale kleuring” van het reticulo-endotheliale stelsel.

Hoewel men er in het algemeen naar streven moet, uitheemsche en vreemde woorden zoo veel mogelijk bij het gebruik van onze Nederlandsche taal te vermijden, is men toch wel eens genoodzaakt een dergelijk vreemd woord te gebruiken teneinde misverstand te voorkomen. Zoo zou het woord „vitale kleuring” zeer zeker in goed Hollandsch luiden: „kleuring gedurende het leven.” Toch zou deze omschrijving niet ten goede komen aan de duidelijkheid van de voorstelling, die men zich omtrent de „vitale kleuring” gevormd heeft. Wil men echter niet alleen het woord in goed Hollandsch vertalen, maar ook het begrip der „vitale kleuring” omschrijven, dan zou men moeten spreken van: „kleuring gedurende het leven van het organisme.” Maar ook deze wijze van voorstellen is in vele opzichten onvolledig.

Bijvoorbeeld zegt het levend zijn van het organisme nog niets omtrent den toestand van leven of dood van weefsels of cellen. Eveneens geeft het microscopische beeld, dat wij na het kleuren gedurende het leven bekijken, ons niet een juist indruk omtrent den toestand van weefsels of cellen, zooals die vóór het kleuren gedurende het leven was. In de eerste plaats is het bij werveldieren niet doenlijk, het proces van kleuren gedurende het leven stap voor stap te onderzoeken, iets wat gemakkelijker is bij plantaardige en lagere dierlijke organismen. Dan toch kan men onderscheiden of gekleurde vormsels in weefsels of cellen gedurende het leven al bestonden of dat het kunstproducten zijn. Ten tweede lokt het indringen in een cel van een kleurstof, een vreemd voorwerp dus, een reactie uit, die onder normale omstandigheden niet voorkomt, terwijl de kleurstoffen, die in levende cellen dringen, deze in mindere of meerdere mate beschadigen. Daar de grens tusschen leven en dood, tusschen „vitale” en „postvitale” kleuring niet scherp te trekken is, verdient het voorkeur een omschrijving voor „vitale kleuring” te kiezen, die zich slechts bepaalt tot den toestand van het organisme, dat de bewerking ondergaat. Iets vollediger zou de omschrijving van „vitale kleuring” kunnen worden, wanneer deze alleen betrekking heeft op lagere organismen waar het proces van kleuren gedurende het leven waargenomen en gevolgd kan worden.

Van de kleurstoffen, die bij de „vitale kleuring” van de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel gebruikt zijn, mogen o.a. pyrrolblauw, trypaanrood, lithiumcarmijn, isaminblauw en trypaanblauw genoemd worden, welke alle tot de zure, colloïdaal opgeloste kleurstoffen behooren. Wanneer men gedurende het leven echter inplaats van kleurstoffen colloïdale oplossingen van een metaal of koolstof in aanraking brengt met de cellen van het organisme, dan worden uit deze oplossingen metaal- of koolstofdeeltjes in vrijwel dezelfde cellen in het lichaam neergeslagen

waar ook de kleurstoffen opgestapeld worden, met andere woorden in de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel.

De elementen van het reticulo-endotheliale stelsel worden echter niet ten allen tijde en onder alle omstandigheden bij de „vitale kleuring” met een en dezelfde kleurstof op dezelfde wijze aangetoond. Verschillende factoren oefenen daarbij hun invloed, zoodat nu eens deze, dan weer andere gedeeltes van het reticulo-endotheliale stelsel op den voorgrond treden bij het neerslaan van b.v. kleurdeeltjes.

Zoo trof het reeds E. E. Goldman dat gedurende de spijsvertering de naburige elementen van het reticulo-endotheliale stelsel bij het inspuiten van kleurstof in het levende organisme veel duidelijker te voorschijn kwamen dan tijdens de rustperiode van de spijsverteringsorganen. M. H. Kuczynski¹⁾ kon aantoonen, dat dit duidelijker worden van deze cellen veroorzaakt wordt door de verhoogde werkzaamheid van de reticulo-endotheliale elementen. W. von Möllendorff verklaart dit verschijnsel op deze wijze: „die stärkere Speicherung an Orten erhöhten Stoffwechsels erklärt sich durch die Steigerung des Blutumlaufes und die wahrscheinlich erhöhte Gefäßdurchlässigkeit.”

Wanneer op een bepaalde plaats in het lichaam een arterieele hyperaemie te weeg wordt gebracht, ziet men op deze plaats een meer dan normale ophooping bij „vitale kleuring”. (N. Anitschkow.)²⁾

Wij zien dus dat de functietoestand en bloedvoorziening van de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel van grooten invloed zijn op de ophooping van kleurstof bij „vitale kleuring”.

Daarnaast is ook geenszins onverschillig op welke wijze de kleurstof toegediend wordt; de verdeeling van de ophooping der kleurstof in de reticulo-endotheliale elementen kan ook van de wijze van toedienen afhankelijk zijn.

Bij insputting onder de huid bereiken die colloïdale kleurstofoplossingen welke gemakkelijk diffundeeren, toch wel de reticulo-endotheliale cellen ver van de plaats van insputting en worden daar opgehoopt. Anders is het gesteld met de colloïdale oplossingen van kleurstoffen en meer in het bijzonder van metaal of koolstof, die meer het karakter van een suspensie bezitten. Deze worden bij insputting onder de huid zoo goed als geheel ter plaatse of zeer weinig in de omgeving neergeslagen, bereiken dus niet de reticulo-endotheliale cellen, die door het geheele lichaam verspreid liggen.

Bij een insputting in een ader verdwijnt de colloïdale oplossing van kleurstof of metaal na $\frac{1}{2}$ tot 2 uur uit het stroomende bloed en dringt voor een gedeelte in de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel, waar

¹⁾ M. H. Kuczynski. Virchows Archiv, deel 239, 1922, blz. 185.

²⁾ N. Anitschkow. Klinische Wochenschrift, deel 38, 1924, blz. 1729.

zij na eenigen tijd in den vorm van „granula” wordt opgehoopt, voor een ander deel wordt zij afgescheiden door nieren, lever of darm.

Wordt echter colloïdale koolstofoplossing, waarvan de deeltjes grooter zijn dan van de voornoemde colloïdale oplossingen, in een ader ingespoten, dan verdwijnt zij zeer spoedig, na enkele minuten reeds, uit het stroomende bloed in de reticulo-endotheliale cellen.

De opgehoopte kleurstoffen blijven niet voorgoed in de cellen liggen, maar worden in den loop der tijden afgescheiden door de nieren. Anders staat het met koolstof, die in de cellen ook niet chemisch aangetast kan worden. De kooldeeltjes blijven jarenlang, zoo niet op dezelfde plaats, dan toch in het omgevende weefsel liggen. Hiervan heb ik mij bij mijn proefnemingen kunnen overtuigen, zooals blijkt uit onderzoek No. 8 (zie blz. 87).

Bij één en dezelfde wijze van toedienen gedragen zich niet alle stoffen, die door het reticulo-endotheel opgehoopt worden, gelijk. Afhankelijk van chemische samenstelling en aard van oplossing van de stof kan het volgende algemeene schema in verband met opnemen, ophoopen en afscheiden gegeven worden:

1. Gemakkelijk diffundeerende kleurstoffen, die in hun aard van oplossing op elektrolyten gelijken, worden zeer snel door de weefsels opgenomen, echter niet in de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel opgehoopt en ook weer snel afgescheiden.

2. Zeer moeilijk diffundeerende kleurstoffen of andere stoffen, die in aard van oplossing op colloïden gelijken, verspreiden zich niet in alle weefsels en worden, afhankelijk van de wijze van toedienen, door de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel, waarmede zij in aanraking komen, opgenomen en opgehoopt. Praktisch worden deze stoffen niet uit het lichaam afgescheiden.

3. Tusschen deze beide in staan de zoogenaamde semi-colloïden, waartoe ook de meeste zure kleurstoffen behooren, die bij de „vitale kleuring” gebruikt worden. Deze stoffen staan wat betreft den aard van oplossing in tusschen elektrolyten en colloïden. Zij worden, zooals reeds vermeld, door het reticulo-endotheel opgenomen en opgehoopt en na langen tijd afgescheiden. Dat bij deze semi-colloïden ook verschillen bestaan in snelheid in diffundeeren en grootte der deeltjes, spreekt vanzelf en eveneens, dat dit verschillend physisch gedrag van invloed is op den graad van verdeeling en ophoopen der kleurstof.

Zooals bij deze indeeling reeds vermeld wordt, is het vermogen van de oplossingen van kleurstoffen of andere stoffen, die door het reticulo-endotheliale stelsel worden opgenomen, om sneller of minder snel te diffundeeren, een factor bij de verdeeling en duur der ophooping. Be-

halve misschien de onder 1 genoemde, hebben zij echter geen invloed op het proces van het ophoopen zelf.

Een merkwaardig feit is het, dat stoffen, uit een chemisch oogpunt van zoo geheel verschillenden aard, zooals zure kleurstoffen, metaal- en kooldeeltjes, bacillen, roode bloedlichaampjes en vetdruppeltjes alle door de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel opgehoopt worden. Een chemische affiniteit is wel niet aan te nemen.

W. Sch u l e m a n n ¹⁾ heeft de merkwaardige ontdekking gedaan, dat al deze stoffen, in een elektrisch veld gebracht, naar de anode gaan, dus een negatieve elektrische lading bezitten. De cellen van het reticulo-endotheliale stelsel bezitten ten opzichte van deze chemisch zoo verschillende stoffen een positieve elektrische lading, waardoor de stoffen aangetrokken worden en bijvoorbeeld door phagocytose opgenomen en opgehoopt worden.

Dat in het algemeen de elektrische lading van stoffen, cellen en celbestanddeelen een belangrijke rol speelt bij de verdeling en het transport van stoffen door het lichaam, blijkt wel uit de uitgebreide onderzoeken van R. K e l l e r en J. G i c k l h o r n ²⁾, die in de laatste jaren verricht zijn.

Een algemeene eigenschap van de reticulo-endotheliale elementen, namelijk dat zij negatief geladen deeltjes aantrekken, hebben wij hiermede leeren kennen. Hoe echter het opnemen en ophoopen in zijn werk gaat, wordt hierdoor nog niet verklaard.

Dat het verschijnsel van de „Speicherung” niet verklaard kan worden door diffusie of osmose-processen alleen, staat wel vast. Volgens W. S c h u l e m a n n en anderen, o.a. H. S i e g m u n d zijn het veranderingen in oppervlaktespanningen, die tenslotte het indringen van amikronen, submikronen en suspensies bewerken. H. S i e g m u n d ³⁾ schrijft hierover: „Der Speichervorgang ist ein Effekt von Oberflächenwirkungen und rein physisch-chemikalisch zu verstehen. Damit hängt es auch zusammen dasz grobdisperse Phasen von plasmareicher (oberflächenaktiven) Elementen leichter und umfangreicher gespeichert werden.”

Nu wordt tusschen het opnemen en ophoopen van semi-colloïdale oplossingen en van suspensies vaak een onderscheid gemaakt. W. v o n M ö l l e n d o r f zegt, dat het opnemen van semi-colloïden, zooals de kleurstoffen zijn, een physisch proces is, terwijl het opnemen van grotere deeltjes, zooals bacteriën of roode bloedlichaampjes een biologisch proces is, dat van oudsher de naam van phagocytose draagt.

¹⁾ W. S c h u l e m a n n. Biochemische Zeitschrift, deel 80, 1917, blz. 1.

²⁾ R. K e l l e r. Ergebnisse der Physiologie, deel 30, 1930, blz. 294. J. G i c k l h o r n. Ergebnisse der Physiologie, deel 31, 1931, blz. 388.

³⁾ H. S i e g m u n d. Klinische Wochenschrift, deel 1, 1922, blz. 2566.

In het licht van onderzoeken uit de laatste jaren gezien, is het echter zeer de vraag, of er tusschen het in de cellen opnemen van semi-colloiden en suspensies wel een groot verschil bestaat. In hun physische eigenschappen bestaat er tusschen deze stoffen toch ook maar een geleidelijk verschil. Om zooals von Möllendorff doet, in het lichaam een biologisch proces tegenover een physisch proces te plaatsen, is in dit opzicht ook niet juist. Het één is zonder het ander niet denkbaar.

Volgens de onderzoeken van Rumbler en Jennings ¹⁾ wordt het verschijnsel van de phagocytose bij eencellige organismen teruggebracht tot plaatselijke verschillen in oppervlaktespanning op de grens van cel en omgeving. In overeenstemming met deze waarneming heeft N. Okuneff ²⁾ onderzoeken verricht over den invloed die semicolloiden, zcoals de kleurstoffen welke bij de „vitale kleuring” gebruikt worden, en suspensies b.v. van bacterien, hebben op de oppervlaktespanning op de grensvlakten tusschen water en benzol en tusschen water en olijfolie.

Hij vond, dat deze stoffen zich op de grensvlakten verzamelen en daar de oppervlaktespanning verlagen. In overeenstemming met de reeds door Schulemann geuite meening, besluit hij, dat er tusschen opnemen van kleurstoffen en phagocytose slechts een gradueel onderscheid bestaat, en dat aan beide hetzelfde physisch-chemische proces ten grondslag ligt. Deze meening wordt door vele andere gezaghebbenden op dit gebied gedeeld, o.a. door F. Standenath en W. von Giza. C. W. Jungbluth ³⁾ zegt bijvoorbeeld: „In Anbetracht der Tatsache, dass die moderneren Anschauungen die chemotaktische Attraktion von Bakterien, sowie das schliessliche Eindringen von Mikroorganismen in das Zellinnere der phagocytären Zellen auf physikalisch-chemische Kräfte, speziell Veränderungen der Oberflächenspannung, zurückführen, dürfte kein Grund vorliegen, einen prinzipiell gesonderten Mechanismus für den Vorgang der Speicherung von Kolloiden und die Phagocytose von Bakterien oder gröberen corpusculären Elementen anzunehmen.”

Door de kleurstoffen of andere niet in het lichaam thuis behoorende stoffen, die in de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel worden opgenomen en opgehoopt, wordt naar alle waarschijnlijkheid een invloed geoefend op de verrichtingen van die cellen. Uitgaande van deze gedachte heeft men getracht het reticulo-endotheliale stelsel te beladen met een niet in het lichaam thuis behoorende stof en daardoor in een of ander richting invloed te oefenen op de verrichtingen van de reticulo-

¹⁾ Geciteerd volgens N. Okuneff (zie 2).

²⁾ N. Okuneff. Biochemische Zeitschrift, deel 195, 1928, blz. 28.

³⁾ C. W. Jungbluth. Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie, deel 11 1930, blz. 1.

endotheliale elementen. Vóór en na deze belading wordt een bepaalde levensverrichting nagegaan en op deze wijze kan men een indruk krijgen, of het reticulo-endotheliale stelsel daarbij een rol speelt.

De „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel.

G. L e p h e n e is wel een van de eersten geweest, die bij zijn zoeken naar het ontstaan van de geelzucht, de belading met dit doel heeft toegepast. Hij veronderstelde, dat de verrichtingen van het reticulo-endotheliale stelsel na deze „blokkade” opgeheven of althans verminderd zouden zijn. Vele waarnemingen wijzen erop, dat in het bijzonder de phagocytose na de blokkade opgeheven of verminderd is. Men kan zich voorstellen, dat de cellen zoo vol zijn met kleurstof- of metaaldeeltjes, dat er geen plaats meer is voor andere stoffen, die onder normale omstandigheden wel zouden opgenomen worden. Dat de zaak echter niet altijd zoo eenvoudig is, blijkt wel uit de waargenomen feiten, dat twee verschillende kleurstoffen, na elkaar in aanraking gebracht met de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel, beide hun kleurstof afgeven aan deze elementen: een dubbelkleuring wordt dan waargenomen. Eveneens is het bekend, dat de reticulo-endotheliale cellen, welke veel erythrocyten, of brokstukken ervan, en haemosiderine bevatten, toch nog in staat zijn kleurstoffen op te hoopen. Zelfs zijn vele waarnemingen verricht, waarbij blokkade, inplaats van het opnemen te verhinderen, dit bevorderde. Verschillende werkingen welke men aan het reticulo-endotheliale stelsel toeschrijft en welke in de volgende bladzijden besproken zullen worden, worden na blokkade, inplaats van opgeheven, versterkt.

Deze oogenschijnlijk tegenstrijdige waarnemingen behoeven in den grond van de zaak nog niet met elkaar in tegenspraak te zijn. Men moet de blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel, een stelsel van levende cellen, dat, zooals A s c h o f f zegt, een „in dauernder Abnutzung und Wiedergeburt befindliches System” is, niet al te mechanisch opvatten. Dit levende stelsel kan wellicht voor een korten tijd in een of meerdere van zijn werkingen belemmerd worden; spoedig daarna wordt dan compensatorisch de werking weder versterkt. Zooals waargenomen is, beginnen de geblokkeerde cellen zich te vergrooten en te deelen. Endotheelcellen, die vóór de blokkade geen kleurstoffen opnamen, doen dit wel na de blokkade. Ook wordt na blokkade het bloed rijker aan monoccyten, welke als afkomstig van het reticulo-endotheliale stelsel worden beschouwd. Met deze morphologische veranderingen van het reticulo-endotheliale stelsel dient men wel rekening te houden, wil men de gevolgen van een blokkade beoordeelen.

Ook neemt een door de cellen opgenomen kleurstof of metaal, afhankelijk van de physische en chemische samenstelling, deel aan de

chemische processen in die cellen. Sommige processen kunnen geremd, andere versterkt worden.

Of de blokkade inderdaad opheffen van bepaalde werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel beteekent, hangt dus af van verschillende factoren. Zoo is de tijd van waarneming na de blokkade, de toestand van de reticulo-endotheliale elementen van belang. De wijze, waarop ingespoten wordt, de hoeveelheid en de physische en chemische eigenschappen van de ingebrachte stof zijn van invloed.

Dat door blokkade een volledig opheffen van de werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel nooit bereikt kan worden, is na deze uiteenzetting wel duidelijk. A s c h o f f, de bekendste onderzoeker op het gebied van het reticulo-endotheliale stelsel, zegt hiervan: „Die Lähmung oder Blockade der einzelnen Zelle und die Blockade des ganzen Systems. Das eine kann sehr leicht, das andere sehr schwer möglich sein, nämlich dann, wenn das R. E. S. ein sich ständig und vielleicht sehr schnell regenerierendes ist. Das würde schon genügen um eine vollständige Blockade unmöglich, jedenfalls nur für ganz kurze Zeit durchführbar erscheinen zu lassen. Dasz es sich dabei nur um Stunden handeln kann, ist höchstwahrscheinlich. Wir werden also das R. E. S. niemals ganz auszuschalten vermögen.” ¹⁾

Onder dit voorbehoud werd en wordt de blokkade gebruikt om dieper door te dringen in de beteekenis en de werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel.

Werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel.

De werkingen, welke men aan het reticulo-endotheliale stelsel toeschrijft, staan in nauw verband met het vraagstuk der „vitale kleuring” en ophooping en met uitkomsten, verkregen bij onderzoekingen waarbij de blokkade werd toegepast. Voor een deel besluit men tot een bepaalde werking door waar te nemen, dat sommige stoffen door de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel opgenomen worden, voor een ander deel wordt een verandering in de normale levensverrichtingen na een blokkade in verband gebracht met de elementen, die geblokkeerd zijn.

Hoewel het vaststaat, dat roode bloedlichaampjes en hun brokstukken in de reticulo-endotheliale cellen, in het bijzonder van de milt, opgenomen worden, wordt nog niet algemeen aangenomen, dat in die cellen ook de afbraak van de bloedlichaampjes en bloedkleurstof plaats vindt.

Wel pleiten sommige feiten voor deze laatste opvatting. Zoo kan bijvoorbeeld de haemolytische icterus, een ziekte, die gepaard gaat met

¹⁾ L. A s c h o f f. Ergebnisse der innere Medizin und Kinderheilkunde, deel 26, 1924, blz. 1.

versterkte ontleding van bloedkleurstof, genezen na het wegnemen van de milt, dus na gedeeltelijk verwijderen van het reticulo-endotheliale stelsel.

F. C. Mann ¹⁾ en medewerkers vonden, dat het bloed, komende uit milt, lever en beenmerg, organen rijk aan reticulo-endotheliale elementen, meer bilirubine, een ontledingsproduct van roode bloedkleurstof, bevat, dan het naar het orgaan stroomende bloed.

In 1886 toonden O. Minskowski en B. Naunyn ²⁾ aan, dat in de lever galkleurstof gevormd wordt en dat na het wegnemen der lever bij ganzen de vorming van galkleurstof opgeheven is. Zij gebruikten voor dit doel een diersoort, waarbij het allergrootste deel van het reticulo-endotheliale stelsel zich in de lever bevindt. Bij dieren, die ook elders ruimschoots reticulo-endotheliaal weefsel bezitten, zooals bijvoorbeeld bij honden, is uit latere onderzoekingen wel gebleken, dat een vorming van galkleurstof buiten de lever zeer goed mogelijk is. Aschoff meent zelfs, dat bij honden de voornaamste plaats voor vorming van deze kleurstof buiten de lever gelegen is.

G. Lephene ³⁾ kon de geelzucht, die men waarneemt na vergiftiging met arseenwaterstof bij vogels geheel onderdrukken door blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel. Echter zeer vele onderzoekers konden geen invloed van blokkade vinden op de vorming van bilirubine.

Bij doorstromen van de milt, die zeer rijk is aan reticulo-endotheliaal weefsel, met gehaemolyseerd bloed, konden Z. Ernst en B. Szappanyos ⁴⁾ vorming van bilirubine in de milt aantoonen.

De vorming van bilirubine, die dus niet alleen in de lever plaats vindt, maar ook in weefsel rijk aan reticulo-endotheliale elementen, in verband gebracht met het opnemen van roode bloedlichaampjes door diezelfde reticulo-endotheliale elementen, maakt het wel zeer waarschijnlijk, dat naast opnemen van erythrocyten, ook een afbraak in die elementen plaats vindt.

Een zekere beteekenis wordt aan het reticulo-endotheliale stelsel toegekend bij de stofwisseling van sommige stoffen, zooals vetten en in het bijzonder lipoïde stoffen. Bij het bekende onderzoek van de Russische onderzoeker N. Anitschkow ⁵⁾ werden konijnen gevoerd met

¹⁾ F. C. Mann, C. H. Sheard, J. L. Bollman en E. J. Baldes. American Journal of Physiology, deel 76, 1926, blz. 306.

²⁾ O. Minkowski en B. Naunyn. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, deel 21, 1886, blz. 1.

³⁾ G. Lephene. Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde, deel 120, 1921, blz. 221.

⁴⁾ Z. Ernst en B. Szappanyos. Klinische Wochenschrift, deel 1, 1922, blz. 614.

⁵⁾ N. Anitschkow. Beiträge zur pathologischen Anatomie, deel 57, 1914, blz. 201.

veel cholesterine. In de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel werd daarna een sterke ophooping van cholesterine gevonden. M. Landau wees er op, dat bij sommige ziektes, welke met hyperlipaemie gepaard gaan, de endothelien van milt en lever overvuld waren met lipoïdestoffen (lipoïdsteatose der cellen van Kupffer en miltsinus-endotheel bij diabetes). Bij de hypercholesterinaemie, welke gedurende het hongerlijden optreedt, vindt men ook een sterke vermeerdering van cholesterine in de reticulo-endotheliale cellen van de milt. Men heeft dan ook wel getracht na te gaan, welken invloed de blokkade zou hebben op de cholesterine-ophooping. Dat de uitkomsten van deze blokkade-proeven niet steeds eensluidend zijn, kan zeker voor een goed deel wel worden toegeschreven aan de onmogelijkheid, het reticulo-endotheliale stelsel geheel uit te schakelen.

Zoo vonden F. Rosenthal, R. Moses en E. Petzal¹⁾ bij proeven op konijnen na blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel geen vermeerderd cholesterinegehalte in het bloed, iets wat men wel verwachten kan, wanneer men aanneemt, dat de reticulo-endotheliale elementen de cholesterine uit het bloed opnemen.

Zij ontkennen echter deze laatste eigenschap van het reticulo-endotheliale stelsel op grond van de uitkomsten van hun onderzoek niet, maar zeggen hierover: „Diese befunde Sprechen in Übereinstimmung mit anderen Autoren dafür dasz eine wirksame Ausschaltung der phagocytären Tätigkeit der Reticulo-endothelien durch die Blockade wenigstens beim Kaninchen nicht durchführbar ist, und dasz eine wirksame Ausschaltung der reticulo-endotheliale Funktionen auch infolge der kompensatorischen Regeneration dieses Zellsystems nicht herbeigeführt werden kann.”

Kortom, het opstapelen van lipoïde stoffen in de reticulo-endotheliale elementen, die men zoowel onder normale als onder ziekelijke omstandigheden aantreft, duiden op een rol, welke het reticulo-endotheliale stelsel speelt bij de stofwisseling der genoemde stoffen. Dit opstapelen dezer stoffen is tenslotte niets anders dan de reeds bekende eigenschap der phagocytose en door het feit dat de genoemde stoffen in de cellen gemakkelijk aangetoond kunnen worden, heeft men aan het verband tusschen stofwisseling der vetten en reticulo-endotheliale stelsel een groote aandacht kunnen schenken.

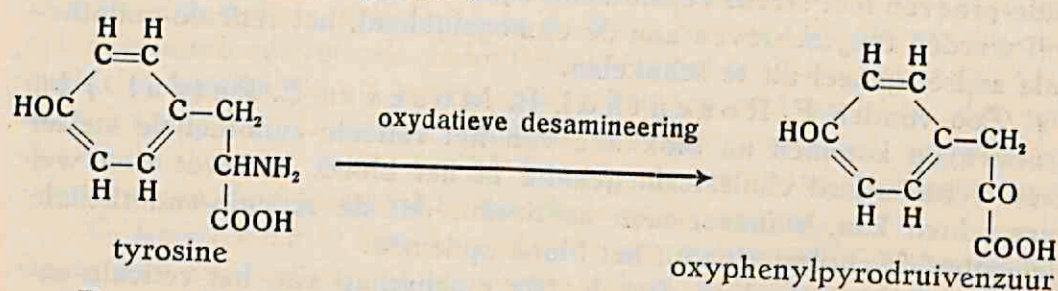
Zeer belangrijk in dit verband met het op blz. 1 vermelde onderzoek van K. Mitsuba is de werking, welke Y. Kotake, Y. Masai en Y. Mori²⁾ toekennen aan het reticulo-endotheliale stelsel. Na in-

¹⁾ F. Rosenthal, A. Moses en E. Petzal. Klinische Wochenschrift, deel 3, 1924, blz. 482.

²⁾ Y. Kotake, Y. Masai en Y. Mori. Zeitschrift für Physiologische Chemie.

ting van een carmijnoplossing in een ader van een konijn, dus na een belading van de reticulo-endotheliale elementen met deze kleurstof, is volgens deze onderzoekers de oxydatieve desamineering der aminozuren in het lichaam sterk verminderd, zelfs zoo, dat bij rijkelijke toevoer van tyrosine of phenylalanine, geen ketozuur in de urine aangetoond kon worden, terwijl, wanneer de reticulo-endotheliale elementen niet beladen waren, na toedienen van dezelfde hoeveelheid tyrosine of phenylalanine in de urine wel de van deze aminozuren afgeleide ketozen duidelijk waargenomen konden worden.

Zulk een ketozuur is b.v. oxyphenylpyrodruivenzuur, dat afgeleid is van het aminozuur tyrosine.



Daar na de blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel deze ketozen niet in de urine worden aangetroffen, spelen volgens Y. K o t a k e en medewerkers de reticulo-endothelien een belangrijke rol bij de oxydatieve desamineering der aminozuren.

In gelijken zin laten zich de uitkomsten van het onderzoek, door K. M i t s u b a verricht, verklaren. Immers deze vond, dat na het wegnemen der milt, dus na het verwijderen van een belangrijk gedeelte van het reticulo-endotheliale stelsel, de afbraak van giftige rottingsproducten in het lichaam afgenomen is. En het is toch waarschijnlijk, dat bij het vernietigen van b.v. het rottingsproduct tyramine een desamineering plaats vindt, die overeenkomt bij de desamineering van het aminozuur tyrosine.

Merkwaardig is het feit, dat het opnemen van verschillende stoffen door de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel onder invloed staat van sommige chemotherapeutica. Zoo vond L. J. d e l B a e r e ¹⁾, dat na inspuiten van pituitrine in een ader het salvarsan, dat, zooals bekend, door de reticulo-endotheliale cellen opgenomen wordt, langer in de bloedbaan blijft dan anders.

Tot gelijke uitkomsten komen P. S a x l en F. D o n a t h ²⁾. Zij konden het vermogen van het reticulo-endotheliale stelsel tot het opne-

¹⁾ L. J. del Baere. Wiener klinische Wochenschrift, deel 38, 1925, blz. 1130.

²⁾ P. Saxl en F. Donath. Wiener Archiv für innere Medizin, deel 13, 1927, deel 122, 1922, blz. 211.

men van vetdruppeltjes versterken door inspuiten van pepton en verbloeden, tegengaan door elektrocollargol, pituitrine en insuline. Door inspuiten in een ader van deze laatste stoffen wordt dus als het ware een „blokkade” bereikt. De schrijvers laten zich in hun artikel er niet over uit, in hoeverre de werking van deze stoffen overeenkomt met de werking van de stoffen, welke meestal voor de blokkade gebruikt worden.

Van pituitrine wordt b.v. 1 cc. bij een mensch in een ader gespoten. van elektrocollargol 10 cc. Deze betrekkelijk geringe hoeveelheden kunnen zeer zeker niet alle elementen van het reticulo-endotheliale stelsel mechanisch blokkeeren. Saxl en Donath spreken dan ook van een „pharmakologisch bedingte Blockierung.”

Daarnaast vonden dezelfde onderzoekers, dat na het inspuiten in een ader van elektrocollargol de afscheiding van de urine verminderd was. Zij kennen het reticulo-endotheliale stelsel ook een overwegende rol toe bij de regeling van de waterhuishouding. Ook andere onderzoekers hebben gevonden, dat na het inspuiten van een kleurstof of andere stof, die door het reticulo-endotheliale stelsel opgenomen wordt, de afscheiding der urine afneemt. Op deze waarneming van Saxl en Donath en van anderen kom ik nog terug bij het bespreken van de uitkomsten van het eigen onderzoek.

Zooals uit het in dit hoofdstuk behandelde blijkt, is de beteekenis van het reticulo-endotheliale stelsel bij normale levensverrichtingen niet te miskennen; onder omstandigheden kan deze beteekenis zeker nog veel grooter worden, men denke aan de ongetwijfeld krachtig beschuttende werking van dit stelsel bij besmettingen en sommige vergiftigingen.

Op een verband tusschen reticulo-endotheliale elementen en infectieziektes wijzen wel allereerst de weefselveranderingen, welke wij bij verschillende infectieziektes waarnemen, zooals bijvoorbeeld de tuberkels en de typhusknobbeltjes, tot welker vorming de reticulo-endotheliale elementen, meer in het bijzonder de „Wanderhistiozyten” voor een groot deel bijdragen.

De beteekenis van het reticulo-endotheliale stelsel bij besmettingen bestaat wel in hoofdzaak in de poging om de kiemen in zich op te nemen en op die wijze het ziekteproces plaatselijk vast te leggen en te stuiten. Dat micro-organismen, welke in de bloedbaan geraken, door de reticulo-endotheliale elementen opgenomen worden, staat wel vast. Behalve deze phagocytose schijnt het wel zeer waarschijnlijk, al is het strenge bewijs misschien nog niet geleverd, dat de micro-organismes, welke in de cellen zijn opgenomen, daar aangetast en gedood worden, terwijl ook de toxines daar onschadelijk gemaakt worden.

Zoo is het wel zeker, dat de vorming van afweerstoffen voor een kleiner of grooter gedeelte plaats vindt in de reticulo-endotheliale

elementen. Het feit alleen al van versterkte phagocytose der reticulo-endotheliale cellen na immunisatie of sensibilisatie doet een verband tusschen reticulo-endotheliale stelsel en vorming van anti-stoffen vermoeden. Men heeft dan ook nagegaan of blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel, vaak versterkt door het wegnemen van de milt, een remmenden invloed zou hebben op het vormen van afweerstoffen. Bijvoorbeeld namen R. Bieling en S. Isaac ¹⁾ bij muizen de milt weg en blokkeerden tegelijk het overgebleven reticulo-endotheel, waarna het organisme niet meer in staat bleek, haemolysine voort te brengen. In gelijken zin spreken zeer vele uitkomsten, echter, waarschijnlijk in verband met de moeilijkheid een goede blokkade te verkrijgen, zijn ook tegengestelde uitkomsten niet zeldzaam. Overziet men echter alle uitkomsten op dit gebied, dan ontkomt men toch niet aan den indruk, dat het reticulo-endotheliale stelsel bij de vorming van afweerstoffen bij besmetting van groote beteekenis is. C. W. Jungebluth ²⁾ zegt in zijn overzichtsartikel over de beteekenis van het reticulo-endotheliale stelsel bij besmetting en onvatbaarheid: „Trotz gegenteiliger Beobachtungen, die sich vielfach durch unzweckmässige Methodik erklären lassen, scheint es ausdes Zweifel, dass die Bildung praktisch aller Antikörper bei Tieren mit geschädigtem Reticulo-endothel verlangsamt und wesentlich abgeschwächt ist, während andererseits Reizung der retikulo-endothelialen Zellen höhere Antikörpertiter zur Folge hat.”

Bij het onderzoek, dat in dit proefschrift beschreven wordt, werd getracht het reticulo-endotheliale stelsel in zijn werkingen te belemmeren door het te beladen met oost-indischen inkt. Men neemt algemeen aan dat, na inspuiten in een ader van oost-indischen inkt, de kooldeeltjes hoofdzakelijk opgehoopt worden in de reticulo-endothelien van het hepato-lienale stelsel. Teneinde na te gaan of de inspuiting met oost-indischen inkt, zooals bij het onderzoek verricht werd, het gewenschte gevolg had, heb ik bij enkele proefdieren nagegaan waar in het lichaam deze inkt opgehoopt werd. De beschrijving van deze proeven vindt men aan het einde van hoofdstuk V, waarin het eigen onderzoek behandeld wordt.

¹⁾ R. Bieling en S. Isaac. Zeitschrift für experimentelle Medizin, deel 25, 1921, blz. 1.

²⁾ C. W. Jungebluth. Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie, deel 11, 1930, blz. 1.

HOOFDSTUK III.

ROTTING IN DEN DARM.

Over de aanwezigheid van bacteriën in het darmkanaal.

In het darmkanaal van den mensch en vele dieren komen bacteriën voor; hun aantal is zeer groot en sommige onderzoekers hebben berekend, dat per dag rond honderd trillioen bacteriën met de faeces worden afgescheiden.

De verdeeling van deze micro-organismes over het darmkanaal is geen gelijkmatige; in aantal vallen de bacteriën in den dunnen darm in het niet tegenover de in den dikken darm aanwezige. De voorwaarden in den dunnen darm zijn niet zeer gunstig voor den groei van deze bacteriën.

In het meconium, kort na de geboorte afgescheiden, worden echter geen bacteriën gevonden. Men heeft zich dan ook wel afgevraagd, welke beteekenis de bacteriën in het darmkanaal zouden hebben voor de normale levensverrichtingen en of deze levensverrichtingen mogelijk zouden zijn zonder de aanwezigheid van deze micro-organismes. L. P a s t e u r veronderstelde een symbiose tusschen de bacteriën en het lichaam. Verschillende onderzoekingen zijn verricht en vele waarnemingen zijn gedaan, die het evenwel waarschijnlijk maken, dat het organisme het zonder bezwaar buiten bacteriën in het darmkanaal zou kunnen stellen. Zoo hebben H. Thierfelder en G. Nuthal ¹⁾ jonge marmotjes op kunnen kweken met kiemvrij voedsel, terwijl deze dieren zich, wat betreft toenemen van het gewicht en gezondheid, zeer normaal gedroegen.

Ook het feit, dat zich weinig bacteriën bevinden in het darmkanaal van organismes, welke in de poolstreken, waarvan de atmosfeer zeer

¹⁾ H. Thierfelder en G. Nuthal. Zeitschrift für Physiologische Chemie. deel 21, 1895, blz. 109.

elementen. Het feit alleen al van versterkte phagocytose der reticulo-endotheliale cellen na immunisatie of sensibilisatie doet een verband tusschen reticulo-endotheliale stelsel en vorming van anti-stoffen vermoeden. Men heeft dan ook nagegaan of blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel, vaak versterkt door het wegnemen van de milt, een remmenden invloed zou hebben op het vormen van afweerstoffen. Bijvoorbeeld namen R. Bieling en S. Isaac ¹⁾ bij muizen de milt weg en blokkeerden tegelijk het overgebleven reticulo-endotheel, waarna het organisme niet meer in staat bleek, haemolysine voort te brengen. In gelijken zin spreken zeer vele uitkomsten, echter, waarschijnlijk in verband met de moeilijkheid een goede blokkade te verkrijgen, zijn ook tegengestelde uitkomsten niet zeldzaam. Overziet men echter alle uitkomsten op dit gebied, dan ontkomt men toch niet aan den indruk, dat het reticulo-endotheliale stelsel bij de vorming van afweerstoffen bij besmetting van groote beteekenis is. C. W. Jungebluth ²⁾ zegt in zijn overzichtsartikel over de beteekenis van het reticulo-endotheliale stelsel bij besmetting en onvatbaarheid: „Trotz gegenteiliger Beobachtungen, die sich vielfach durch unzweckmässige Methodik erklären lassen, scheint es ausser Zweifel, dass die Bildung praktisch aller Antikörper bei Tieren mit geschädigtem Reticulo-endothel verlangsamt und wesentlich abgeschwächt ist, während andererseits Reizung der retikulo-endothelialen Zellen höhere Antikörpertiter zur Folge hat.”

Bij het onderzoek, dat in dit proefschrift beschreven wordt, werd getracht het reticulo-endotheliale stelsel in zijn werkingen te belemmeren door het te beladen met oost-indischen inkt. Men neemt algemeen aan dat, na inspuiten in een ader van oost-indischen inkt, de kooldeeltjes hoofdzakelijk opgehoopt worden in de reticulo-endothelien van het hepato-lienale stelsel. Teneinde na te gaan of de inspuiting met oost-indischen inkt, zooals bij het onderzoek verricht werd, het gewenschte gevolg had, heb ik bij enkele proefdieren nagegaan waar in het lichaam deze inkt opgehoopt werd. De beschrijving van deze proeven vindt men aan het einde van hoofdstuk V, waarin het eigen onderzoek behandeld wordt.

¹⁾ R. Bieling en S. Isaac. Zeitschrift für experimentelle Medizin, deel 25, 1921, blz. 1.

²⁾ C. W. Jungebluth. Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie, deel 11, 1930, blz. 1.

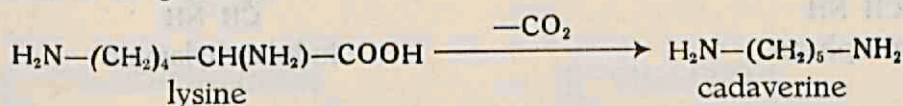
Deze twee laatste gassen worden ook regelmatig gevonden, echter niet alleen afkomstig van de gisting der koolhydraten, maar ook van de ontleding der eiwitstoffen.

Maar ook vetten kunnen in den darm door bacteriën worden gesplitst in vetzuur en glycerine, hoewel op een plaats, waar de opslorping niet zoo gemakkelijk gaat.

De rotting der eiwitstoffen vindt, zooals reeds gezegd, vrijwel uitsluitend in den dikken darm plaats. Bij deze rotting kunnen zeer vele en veelsoortige splitsingsproducten ontstaan.

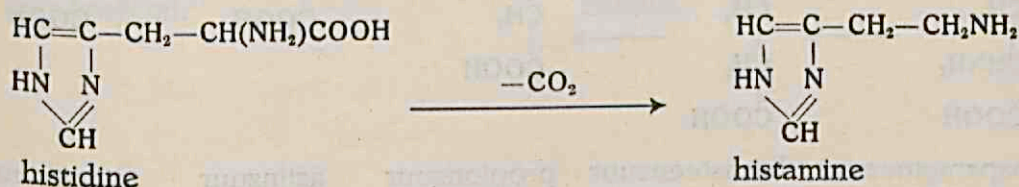
Voor zoover de bestanddeelen der eiwitstoffen, welke ten prooi vallen aan de rottingsbacteriën, nog niet gesplitst zijn in aminozuren, worden zij door de rottingsbacteriën eerst gesplitst tot in aminozuren, op een wijze vermoedelijk overeenkomende met de hydrolytische splitsing door de spijsverteringsenzymen.

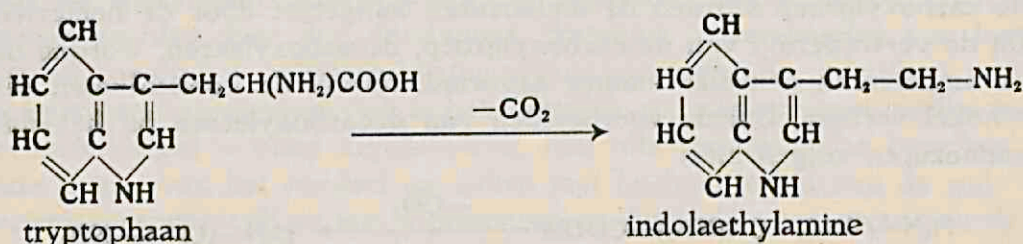
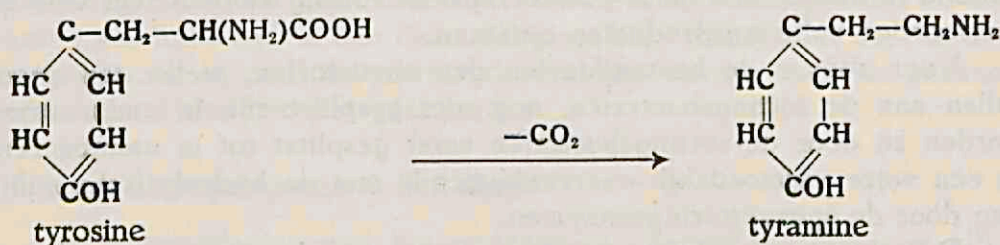
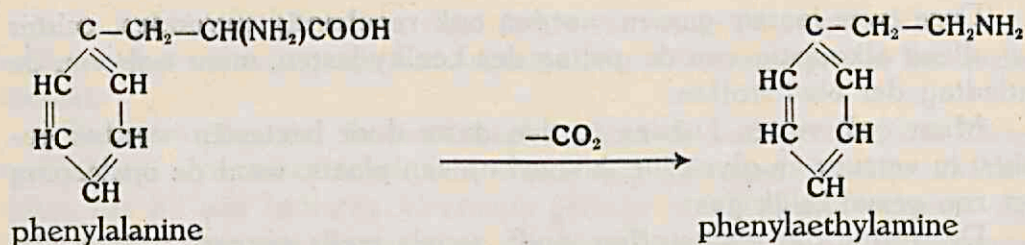
De splitsing gaat echter verder; zoowel aan de aminogroep als aan de carboxylgroep worden de aminozuren aangetast door de bacteriën. Bij de verwijdering van de carboxylgroep, decarboxyleeren, worden uit de aminozuren primaire amines gevormd, terwijl de koolstofketen één schakel verliest. Enkele voorbeelden van decarboxyleeren bij bekende aminozuren volgen hier:



De amines, welke uit de aminozuren gevormd worden, worden tot de ptomaines gerekend. Men heeft de vergiftige werking van de amines, uit diaminozuren gevormd, wel eens overschat. Weliswaar vindt men bij sommige ernstige ziekelijke toestanden, zooals b.v. bij cholera, deze stoffen in duidelijke hoeveelheden in darminhoud en in urine. Maar wanneer men, zooals M. Guggenheim en W. Löffler deden, deze amines in zeer aanzienlijke hoeveelheden in het darmkanaal bracht, traden geen verschijnselen van vergiftiging op.

Tyramine en histamine, afkomstig van mono-aminozuren, hebben, in de bloedbaan gebracht, een sterken invloed op bloedsdrukking en gladde spieren. Zelfs kleine hoeveelheden veroorzaken een duidelijke verhooging van de bloedsdrukking en brengen de gladde spiervezels tot samentrekking.

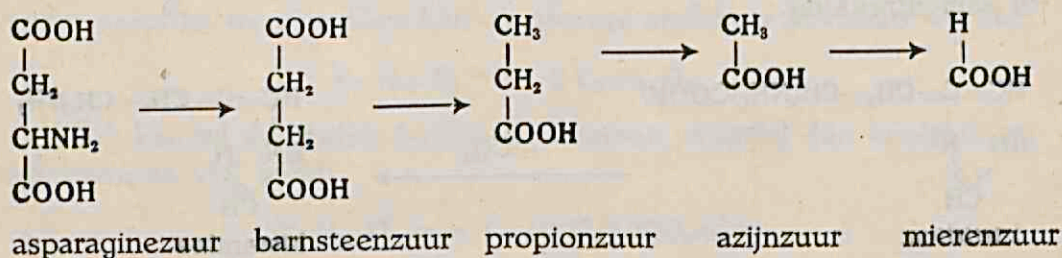


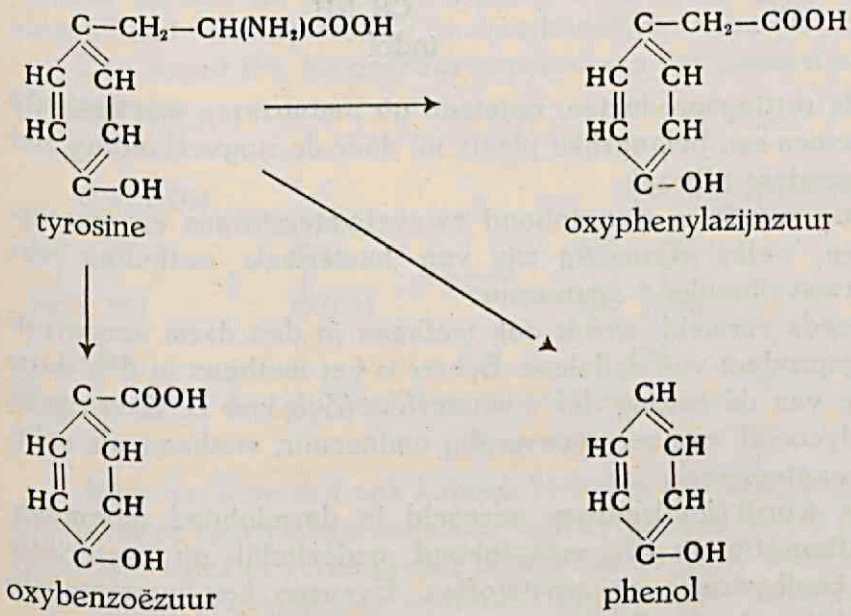
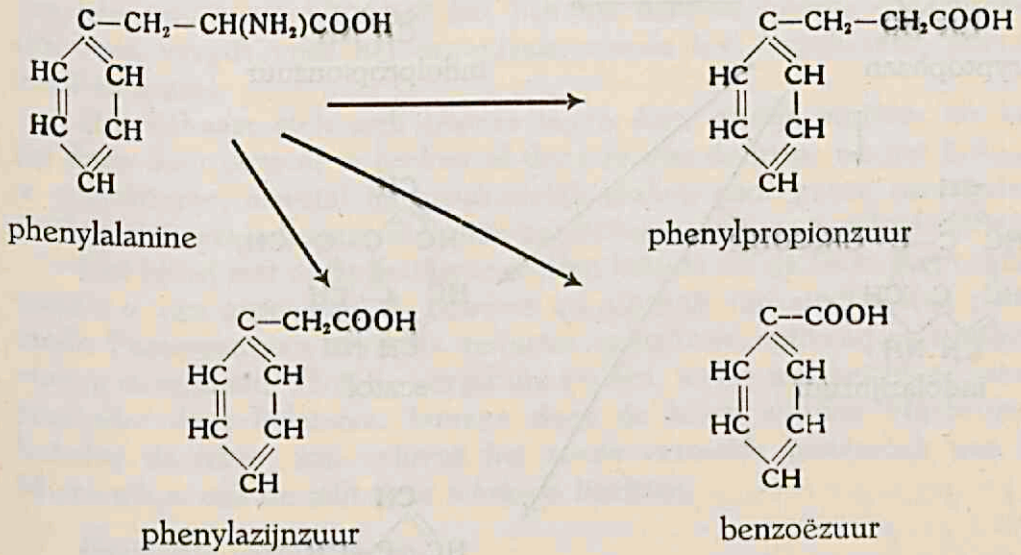


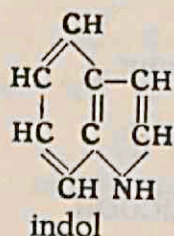
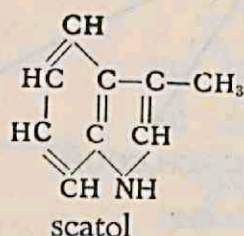
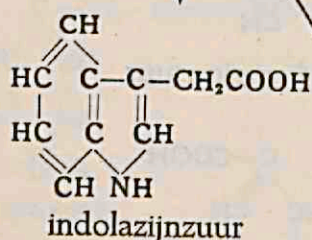
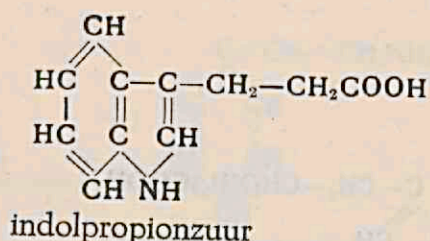
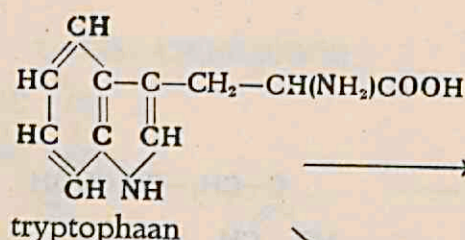
Ook eenvoudiger amines, dan de tot nu toe genoemde, worden bij de rotting der eiwitstoffen gevormd. Zoo werd bij rotting van gelatine methylamine, CH_3NH_2 ,

dimethylamine, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{NH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$ en trimethylamine, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{N} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$ gevonden.

Een tweede, meer voorkomende, vorm van ontleding van de reeds ten deele afgebroken eiwitstoffen bestaat hierin, dat de aminogroep uit het aminozuur verwijderd wordt. Met deze desamineering gaat gepaard een reductie, terwijl vaak na de desamineering nog oxydatie plaats vindt, waardoor de aliphatische keten verkort wordt. De volgende voorbeelden laten zien welke rottingsproducten er alzoo gevormd worden:







Vooraf de rottingsproducten, ontstaan uit aminozuren met aromatischen kern, nemen een belangrijke plaats in, daar de ringverbinding zich verzet tegen verdere afbraak.

Regelmatig wordt in darminhoud zwavelwaterstofgas en mercaptaan gevonden, welke afkomstig zijn van bacterieele ontleding van cystine, een zwavelhoudend aminozuur.

Zooals reeds vermeld, wordt ook methaan in den darm aangetroffen als gistingsproduct van cellulose. Echter is het methaan in den darm ook afkomstig van de rotting der eiwitstoffen. Zoo kon L. Kerry bij rotting van glycocoll, een zeer eenvoudig aminozuur, methaan als splitsingsproduct aantoonen.

Eveneens wordt koolzuurgas geregeld in darminhoud gevonden. gedeeltelijk afkomstig uit den maaginhoud, gedeeltelijk uit bacterieele afbraak van koolhydraten en eiwitstoffen. Evenzoo kan waterstofgas ontstaan bij gisting der koolhydraten en rotting der eiwitstoffen.

Het verweer van het lichaam tegen vergiftige rottingsproducten.

De rottingsproducten nu worden gedeeltelijk opgeslorpt, gedeeltelijk met de faeces verwijderd. Afhankelijk van de snelheid van voortbewe-

ging van den darminhoud, van den toestand van den darmwand en van den aard en de hoeveelheid der rottingsproducten, zal nu eens de opslorping, dan weer de verwijdering met de faeces overwegen.

Wanneer de rottingsproducten opgeslorpt zijn, kunnen sommige van hen nog eenig nut voor het lichaam hebben, andere daarentegen zijn een vergift voor het organisme, zooals b.v. benzoezuur, phenol, indol en scatol.

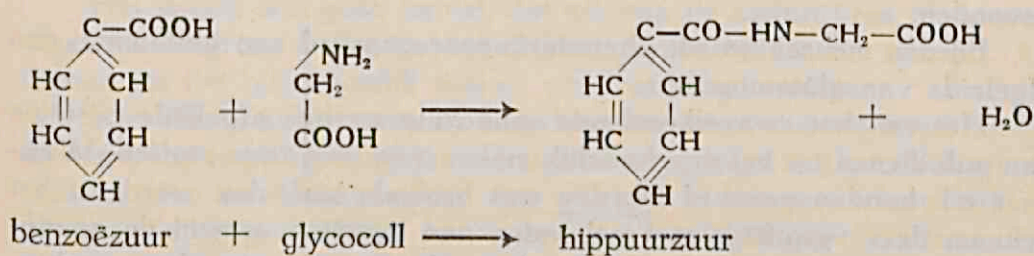
Het lichaam stelt zich teweer tegen deze giftige stoffen; dit kan het doen door deze af te breken of door ze met de urine uit het lichaam te verwijderen, meestal na onschadelijk maken door paren aan andere stoffen, tot verbindingen, die voor het lichaam niet meer schadelijk zijn.

Het bloed met de opgeslorpte stoffen bereikt nu de lever, het orgaan waar o.a. een groot deel de opbouw en afbraak van eiwitstoffen plaats vindt. Processen van oxydatie, reductie, substitutie, splitsing en synthese vinden daar plaats. Ook de vergiftige stoffen, welke met het bloed uit de poortader daar belanden, kunnen door de lever worden afgebroken. Behalve de lever, zou volgens het reeds vermelde onderzoek van K. Mitsuba, ook de milt deze werking bezitten.

Gepaarde verbindingen.

Voor zoover de vergiftige stoffen aan de vernietiging ontsnappen, worden zij met de urine verwijderd, meestal na gepaard te zijn aan verschillende andere stoffen tot onschadelijke verbindingen.

Zoo wordt b.v. benzoëzuur gepaard aan het aminozuur glycocoll tot hippuurzuur:



Men zou deze stof ook kunnen betitelen met den naam van benzoyl-glycocoll of benoylaminoazijnzuur; echter meestal wordt zij hippuurzuur genoemd, zulks in verband met het dier in de urine waarvan zij in zulke aanzienlijke hoeveelheden voorkomt. Hippuurzuur komt ook voor in de urine van den mensch en van vele dieren, maar bij planteneters in veel grootere hoeveelheden dan bij vleescheters. Dit is wel allereerst te verklaren door het feit, dat in het voedsel van plantaardigen oorsprong veel meer benzoëzuur of benzoëzuurvormende stoffen voorkomen, dan

in het voedsel van vleescheters. Ook staat deze sterkere afscheiding van hippuurzuur in verband met de sterkere rotting en resorptie in het langere darmkanaal van vele planteneters.

Hoewel men het over de bronnen van benzoëzuur wel eens is, kan hetzelfde niet gezegd worden van glycoll. De hoeveelheid hippuurzuur in de urine van planteneters is soms zoo groot, dat zij bezwaarlijk is overeen te brengen met het in het lichaam beschikbare glycoll. Algemeen neemt men dan ook aan, dat, ook bij vleescheters, het eenvoudige aminozuur glycoll naar behoefte gevormd kan worden.

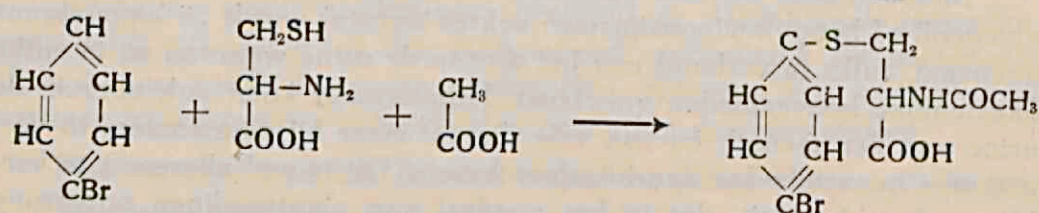
Waar in het lichaam vindt nu deze vorming van hippuurzuur uit benzoëzuur en glycoll plaats? De klassieke doorstromingsproeven van O. Schmiedeberg bewijzen, dat er hippuurzuur-synthese in de nier plaats vindt. Echter is in lateren tijd gevonden, dat ook in andere organen benzoëzuur aan glycoll gepaard kan worden, met name in de lever. Na het wegnemen der nieren konden F. B. Kingsbury en R. D. Bell dan ook toch nog synthese van hippuurzuur waarnemen.

In het organisme van vogels wordt benzoëzuur echter niet aan glycoll gepaard, maar aan ornithine, een afgeleide van het aminozuur arginine. De voor het lichaam onschadelijke verbinding draagt hier de naam van ornithuurzuur.

Glycoll dient behalve voor het onschadelijk maken van benzoëzuur ook nog voor het wegnemen der vergiftige eigenschappen van phenylazijnzuur. Zooals op blz. 35 vermeld is, ontstaat phenylazijnzuur bij de rotting in den darm van phenylalanine. De verbinding nu van glycoll met phenylazijnzuur wordt phenacetuurzuur genoemd. Deze stof wordt in aanzienlijke hoeveelheden in de urine van het paard gevonden.

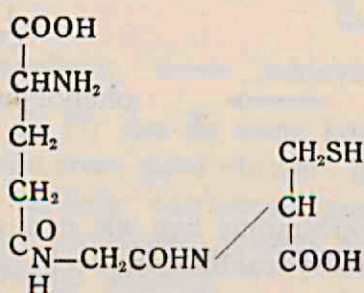
Bij den mensch wordt phenylazijnzuur gepaard aan glutamine, een afgeleide van glutaminezuur.

Het van het zwavelhoudende aminozuur cystine afgeleide cysteine kan ook dienen tot het onschadelijk maken van vergiftige stoffen. Wanneer n.l. honden gevoerd worden met broombenzol, dan wordt in het lichaam deze vergiftige stof gebonden aan cysteine, terwijl de aminogroep van het cysteine geacetyleerd wordt. De niet vergiftige verbinding, mercaptuurzuur genoemd, wordt dan in de urine aangetroffen.



broombenzol + cysteine + azijnzuur $\longrightarrow$ broomphenylmercaptuurzuur

In den laatsten tijd wordt van verschillende zijden gewezen op de beteekenis, welke het glutathion zou hebben bij het onschadelijk maken van vergiftige stoffen. Het door F. G. Hopkins uit gist en spierweefsel bereide glutathion is in vele opzichten een merkwaardige stof. Volgens de onderzoekingen van E. C. Kendall, H. L. Mason en B. F. McKenzie ¹⁾ heeft het de volgende samenstelling:



Zooals uit deze formule blijkt, is het glutathion een tripeptide, samengesteld uit aminozuren of daarvan afgeleide stoffen en wel uit glutaminezuur, glycocoll en cysteine. Bij de processen van oxydatie en reductie in de weefsels zou het glutathion een belangrijke rol spelen.

In 1926 wezen C. Voegtlin, J. M. Johnson en H. Dyer op de beteekenis van het glutathion bij de vergiftiging met blauwzuur.

In 1930 hebben H. Waelsch en E. Weinberger ¹⁾ het gehalte van het bloed aan glutathion na toedienen van vergiften onderzocht en vonden een kleiner gehalte dan vóór de toediening.

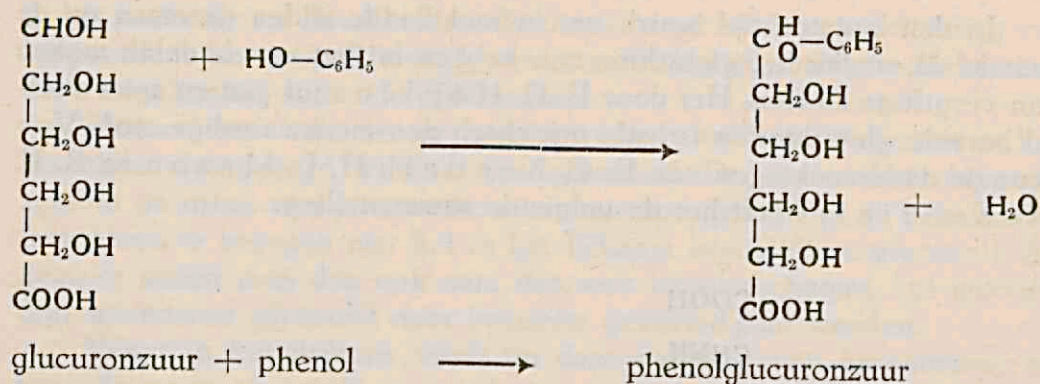
Het is ook wel geen toeval, dat elk van de aminozuren of daarvan afgeleide stoffen, welke het glutathion samenstellen, op zichzelf kan dienen tot het onschadelijk maken van vergiftige stoffen.

Niet alleen aminozuren of van deze afgeleide verbindingen kunnen dienen voor het onschadelijk maken van vergiftige stoffen. Van glucuronzuur, een oxydatie product van glucose, is het reeds lang bekend, dat het zich in het lichaam kan paren met verschillende vergiftige stoffen, zoowel met rottingsproducten uit het darmkanaal als met toegepaste, niet in het lichaam ontstane, vergiftige stoffen.

Glucuronzuur wordt in de urine aangetroffen gebonden aan o.a. phenol, benzoëzuur en indoxyl en na toediening van kampher, menthol, chloraalhydraat of avertine, gebonden aan deze stoffen. De volgende vergelijking stelt de paring van glucuronzuur met phenol voor:

¹⁾ E. C. Kendall, H. L. Mason en B. F. McKenzie. Journal of biological chemistry, deel 87, 1930, blz. 55.

¹⁾ H. Waelsch en E. Weinberger. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, deel 156, 1930, blz. 370.



Deze aetherachtige verbinding kan als een glucoside beschouwd worden, waarvan het koolhydraatbestanddeel glucuronzuur is. De meeste glucuronzuurverbindingen in de urine zijn van glucoside-achtigen aard. Echter verbindingen op de wijze van esters zijn ook mogelijk; zoo kan men de verbinding van glucuronzuur met benzoëzuur als een ester beschouwen.

Algemeen wordt aangenomen, dat de paring aan glucuronzuur voor het grootste gedeelte in de lever plaats vindt en men wil zelfs in het gehalte der urine aan glucuronzuurverbindingen na toedienen van b.v. menthol een aanwijzing zien van de normale werking van de lever.

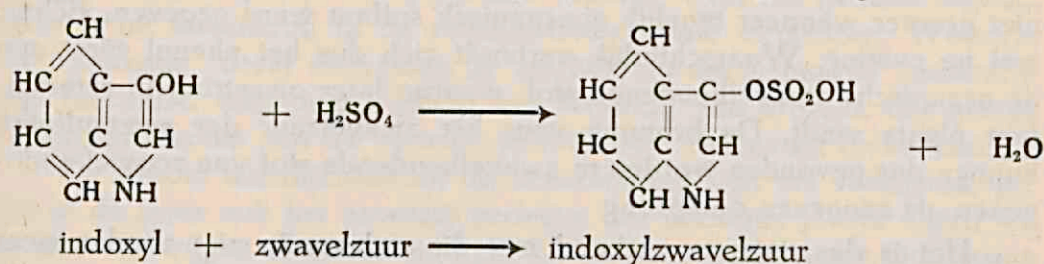
Vast staat, dat na beschadigde leverwerking de afscheiding van glucuronzuurverbindingen na het toedienen van b.v. menthol geringer is dan in normale omstandigheden.

De overeenkomst in de samenstelling van glucose en glucuronzuur maakt het ontstaan van glucuronzuur uit glucose waarschijnlijk. Volgens de onderzoeken van E. Sundwik, E. Fischer en O. Piloty ontstaat het glucuronzuur echter niet eerst uit glucose en bindt zich dan met de een of andere giftige stof, maar wordt eerst de vergiftige stof gebonden aan glucose, waarna de eindstandige alcoholgroep in een zuurgroep omgezet wordt.

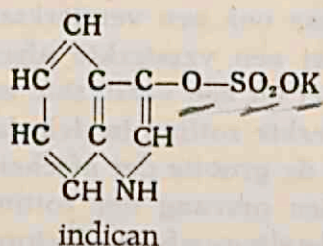
Zooals reeds vermeld, wordt in de urine ook een glucuronzuurverbinding met indoxyl aangetroffen, al is het dan meestal in zeer geringe hoeveelheden. Nu wordt indoxyl als zoodanig niet bij de rotting in den darm gevormd, maar als indol opgeslorpt. De omzetting van indol in indoxyl vindt, volgens de uitkomsten van de onderzoeken van Ch. Gautier en Ch. Hervieux in de lever plaats. Bij kikkers, waar de lever verwijderd was, vond deze omzetting n.l. niet plaats.

Een zeer voorname plaats onder de gepaarde verbindingen nemen de door E. Baumann reeds in 1876 ontdekte estersulfaten in. Er komen in de urine paringen van indoxyl, phenol, kresol en wellicht

nog andere stoffen aan zwavelzuur voor. De verbinding van zwavelzuur met b.v. indoxyl wordt door de volgende vergelijking voorgesteld:



In verband met de Ph van de urine komt het indoxyl-zwavelzuur niet als zuur in de urine voor, maar als zout, gebonden aan verschillende kat-ionen, zooals b.v. kalium, natrium of magnesium. Zoo zou b.v. het kaliumzout van indoxylzwavelzuur, dat ook wel indican genoemd wordt, de volgende samenstelling bezitten:



Het zwavelzuur, benodigd voor de vorming der estersulfaten, wordt gevonden in de zwavel, dat in de eiwitstoffen voorkomt, niet in de anorganische sulfaten, welke met de voeding opgenomen worden. In de eerste plaats worden de anorganische sulfaten zoo goed als niet door den darmwand opgenomen; maar ook in de bloedbaan gebrachte anorganische sulfaten hebben weinig of geen invloed op de vorming der estersulfaten. Wanneer aan een konijn phenol wordt toegediend, verschijnt een gedeelte ervan als estersulfaat in de urine. H. Rode ¹⁾ vindt na toediening van 0,2 gr. phenol per K.G. gewicht van het konijn 12 % terug als estersulfaat in de urine. Wanneer hij anorganisch sulfaat inspoot veranderde deze afscheiding niet echter, na het inspuiten van cystine of natriumsulfiet, was de afscheiding van phenol als estersulfaat zeer versterkt.

In 1924 hebben G. J. Shipley, J. A. Muldoon en C. P. Sherwin ¹⁾ de vraag naar de herkomst van het sulfaat-ion der estersulfaten getracht te beantwoorden. Een varken werd langen tijd uitsluitend gevoerd met koolhydraten en anorganische stoffen, zoodat het dier dus

¹⁾ H. Rode. Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 124, 1922, blz. 15.

¹⁾ G. J. Shipley, J. A. Muldoon en C. P. Sherwin. Journal of biological chemistry, deel 60, 1924, blz. 59.

geen zwavelhoudend voedsel opnam. Na toediening van phenol werd de afscheiding van estersulfaten zeer versterkt; deze afscheiding werd niet grooter wanneer tegelijk anorganisch sulfaat werd gegeven. Echter wel na cystine. Waarschijnlijk verbindt zich dus het phenol eerst aan de organische zwavelhoudende stof, waarna later omzetting in estersulfaat plaats vindt. De bronnen voor het zwavelzuur der estersulfaten kunnen dus gevonden worden in zwavelhoudende stof van zoowel endogenen als exogenen oorsprong.

Het is dus, juist in verband met dit onderzoek, niet zonder meer waar, dat de hoeveelheid afgescheiden estersulfaat een maat zou zijn voor de rotting in den darm. Afhankelijk van de grootte der endogene eiwitstofwisseling zal de hoeveelheid estersulfaten in de urine wisselen.

Ook is bekend, dat bij acidose de verhouding van de met de urine afgescheiden estersulfaten ten opzichte van de anorganische sulfaten grooter wordt. Moge dan ook een versterkte rotting in den darm bijna altijd gepaard gaan met een versterkte afscheiding van estersulfaten, omgekeerd mag men niet uit een versterkte estersulfaat-afscheiding met zekerheid tot een versterkte rotting in den darm besluiten.

Eerder zou men in de grootte der afscheiding van indoxyl een maat kunnen vinden voor den omvang der rottingsprocessen in den darm. Doch ook op deze afscheiding oefenen factoren buiten de rotting in den darm hun invloed. Men denke b.v. aan een parenterale bacteriënhaard. Het is toch bekend, dat in dit geval indoxyl buiten het darmkanaal gevormd wordt.

Bij mijn onderzoek, dat in het volgende hoofdstuk beschreven wordt, werd de grootte der afscheiding van indican en estersulfaten gemeten, echter niet met het doel om daarin een maat te zien voor den omvang der rotting in den darm. Maar wel om uit de grootte der afscheiding van gepaarde verbindingen een indruk te krijgen omtrent de verhouding tusschen paring der vergiftige rottingsproducten en de afbraak dier stoffen. Men mag toch wel aannemen, dat de afbraak in het lichaam van die vergiftige stoffen toegenomen is, wanneer bij eenzelfde voedsel en onder altijd dezelfde omstandigheden de afscheiding der gepaarde verbindingen afgenomen is.

Wanneer men de organen, waarin men vermoedt, dat deze afbraak van giftige stoffen plaats vindt, in zijn werkingen belemmert, is het te verwachten dat de afscheiding van gepaarde verbindingen met de urine toeneemt.

Op welke wijze getracht werd deze organen in hun werking te belemmeren, werd reeds in het vorige hoofdstuk uitvoerig besproken. Immers juist in de organen milt en lever worden na inspuiting in een

ader van oost-indischen inkt de inktdeeltjes in groote hoeveelheden teruggevonden. Echter niet gelijkelijk verdeeld over het geheele orgaan, maar bijna uitsluitend in de reticulo-endotheliale elementen. Wanneer na „blokkade” dezer elementen de afscheiding der gepaarde verbindingen toeneemt, mag men wellicht een werking van afbraak der giftige rottingsproducten aan die reticulo-endotheliale elementen toekennen.

De groote moeilijkheid bij de bestudeering van dit vraagstuk, n.l. dat in de lever ook het grootste gedeelte der paringen plaats vindt, wil ik niet verzwijgen of onderschatten. Bij de beoordeeling der uitkomsten zal ook aan deze moeilijkheid gedacht moeten worden. En dit des te meer, daar men omtrent de uitwerking van „blokkade” nog geen zekere en onaantastbare meening heeft.

HOOFDSTUK IV.

BESCHRIJVING VAN DE GEVOLGDE WERKWIJZEN.

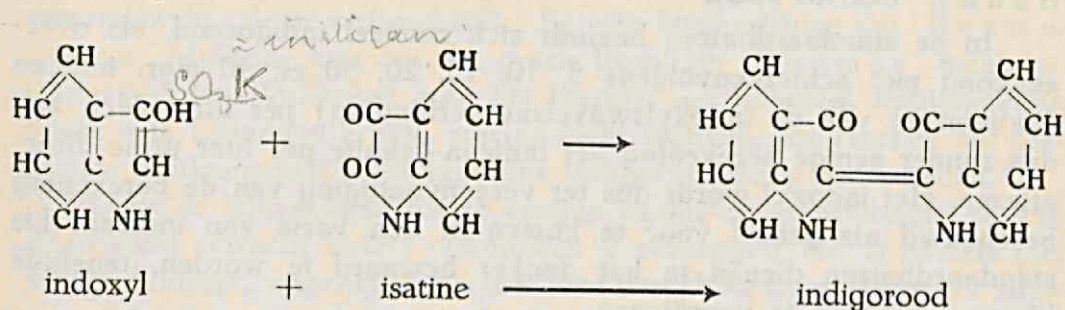
A. Onderzoek naar indican in urine.

Voor het onderzoek naar het indoxylgehalte van urine zijn verscheiden werkwijzen bekend. Tot de meest gebruikelijke behooren die, welke op het beginsel berusten, dat het indoxyl tot indigo wordt geoxydeerd. Het gevormde indigo wordt dan bijvoorbeeld met kaliumpermanganaat getitreerd, zooals bij de werkwijzen aanbevolen door Fr. Obermayer, E. Wang of A. Ellinger, of men maakt gebruik van colorimetrie, zooals door onze landgenoot J. Bouma werd aanbevolen. A. Jolles heeft op de door hem gevonden reactie (indoxyl + thymol $\rightarrow$ 4 xymol-2 indolindolignon) eveneens een colorimetrische werkwijze gegrond.

Voor mijn onderzoek scheen de colorimetrische werkwijze volgens J. Bouma de meest geschikte, daar zij toch snel en eenvoudig is uit te voeren, een niet te onderschatten voordeel, wanneer men een groot aantal onderzoeken dient te verrichten. De colorimetrische werkwijze volgens Bouma ¹⁾ berust op het volgende beginsel: onder invloed van sterk mineraal zuur wordt bij verwarming het indoxyl uit zijn verbindingen met zwavelzuur of glucuronzuur vrijgemaakt, waarna het indoxyl zich verbindt met isatine tot indigorood. Dat indoxyl en

¹⁾ J. Bouma, Zeitschrift für physiologische Chemie, deel 32, 1901, blz. 32.

isatine indigorood kunnen vormen, heeft A. von Bayer reeds in 1881 aangetoond.



Bij de urine, waarvan men het indoxylgehalte wil leeren kennen, voegt men een tiende volumen-deel van een verzadigde oplossing van basisch loodacetaat, waarna men deze vloeistoffen door zeer krachtig schudden goed vermengt. Er ontstaat nu een volumineus neerslag, o.a. van loodphosfaat, -carbonaat, -uraat, -sulfaat en -chloride. Aan dit neerslag zijn zeker tal van stoffen geadsorbeerd, ook die, welke het uitschudden van het gevormde indigo met chloroform zouden bemoeilijken, doordat er een emulsie zou ontstaan en de chloroform zich zeer lastig zou ontmengen. Door deze voorbehandeling met basisch loodacetaat vergemakkelijkt men dus het uitschudden met chloroform. Bovendien worden kleurstoffen, die misschien zouden storen, eveneens aan dit neerslag geadsorbeerd en verwijderd. Na verwijdering van het neerslag door filtratie blijft dan ook een vrijwel kleurloze en heldere vloeistof over. In het geval, dat de urine niet versch meer is, bestaat er kans, dat in de urine oxydeerende stoffen zijn ontstaan, welke het indoxyl zouden oxydeeren tot indigoblauw. Het indigoblauw geeft dan met het indigorood een mengkleur, die niet goed te vergelijken is met de standaardoplossing van zuiver indigorood. Bouma raadt dan aan, door het filtraat zwavelwaterstofgas te leiden en aldus de oxydeerende stoffen onschadelijk te maken. Het zwavellood moet dan door filtratie worden verwijderd. In een reageerbuis, waarop merkstreepen bij $5\frac{1}{2}$ cc., $15\frac{1}{2}$ cc. en $20\frac{1}{2}$ cc. aangebracht zijn, brengt men $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat, overeenkomende met 5 cc. urine. Bij deze $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat voegt men 10 cc. van een oplossing van isatine in rookend zoutzuur, welke oplossing men verkrijgt door 20 mgr. isatine in 1 liter zoutzuur van 38 % op te lossen. Men verhit nu het mengsel tot kooktemperatuur en kookt dan nog enkele seconden door, waarna men het buisje afkoelt en het gevormde indigorood uitschudt met 5 cc. chloroform. De kleur der chloroformlaag wordt terstond vergeleken met een reeks standaardbuizen, welke een bekende hoeveelheid indigorood bevatten. Deze standaardbuizen, zes

in getal, bevinden zich in een statief, welk geheel als het toestel van B o u m a bekend staat.

In de standaardbuizen bevindt zich zooveel indigorood, als overeenkomt met achtereenvolgens 5, 10, 15, 20, 30 en 40 mgr. indican (kaliumzout van de indoxylzwavelzuurverbinding) per liter. Men kan dus zonder eenige berekening het indican-gehalte per liter urine direct aflezen. Het indoxyl wordt dus ter vereenvoudiging van de berekening beschouwd als geheel voor te komen in den vorm van indican. De standaardbuizen dienen in het donker bewaard te worden, teneinde kleurverandering te voorkomen.

In het laboratorium voor physiologische chemie was een toestel van B o u m a aanwezig. Daar de standaardbuizen reeds eenige tientallen van jaren geleden bereid waren, bestond het vermoeden, dat de kleur in den loop der jaren veranderd zou zijn. Daar het toestel van B o u m a niet in den handel is, werd volgens voorschrift van B o u m a een nieuwe standaardoplossing bereid. Urine, welke voorbehandeld was met basisch loodacetaat, werd voorzien met een gelijk volume van de bovenvermelde isatine-oplossing en gedurende een kwartier op een kokend waterbad geplaatst. Na afkoeling werd de vloeistof in een scheitrechter uitgeschud met een tiende volume chloroform. Het indigorood was overgegaan in de chloroformlaag, welke afgezonderd werd. De chloroform werd verdreven door verdamping op een kokend waterbad, waarna het indigorood overbleef. Deze rest werd gedurende twee uur in een droogstof bij 110° geplaatst en ter zuivering herhaaldelijk uitgewasschen, eerst met warm water, daarna met aether. Op een dergelijke wijze te werk gaande, gelukte het mij uit ongeveer een halve liter urine 8.2 mgr. zuiver indigorood te bereiden. Het vermoeden, dat de kleur der oudere standaard-indigo-oplossingen zou veranderd zijn, werd evenwel niet bewaarheid. Zoowel wat den aard als de sterkte betreft, kwam de versch bereide oplossing goed overeen met de oude. Eerst werd B o u m a 's werkwijze ter oefening toegepast op normale menschenurine. Het was echter opmerkelijk, hoe zelden er een duidelijke roode kleur ontstond, die goed te vergelijken was met een der standaardbuizen. En ontstond er een vergelijkbare kleur, dan was steeds het gehalte zeer klein. Nu komt in menschenurine wel weinig indoxyl voor, doch meestal werd een gehalte van 0 gevonden en wanneer de hoeveelheid te meten was, bereikte zij nooit die grootte, die men in de literatuur als de normale vindt opgegeven. In nog sterkere mate was dit het geval bij de hondenurine. Aan de zuiverheid der reagentia mocht niet getwijfeld worden, daar isatine van Merck en zoutzuur pro analysi werd gebruikt. Waarschijnlijk onttrok zich dus een gedeelte van het indoxyl aan het

onderzoek. Overigens staat deze waarneming niet alleen: A. Jolles ¹⁾ zegt in het artikel, waarin hij zijn nieuwe werkwijze voor het onderzoek van indoxyl in de urine beschrijft: „Bei der Nachprüfung der Boumaschen Methode konnten die guten Resultate Boumas nicht bestätigt werden. Während man bei Harnen mit höherem Indikangehalt schön rote Lösungen erhält, war es nicht möglich, bei Harnen mit niedrigerem Indikangehalt überhaupt eine Indigorotbildung festzustellen.“

Door de hoeveelheid toe te voegen isatine-zoutzuurmengsel te wijzigen werd getracht, betere uitkomsten te verkrijgen. Het is immers niet geheel duidelijk, waarom Bouma een dergelijke overmaat sterk zoutzuur gebruikte, terwijl deze toch alleen zou dienen voor splitsing der indoxylverbindingen. Deze splitsing is toch ook wel met een minder sterk zuur te verkrijgen. Weliswaar zegt Bouma: „Da jedoch ein Uebermasz von HCl und von Isatin nicht schadet, ist es besser, zur Vermeidung der Gefahr, dasz ein grösserer Indoxylgehalt sich der Beobachtung entzieht, zu 5½ cc. Filtrat 10 cc. Isatin zu fügen.“

In de eerste plaats werd nagegaan met welke hoeveelheid isatine-zoutzuur-mengsel men de sterkste en goed vergelijkbare kleur verkreeg. Uitgaande van telkens 5½ cc. filtraat werd achtereenvolgens 1, 2, 3, 4, 5, 6 en 10 cc. toegevoegd van een oplossing van 20 mgr. isatine in 1 liter zoutzuur van 38 %. Elk buisje werd op gelijke wijze verhit en na afkoeling uitgeschud met 5 cc. chloroform. De uitkomsten van enkele op deze wijze uitgevoerde proeven vindt men in de volgende staatjes:

Staat 1.

Aantal cc. isatine-zoutzuurmengsel per 5½ cc. filtraat	Aantal mgr. indican per liter urine
1	3
2	5
3	5
4	5
5	(5) slecht te vergelijken, geelachtig getint.
6	geel
10	0

¹⁾ A. Jolles, Zeitschrift für physiologische Chemie, deel 94, 1915, blz. 79.

Staat 2.

Aantal cc. isatine-zoutzuurmengsel per 5½ cc. filtraat	Aantal mgr. indican per liter urine
1	3
2	7
3	10
4	10
5	7
6	(6) slecht te vergelijken, geelachtig getint.
10	0

De vele verrichte proeven gaven de overtuiging, dat de sterkste en het beste te vergelijken kleur werd verkregen wanneer men inplaats van 10 cc. isatine-zoutzuurmengsel 3 à 4 cc. gebruikte. Nu rees echter de vraag, of deze duidelijk sterkere kleurontwikkeling het gevolg was van *het mindere zuurgehalte of van de geringere hoeveelheid isatine, die werd toegevoegd*. Teneinde dit uit te maken, werd een oplossing van 60 mgr. isatine in 1 liter zoutzuur van 38 % bereid. Immers, was de vermindering van het isatine de reden, dat de reactie zooveel duidelijker en beter te vergelijken werd, dan zouden de uitkomsten, met dit nieuwe mengsel verkregen, slechter zijn dan met het vorige mengsel. Het tegendeel bleek echter waar te zijn.

Met dit reagens, waarin zich dus driemaal zooveel isatine bevond als in het oorspronkelijke mengsel, werden steeds, zoowel in menschen- als hondenurine, betere uitkomsten verkregen. Toch gelukte ook hier de reactie het beste, wanneer inplaats van 10 cc. 3 à 4 cc. reagens gebruikt werd. De volgende uitkomsten mogen dit staven:

Staat 3.

Aantal cc. isatine-zoutzuurmengsel per 5½ cc. filtraat	Aantal mgr. indican per liter urine
1	5
2	11
3	28
4	27
5	(20) geelachtig getint.
6	(15) geelachtig getint.
8	niet te vergelijken.

De afbeelding in kleuren (zie figuur 2) van bovenstaande proef laat duidelijk den invloed van de hoeveelheid reagens zien.

Figuur 2



In buis a is $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat gekookt met 1 cc. reagens.

"	"	b	"	"	"	"	"	"	2	"	"
"	"	c	"	"	"	"	"	"	3	"	"
"	"	d	"	"	"	"	"	"	4	"	"
"	"	e	"	"	"	"	"	"	5	"	"
"	"	f	"	"	"	"	"	"	6	"	"
"	"	g	"	"	"	"	"	"	8	"	"

Het reagens bestaat uit 60 mgr. isatine per liter zoutzuur van 38 %.
Na koken en afkoelen werd uitgeschud met 5 cc. chloroform.

Verdere proeven met dit reagens, dat meer isatine bevatte, werden uitgevoerd, welke bevestigden, dat met 3 à 4 cc. reagens de beste uitkomsten werden verkregen. Het werd nu wel zeer waarschijnlijk, dat door verminderen van de H-ionenconcentratie de reactie beter uitviel en dat niet de mindere hoeveelheid isatine de oorzaak was. Integendeel, vergelijkende proeven met het oorspronkelijke reagens en met het reagens, dat meer isatine bevatte, toonden aan, dat dit laatste mengsel steeds de meest roode kleur te voorschijn roept en dus grootere uitkomsten geeft, dan het reagens met minder isatine. Bij deze vergelijkende proeven werd telkens $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat gekookt met achtereenvolgens 3 cc. van het mengsel, dat 20 mgr. isatine per liter zoutzuur bevatte en met 3 cc. van het mengsel, dat 60 mgr. per liter zoutzuur bevatte. Van beide mengsels werd dus de gunstigste hoeveelheid toegevoegd. Enkele uitkomsten worden in het volgende staatje vermeld:

Staat 4.

	Aantal mgr. indican per liter urine; $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat behandeld met 3 cc. reagens. (20 mgr. isatine op 1 L. zoutzuur)	Aantal mgr. indican per liter urine; $5\frac{1}{2}$ cc. filtraat behandeld met 3 cc. reagens. (60 mgr. isatine op 1 L. zoutzuur)
Urine A.	0	13
Urine B.	15	35
Urine C.	10	22

Nu het bleek, dat de hoeveelheid isatine van zoo grooten invloed was op de sterkte van de reactie, werd nagegaan of een mengsel, dat nog meer isatine bevatte, de kleur nog sterker deed worden. Daartoe werd 200 mgr. isatine opgelost in 1 liter zoutzuur van 38 %. Inderdaad was de roodkleuring met dit laatste reagens sterker dan met de andere, voorgaande reagentia. Uitgaande van telkens dezelfde urine werden vergelijkende proeven met de drie reagentia uitgevoerd, welke per liter zoutzuur achtereenvolgens 20 mgr., 60 mgr. en 200 mgr. isatine bevatten. (Volledigheidshalve zij vermeld, dat van het mengsel, dat 200 mgr. isatine per liter zoutzuur bevatte, ook 3 cc. de gunstigste hoeveelheid was om de sterkste kleur te doen ontstaan.)

De uitkomsten van enkele vergelijkende proeven worden in staat 5 gevonden.

Staat 5.

	Aantal mgr. indican per liter urine; 5½ cc. filtraat behandeld met 3 cc. reagens. (20 mgr. isatine op 1 L. zoutzuur)	Aantal mgr. indican per liter urine; 5½ cc. filtraat behandeld met 3 cc. reagens. (60 mgr. isatine op 1 L. zoutzuur)	Aantal mgr. indican per liter urine; 5½ cc. filtraat behandeld met 3 cc. reagens. (200 mgr. isatine op 1 L. zoutzuur)
Urine A.	0	13	19
Urine B.	10	22	45
Urine C.	13	25	50

Echter niet altijd was de kleur zoodanig zuiver rood bij de grootste hoeveelheid isatine, dat zij vergeleken kon worden; dikwijls ontstond een roodbruine verkleuring.

Het staat dus wel vast, dat hoe meer isatine men gebruikt, des te rooder de kleur wordt, tot er bij een bepaalde grens zich een bruine tint bijmengt. Deze grens is niet bij alle urines dezelfde.

De meening van B o u m a, als zoude een teveel aan zoutzuur of isatine niet schade doen aan de reactie, kan ik niet bevestigen. Een teveel aan zoutzuur belemmert het ontstaan van de verkleuring of ontleedt het eenmaal ontstane indigorood. Een teveel aan isatine bemoeilijkt het vergelijken door het ontstaan van een bruine tint.

Niet onvermeld wil ik in dit verband laten de ook eenigszins gewijzigde werkwijze volgens B o u m a, welke ik beschreven vond in het academisch proefschrift van A. J. G. B e l i n f a n t e ¹⁾. Hij voegt bij 5½ cc. filtraat 10 cc. van een oplossing van 20 mgr. isatine op 1 liter zoutzuur van 38 %; dus tot zoover geheel volgens voorschrift van B o u m a. Echter nu wordt niet tot kooktemperatuur verhit, maar men laat dit mengsel, na toevoeging van den chloroform, onder herhaald schudden, 4 tot 5 uur in het donker staan en vergelijkt daarna. Waarom deze wijziging werd gebruikt, staat niet vermeld, evenmin wie het eerst deze wijziging aanbracht.

Volgens dit voorschrift tewerk gaande wordt weliswaar een kleur verkregen, die beter te vergelijken is, dan wanneer men zou koken met 10 cc. reagens, echter het blijkt dat na 5 uur wachten de kleur zeker nog niet zoo sterk mogelijk is. 5 uur wachten is dus een vrij willekeurige grens; ook verliest het onderzoek veel aan eenvoudigheid en snelheid. Enkele uitkomsten, verkregen volgens dit voorschrift, volgen in staatje 6.

¹⁾ A. J. G. B e l i n f a n t e, Academisch proefschrift, Leiden, 1929.

Staat 6.

	Aantal mgr. indican per liter urine, afgelezen		
	terstond	5 uur	24 uur
	na toevoeging, zonder verwarmen, van 10 cc. reagens (20 mgr. isatine per L. zoutzuur van 38%) aan 5½ cc. filtraat		
Urine X	0	13	17
Urine Y	0	10	15

De hoeveelheid indican, per dag afgescheiden, zou bij gezonde mensen zelden 20 mgr. te boven gaan. Volgens de gewijzigde werkwijze, zooals ik die gebruikte, dus koken met 3 cc. van een reagens, dat 60 mgr. isatine per liter zoutzuur van 38 % bevat, komt men tot een hooger bedrag. Bijna steeds werd bij, voor zoover bekend, gezonde mensen een dagelijksche afscheiding van meer dan 20 mgr. indican gevonden. Het is mij niet bekend, dat in de urine andere stoffen dan indican met isatine roodgekleurde verbindingen, die in chloroform overgaan, vormen. Wel ontstaat vaak na koken van de urine met zoutzuur urososëine uit de moederstof urososëinogeen; dit urososëine is weliswaar ook rood gekleurd, maar gaat niet over in chloroform.

Met dat al is nog niet zeker of volgens dit gewijzigde voorschrift uitgevoerd, het onderzoek wel de juiste waarden oplevert.

Deze vraag te beantwoorden, hoe belangrijk overigens, lag niet op mijn weg. Voor het onderzoek was het van belang te weten, of de afscheiding van indican veranderde. Het was van ondergeschikt belang de volstreekte waarden te kennen. Immers, als men altijd volgens dezelfde wijze te werk gaat, krijgt men vergelijkbare uitkomsten.

Daarom werd bij de te beschrijven proeven altijd het reagens gebruikt, dat 60 mgr. isatine per liter zoutzuur bevatte en werd per 5½ cc. filtraat 3 cc. reagens gebruikt. Door gebruik te maken van deze gewijzigde werkwijze verkreeg ik boven de door B o u m a voorgeschreven werkwijze het voordeel, dat in de eerste plaats de kleuren altijd goed te vergelijken waren en in de tweede plaats, dat door de versterkte reactie kleine verschillen zich duidelijker lieten waarnemen.

b. Onderzoek naar estersulfaten in urine.

Voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte der urine aan estersulfaten kunnen verschillende werkwijzen gevolgd worden. Reeds

in 1877 beschreef E. Baumann ¹⁾ een werkwijze, die ook heden ten dage, zij het dan ook met enkele wijzigingen, nog veelvuldig wordt toegepast. Deze berust op de, voordien ook al bekende eigenschap SO_4 -ionen, dat zij met Ba-ionen een zoo goed als onoplosbare verbinding, een neerslag vormen. De estersulfaten reageeren echter niet met Ba-ionen, omdat het SO_4 , dat in de estersulfaten voorkomt, niet als vrij ion, doch gebonden aanwezig is. Maar nadat de estersulfaten met behulp van de hydrolytische werking van een zuur gesplitst zijn, kan de som van anorganisch en estersulfaat, dus het algeheel gehalte aan sulfaat worden vastgesteld.

Door aan een bekende hoeveelheid urine een overmaat van een Ba-zout-oplossing toe te voegen, slaan alle SO_4 -ionen uit de oplossing neer. Door de reactie van de urine tamelijk zuur te maken voorkomt men, dat andere verbindingen dan sulfaten eveneens neerslaan. Immers bij neutrale reactie slaan zeer zeker ook een gedeelte der phosphaten en carbonaten neer.

Het neerslag van Ba-sulfaat wordt nu afgezonderd en uitgewaschen en daarna gewogen. Is op deze wijze de grootte van het gehalte der urine aan anorganisch sulfaat bekend, dan kan men na splitsing der estersulfaten het algeheel sulfaat-gehalte vaststellen. Het verschil is dus te danken aan estersulfaat.

Bij de werkwijze volgens Baumann worden de anorganische sulfaten neergeslagen met een Ba-chloride-oplossing, terwijl de urine aangezuurd is met azijnzuur en tevens verwarmd wordt. Een eerste vereischte is dus wel, dat tijdens deze bewerking geen estersulfaten gesplitst worden. Baumann zegt naar aanleiding van deze zaak: „Keine der bisjetzt im Harn gefundenen gepaarten Schwefelsäuren wird bei einstündigen Erwärmen des mit verdünnter Essigsäure verestetzten Harns zerlegt.”

O. Folin ²⁾ bestrijdt echter deze opvatting. Deze bekende onderzoeker beweert, dat wel degelijk bij deze bewerking estersulfaten gesplitst worden. Indien echter de anorganische sulfaten neergeslagen worden, wanneer de urine niet verwarmd wordt en inplaats van met azijnzuur met verdund zoutzuur aangezuurd wordt, zou deze splitsing in het geheel niet plaats vinden. Inderdaad vindt Folin, volgens dit laatste voorschrift te werk gaande, een aanzienlijk hooger gehalte aan estersulfaten, dan wanneer hij werkte volgens Baumann. Algemeen wordt dan ook de werkwijze volgens Folin gevolgd, wanneer men althans het gehalte aan sulfaten door wegen wil vinden.

¹⁾ E. Baumann, Zeitschrift für physiologische Chemie, deel 1, 1877, blz. 70.

²⁾ O. Folin, Journal of biological chemistry, deel 1, 1906, blz. 131.

Echter het tijdroovende van deze werkwijze ligt in het uitwasschen en wegen van het neerslag van Ba-sulfaat. Ook stelt de gewichtsanalyse, hoe eenvoudig in beginsel, grootere eischen aan de practische ervaring van den onderzoeker.

Evenwel bestaat er een maatanalytische werkwijze, welke naast betrouwbaarheid het voordeel bezit niet zeer veel tijd te eischen. Daar bij mijn onderzoek deze laatste werkwijze, door O. Rosenheim en J. C. Drummond beschreven ¹⁾, werd gevolgd, wordt zij meer uitvoerig beschreven. Benzidine is een vaste stof, welke de volgende chemische samenstelling bezit: $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$. Het is een zwakke base, zooals ook uit de formule valt af te leiden. Het verbindt zich met SO_4 -ionen tot een onoplosbaar zout, benzidinesulfaat. Brengt men echter dit benzidinesulfaat in zuiver water, dan valt het zooals te verwachten, voor een goed deel uiteen. Teneinde er dus zeker van te zijn, dat alle vrij sulfaat met benzidine is neergeslagen, moet men er voor zorgen, een overmaat benzidine-ionen in oplossing te hebben, die de hydrolyse van het zout terugdringen. Met voordeel maken we echter gebruik van de eigenschap van het benzidinesulfaat, dat het in water uiteenvalt, wanneer we het neerslag van benzidinesulfaat afgezonderd en in water gebracht hebben. Immers nu zal het benzidinesulfaat ten deele, onder opnemen van water, in zwavelzuur en benzidine uiteenvallen. Wordt nu het zwavelzuur weggenomen, door NaOH b.v., dan valt het benzidinesulfaat tenslotte volledig in zijn bestanddeelen uiteen. Op deze wijze kunnen wij in het neerslag maatanalytisch de hoeveelheid zwavelzuur, en dus de oorspronkelijk aanwezige SO_4 -ionen vaststellen.

Men voert de bepaling als volgt uit: 25 cc. urine wordt met behulp van een pipet in een Erlenmeyer-kolf gebracht. Teneinde de urine den gewenschten zuurgraad te geven, wordt zoolang verdund zoutzuur toegevoegd, tot de reactie ten opzichte van congoroodpapier duidelijk zuur is. De kleur van congorood slaat om naar blauw, wanneer de Ph 4 of kleiner wordt. Door zeer kleine, smalle strookjes papier te gebruiken, is het verlies aan vloeistof zoo gering, dat dit zonder veel bezwaar verwaarloosd mag worden. Het kan geschat worden op 0,01 à 0,02 cc., een fout dus van hoogstens één per duizend.

Is nu congorood naar rood omgeslagen, dan is de Ph van de urine zoodanig, dat geen andere stoffen dan sulfaten met benzidine een neerslag kunnen geven. Toch is de reactie niet zoo sterk zuur, dat de ester-sulfaten gesplitst worden. Nadat de urine aldus aangezuurd is, voegt men 100 cc. van een benzidine-oplossing toe. Benzidine zelf is vrij slecht

¹⁾ O. Rosenheim en J. C. Drummond, Biochemical Journal, deel 8, 1914, blz. 143 en deel 9, 1916, blz. 492.

oplosbaar in water. Daar het echter zwakke basische eigenschappen bezit, zijn gemakkelijk verbindingen met sommige zuren te vormen, welke goed oplosbaar zijn. Benzidine lost o.a. op onder zoutvorming in zoutzuur of sterk azijnzuur. De benzidine-oplossing, die bij de bepaling gebruikt wordt, is als volgt bereid: 4 gram benzidine purissimum (Kahlbaum) wordt in een kleine mortier met 10 cc. gedestilleerd water tot een papje gewreven. Daarna wordt het overgebracht in een maatkolf van 2 liter inhoud. Mortier en stamper worden nagespoeld met gedestilleerd water en ook het waschwater wordt in de kolf gebracht. Als het volume vloeistof in de kolf met gedestilleerd water tot ongeveer 500 cc. is aangevuld, wordt 5 cc. zoutzuur pro analysi van 38 % toegevoegd en goed gemengd. Gaandeweg lost de benzidine op onder vorming van benzidine-chloride. Tenslotte vult men de kolf aan met gedestilleerd water tot 2 liter en het benzidine-reagens is voor gebruik gereed. Rosenheim en Drummond geven op, dat 150 cc. van deze oplossing in staat zijn om 100 mgr. H_2SO_4 neer te slaan. Het grootste sulfaat-gehalte, dat ik ooit gevonden heb, bedroeg 56,6 mgr. per 25 cc. urine, zoodat 100 cc. van deze benzidine-oplossing ruim voldoende is om deze hoeveelheid zwavelzuur neer te slaan.

Na de toevoeging van de benzidine-oplossing wordt 10 minuten gewacht, waarna al de SO_4 -ionen zijn neergeslagen. Er bevindt zich dan op den bodem van de kolf een meer of minder dik neerslag van benzidine-sulfaat, welk neerslag nu afgezonderd en gereinigd dient te worden, voordat de hoeveelheid door titratie met NaOH of KOH kan worden gemeten. Daartoe wordt gebruik gemaakt van een Gooch-trechter, waarin zich als filter een ongeveer 1 cm. dikke pap van filtreerpapier bevindt. Het affiltreren aan de zuigpomp gaat snel. Het spreekt vanzelf, dat trechter en filter van te voren goed gereinigd moeten zijn door herhaalde malen door te spoelen met gedestilleerd water. Om te voorkomen, dat het weinigje water, dat zich nog in de filtreerpapierpap bevindt, de hydrolyse van het benzidine-sulfaat bevordert, schonk ik vóór het gebruik enkele cc. van een verzadigde benzidine-sulfaat-oplossing door het filter. Dan splitst het benzidine-sulfaat-neerslag zich niet. De waterstraalluchtpomp wordt zoo geregeld, dat de luchtstroom niet te snel of te langzaam door het filter zuigt. In het eerste geval toch bestaat er kans, dat het filter met het neerslag drooggezogen wordt, in het tweede geval zou de bewerking teveel tijd vergen. Vooral tegen het droogzuigen van het neerslag wordt door Rosenheim en Drummond gewaarschuwd.

In den eersten tijd, dat ik deze werkwijze volgde, kwam het wel eens voor, dat door de nog geringe ervaring, het neerslag drooggezogen werd. Het neerslag glinstert dan en wanneer het dan in water wordt

gebracht, verdeelt het zich nauwelijks of niet door de vloeistof, iets wat het volgens voorschrift behandelde neerslag wel doet.

Is de vloeistof zooveel mogelijk op het filter geschonken, dan brengt men in de Erlenmeyer-kolf ongeveer 15 cc. van een verzadigde benzidine-sulfaat-oplossing en spoelt hiermede de wanden van het vat en de nog aan de wanden klevende neerslagdeeltjes goed om. Daarna wordt de waschvloeistof eveneens op het filter gebracht. Deze bewerking heeft dus ten doel te zorgen dat in het vat en op het filter niets anders dan benzidine-sulfaat overblijft. Andere stoffen, die later bij de titratie loog zouden kunnen binden of op andere wijze de titratie zouden kunnen storen, moeten natuurlijk verwijderd worden. Dat men voor deze reiniging een verzadigde oplossing van benzidine-sulfaat gebruikt, is wel begrijpelijk. Met gedestilleerd water zou er ongetwijfeld een deel van het neerslag in oplossing gaan en zich aan de titratie onttrekken. Door deze verzadigde oplossing van benzidine-sulfaat als waschvloeistof te gebruiken, wordt de hydrolyse van het neerslag tegengegaan.

Maakt men echter geen fout door juist een benzidine-sulfaat-oplossing te nemen? Er blijft toch in het neerslag en filter een zekere hoeveelheid waschvloeistof, zij het een kleine, achter. De hierin aanwezige hoeveelheid benzidine-sulfaat bindt bij de titratie toch loog? Waarom neemt men voor de waschvloeistof bijvoorbeeld geen aceton, waarin het benzidine-sulfaat ook onoplosbaar is?

Ongetwijfeld wordt hier in theoretisch opzicht een fout gemaakt. In de praktijk komt het echter hierop neer, dat door deze geringe hoeveelheid benzidine-sulfaat-oplossing zoo weinig loog wordt gebonden, dat deze nauwelijks in aanmerking komt en misschien nog eenigszins opweegt tegen onvermijdelijk verlies.

Overigens, wat betreft het gehalte aan estersulfaten, wordt deze zeer geringe fout nog veel kleiner. De hoeveelheid estersulfaat wordt toch berekend uit het verschil van algeheel en anorganisch sulfaat. Daar òn bij algeheel sulfaat-gehalte òn bij anorganisch sulfaat-gehalte ongeveer dezelfde kleine fout worden gemaakt, valt deze zoo goed als weg bij de berekening van het verschil.

Het neerslag met filter wordt dan zonder verlies teruggebracht in de oorspronkelijke Erlenmeyer-kolf. De Gooch-trechter wordt met gedestilleerd water doorgespoeld en dit waschwater eveneens in de Erlenmeyer-kolf gebracht. Tot ongeveer 100 cc. vult men met gedestilleerd water bij. Nu splitst het benzidine-sulfaat zich, voorloopig ten deele. Voordat men evenwel met de titratie van het neerslag begint, moet de inhoud van de kolf door langdurig, krachtig schudden goed vermengd worden. Dit dient om het neerslag in zeer fijn verdeelden toestand door de vloeistof te mengen, zoodat bij de titratie al het neerslag gemakkelijk

aangetast kan worden.

Voor de titratie is het noodig, dat men het mengsel verhit. Bij deze hoogere temperatuur gaat de hydrolytische splitsing sneller en dus de titratie vlugger en met grootere zekerheid. Tot welke temperatuur verhit dient te worden, vermelden Rosenheim en Drummond niet. Wel zeggen zij: „it must be titrated hot”. Ik heb steeds een temperatuur van 60° Celsius gekozen. Als indicator worden enkele druppels van een verzadigde oplossing van phenolphthaleïne in alcohol gebruikt.

De loog, welke het H_2SO_4 moet binden, is bijvoorbeeld KOH van 0,1 N. Men titreert tot de eerste roode verkleuring duidelijk door de geheele vloeistof zichtbaar is. Een eenvoudige berekening leert, dat 1 cc. KOH van 0,1 N in staat is om 4,9 mgr. H_2SO_4 te binden.

Heeft men op deze wijze het gehalte aan anorganisch sulfaat gevonden, dan wordt, eveneens uitgaande van 25 cc. urine, het algeheel sulfaat-gehalte gemeten. Daartoe wordt in een Erlenmeyer-kolf 25 cc. urine gebracht. Als zuur, dat de estersulfaten zal moeten splitsen, kiest men zoutzuur van 10 %, waarvan men $2\frac{1}{2}$ cc. toevoegt. Wanneer dit mengsel gedurende 20 minuten op een kleine vlam bij kooktemperatuur verhit is geweest, mag men wel aannemen, dat alle ester-sulfaten ontleed zijn. Er bestaat echter gevaar, dat door dit koken veel van de vloeistof zou verdampen. Het is met het oog hierop gewenscht, dat vóór het koken reeds 10 cc. gedestilleerd water wordt toegevoegd om het vloeistofverlies te vergoeden en te zorgen, dat het volume niet te gering wordt. Tevens wordt de opening in de Erlenmeyer-kolf toegedekt met een klein trechtertje met nauwe hals, dat dus eenigszins als terugvloeikoeler dienst doet. Na 20 minuten gekookt te hebben, wordt na afkoeling de urine voorzien van 100 cc. benzidine-oplossing en verder evenzoo behandeld als reeds voor het onderzoek naar het gehalte aan anorganisch sulfaat is beschreven. Het is niet noodig, deze urine van te voren ten opzichte van congorood zuur te maken. Van de 2 cc. zoutzuur van 10 %, die de gepaarde verbindingen splitsten, is nog wel zooveel over, dat de reactie zuur is ten opzichte van congorood.

Gedurende het koken van de urine met zoutzuur wordt de kleur van de urine meer of minder donkerbruin, afhankelijk van het grooter of kleiner gehalte aan bepaalde organische stoffen, meer in het bijzonder moederstoffen van urinekleurstoffen, die door het koken met zoutzuur verbindingen van roode of bruine kleur vormen. Het neerslag van benzidine-sulfaat uit de gekookte urine was dan ook altijd donkerder gekleurd, dan het neerslag van de benzidine-verbinding met het anorganisch welk laatste licht geel gekleurd is.

Deze bruine kleur van het neerslag is bij het titreeren vaak hinderlijk daar zij het waarnemen van de eerste overgang naar rood bemoeit.

lijkt. Maar door eenige oefening is deze moeilijkheid wel te overwinnen.

Het spreekt vanzelf, dat ik herhaaldelijk in dezelfde urine eenige analyses naast elkaar uitvoerde, om mij van de nauwkeurigheid, welke ik met deze werkwijze bereiken kon, te overtuigen. De volgende getallen mogen dit toelichten.

Staat 7.

Aantal cc. KOH 0,1 N (per 25 cc. urine)		
	anorganisch sulfaat	algeheel sulfaat
Urine A	1,01	2,69
	1,10	2,62
Urine B	9,40	11,48
	9,33	11,37
Urine C	8,72	8,92
	8,70	8,89
Urine D	7,41	7,65
	7,47	7,69

Uit deze getallen blijkt, dat, wanneer men althans uitgaat van 25 cc. urine, de nauwkeurigheid van de titratie vrij groot is. Onderlinge verschillen, grooter dan 0,1 cc. KOH van 0,1 N kwamen niet voor. 0,1 cc. KOH meer of minder zal voor het gehalte aan estersulfaten in de urines A en B niet van veel belang zijn, daar dit gehalte vrij groot is. Echter wordt de betrekkelijke fout aanzienlijker, wanneer het gehalte aan estersulfaten klein is, zooals bijvoorbeeld bij de urines C en D het geval is.

Rosenheim en Drummond geven ook enkele vergelijkende uitkomsten en komen ook tot een onderlinge fout van niet grooter dan 0,1 cc. KOH van 0,1 N, wanneer men uitgaat van 25 cc. urine.

A. L. Flohr¹⁾ heeft de werkwijze van Rosenheim en Drummond vergeleken met die van Folin. Hij kwam tot het besluit, dat de uitkomsten, verkregen met de beide werkwijzes, goed overeenstemmen. Het onderzoek leert, dat volgens de werkwijze van Rosenheim en Drummond men de nauwkeurigheid niet grooter mag verwachten dan 0,1 cc. KOH van 0,1 N.

Moge het bij den eersten indruk bevreemden, dat ten opzichte van

¹⁾ A. L. Flohr, Nederlandsch tijdschrift voor geneeskunde, deel 2, 1917, blz. 1553.

phenolphthaleïne, dat toch zoo een scherpe kleuromslag heeft, niet nauwkeuriger getitreerd kan worden, dan met een fout van 0,1 cc. KOH, men moet niet vergeten, dat verschillende bewerkingen zijn uitgevoerd met het zwavelzuur, dat men titreert, bijvoorbeeld het affiltreeren van het neerslag. Ook is het geen waterheldere oplossing, waarin men titreert, maar een soort papje van kleine snippertjes filtreerpapier. Neemt men deze omstandigheden in aanmerking, dan kan men zeer tevreden zijn, als de fout nooit grooter wordt dan 0,1 cc. KOH van 0,1 N.

Teneinde de nauwkeurigheid te vergrooten, heb ik steeds twee analyses naast elkaar verricht en het gemiddelde der uitkomsten genomen. Wordt in de tabellen in het volgende hoofdstuk slechts één getal vermeld, dan is dit getal het gemiddelde van de uitkomsten van twee bepalingen.

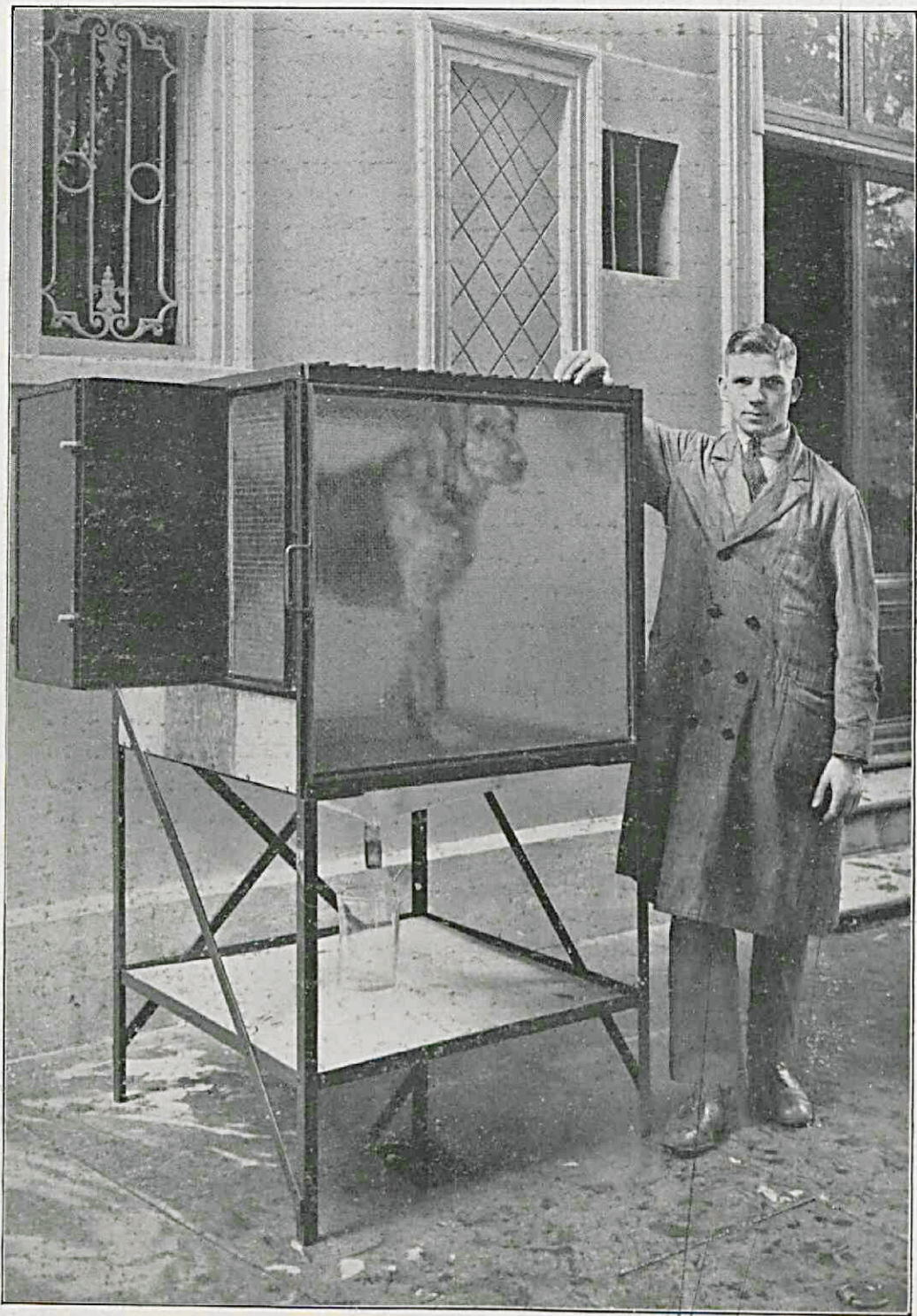
c. Onderzoek naar de afscheiding der stikstof in de urine.

Hoewel niet rechtstreeks in verband met de afscheiding van gepaarde verbindingen, kwam het mij gewenscht voor om ook het gehalte der urine aan stikstof te onderzoeken. Het stikstofgehalte geeft toch een inzicht in den eiwit-omzet en de kennis van deze scheen mij niet zonder belang ter beoordeeling van den toestand van het proefdier.

Ik gebruikte de bekende werkwijze van Kjeldahl. Deze berust op het beginsel, dat de stikstofhoudende bestanddeelen van organischen aard door inwerking van geconcentreerd zwavelzuur bij hooge temperatuur vernield worden, waarbij steeds de stikstof in den vorm van ammoniak vrijkomt en dan zich met het zwavelzuur verbindt. Door daarna de vloeistof alkalisch te maken wordt het ammoniak in vrijheid gesteld en dan door destillatie opgevoerd worden in een bekende overmaat van een of ander zuur. Door terugtitratie is dan het stikstofgehalte te berekenen. Er werd uitgegaan van 5 cc. urine, die in een destructiekolf met lange hals werd gebracht. Na toevoeging van 5 cc. zwavelzuur van 96 % en een druppel metallisch kwik wordt de inhoud van de kolf *zoolang op een kleine vlam verhit, totdat de vloeistof over zwart kleurloos is geworden*. Dan kan men aannemen, dat alle stikstof in den vorm van ammoniumsulfaat aanwezig is. Het metallisch kwik wordt toegevoegd om de verbranding van de organische stoffen te bespoedigen. Door het overgaan van mercuri- in een mercurio-verbinding draagt het de zuurstof over op de te oxydeeren stoffen. Zelf wordt de mercurio-verbinding weer door het zwavelzuur gemakkelijk tot mercuri geoxydeerd. Na afkoeling wordt de kolf half bijgevuld met gedestilleerd water en de inhoud overgebracht in een zoogenaamde kook-kolf. Deze heeft een grooteren inhoud dan de vorige kolf en moet nu eveneens tot ruim de helft bijgevuld worden met gedestilleerd water. Ten opzichte van

phenolptaleïne wordt met sterke natronloog onder afkoelen geneutraliseerd.

Immers door de neutralisatie-warmte, die ontstaat, bestaat er kans dat ammoniak zou ontsnappen. Wanneer echter gekoeld wordt, zal dit niet gebeuren. Is de kleur net even omgeslagen naar rood, dan wordt 5 cc. van een verzadigde oplossing van kaliumsulfide toegevoegd om het kwik vast te leggen in den vorm van een neerslag van kwiksulfide. Werd dit niet gedaan, dan bindt het kwik een zeker gedeelte van de ammoniak, dat niet overgedestilleerd wordt. Nu wordt de vloeistof duidelijk alkalisch gemaakt en een mespunt talk toegevoegd om een rustig koken te verzekeren. De ammoniak wordt overgedestilleerd en opgevangen in 30 of, indien een zeer groot gehalte aan stikstof verwacht kan worden, in 40 cc. zwavelzuur van 0,25 N. De hoeveelheid zuur, die niet gebonden is door den ammoniak wordt met natronloog van 0,25 N. gemeten ten opzichte van de indicator methylooranje. 1 cc. zwavelzuur van 0,25 N bindt zooveel ammoniak, als overeenkomt met 3,5 mgr. stikstof.



Afbeelding van een der bij de proeven
gebruikte stofwisselingskooien.

HOOFDSTUK V.

EIGEN ONDERZOEK EN UITKOMSTEN.

Zooals reeds in hoofdstuk II en III besproken werd, stelde ik mij voor de afscheiding met de urine van gepaarde verbindingen na te gaan vóór en na „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel; om aldus een oordeel te kunnen vormen of de „blokkade” op eenige wijze op deze afscheiding van estersulfaten en indican invloed oefent.

Wil men echter met eenige zekerheid gevolgtrekkingen maken uit al of niet versterkte afscheiding van gepaarde verbindingen, dan dienen bepaalde voorwaarden vervuld te worden. In de eerste plaats moet de persoon of het proefdier, waarbij men deze afscheiding onderzoekt, gedurende den tijd van de proefneming dagelijks op dezelfde wijze gevoed worden; zoowel wat betreft den aard als de hoeveelheid voedsel. Ook is het noodig om de geheele hoeveelheid urine te onderzoeken en niet bijv. éénmaal per dag, al is het dan ook telkens op dezelfde tijd, een steekproef te doen in een kort van te voren geloosde portie urine.

Daar ik bij mijn onderzoek den hond als proefdier gebruikte, is het dus noodzakelijk, dat het dier gedurende den tijd van proefneming in een z.g. stofwisselingskooi wordt gehouden. Een afbeelding van een dergelijke kooi moge de voorstelling ervan verduidelijken. Het is n.l. mogelijk de geheele hoeveelheid urine, gescheiden van de faeces, te verzamelen. De bodem van de kooi bestaat uit een reeks van smalle, ronde ijzeren staafjes, die zeer dicht naast elkaar liggen, bijna tegen elkaar sluiten. Toch is de opening ertusschen voldoende ruim, om alle urine snel door te laten, terwijl de faeces op het filter blijven liggen. Een groote trechter verzamelt dan de urine in een vat, dat men er onder plaatst.

Aan één der wanden van de kooi is een inrichting bevestigd, die het mogelijk maakt het dier voedsel te geven, zonder dat het uit de kooi kan ontsnappen. De kooi was geplaatst in een stal, waar geen andere dieren hun verblijf hadden; ook was de persoon, die het voedsel bracht, altijd dezelfde en er kwamen gedurende de proef geen andere personen in den stal. Gedurende de proef was de leefwijze dus zeer regelmatig en werden bijzondere prikkels zooveel mogelijk vermeden: zintuigelijke indrukken toch kunnen een invloed oefenen op stofwisselingsprocessen van allerlei aard. Men denke b.v. aan de bekende onderzoeken van I. P. P a w l o w.

Kortom, naast een evenwicht, dat bereikt kan worden door elken dag hetzelfde en dezelfde hoeveelheid voedsel (mits deze hoeveelheid in voedingswaarde overeenkomt met de behoefte van het dier) te geven, moet men er ook naar trachten alle prikkels te vermijden, die invloed zouden hebben op welke stofwisselingsprocessen ook.

Voor mijn proefnemingen koos ik een niet te ouden hond, waarbij geen ziekelijke afwijkingen werden gevonden en die nog niet voor een of ander wetenschappelijk onderzoek als proefdier gebruikt was. Bij een en hetzelfde dieet werd dan de hoeveelheid urine gedurende 2 etmalen afgescheiden, verzameld en gemeten. Daarna onderzocht ik het gehalte aan estersulfaten en indican op de wijze, zooals in het vorige hoofdstuk beschreven is. Ook onderzocht ik volgens de werkwijze van K j e l d a h l het stikstofgehalte. Werden gedurende een of twee weken deze stoffen in vrij standvastige hoeveelheden afgescheiden, dan werd door inspuiting in een ader van oost-indischen inkt het reticulo-endotheliale stelsel „geblokkeerd” en nagegaan of de hoeveelheid afgescheiden gepaarde verbindingen en stikstof veranderde.

Voordat ik echter deze proefnemingen verrichtte, ging ik na welke samenstelling van het voedsel met het oog op de bedoeling der proef de gunstigste zou zijn. Ook om eenigszins vertrouwd te geraken met de moeilijkheden, die een dergelijke proef biedt, scheen het mij niet ongewenscht, eerst een gedurende een tijd, overeenkomende met den vermoedelijken duur van een volledige proef, een hond in de kooi te plaatsen en de urine te onderzoeken op gepaarde verbindingen en stikstof. Ook zouden veranderingen in de afscheiding van deze stoffen, die niet door „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel, maar door andere omstandigheden waren veroorzaakt, zich openbaren. Het is toch niet uitgesloten, dat de vrij eentonige en eenzijdige voeding, het feit van de eenzame opsluiting hun invloed gaan oefenen op de afscheiding van voormelde stoffen. De invloed van deze en andere factoren kan zich wellicht pas na weken of na een nog langeren tijd doen gelden en men zou bij een proefneming deze verandering van de afscheiding toeschrijven aan de „blokkade” en verkeerde gevolgtrekkingen maken. De proef, die ik nu ga beschrijven, kan dus met eenig recht een „blinde proef” worden genoemd.

Onderzoek No. 1.

Hond No. 1, een reu, ongeveer 4 jaar oud, wegende 17 K.G., werd op 26 Januari 1930 in de stofwisselingskooi geplaatst en ontving dagelijks een voedsel van volgende samenstelling: 400 gr. bruin brood, 250 c.c. melk, 500 gr. aardappelen, 150 gr. paardenvleesch.

Gedurende de eerste dagen was het dier nog niet gewend aan zijn nieuwe omgeving en loosde in de eerste 60 uur geen druppel urine. Ik begon dan ook eerst de urine te onderzoeken, toen het dier blijk gaf zich meer op zijn gemak te gevoelen. Op 5 Febr. onderzocht ik voor het eerst de urine, die gedurende 3 en 4 Febr. afgescheiden was. Een tijdlang verrichtte ik het onderzoek naar indican- en stikstofgehalte. De uitkomsten worden in de volgende staat weergegeven.

Staat 8 (onderzoek No. 1).

Datum	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 c.c.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
3 Febr. 1930 }					
4 " " }	1700	10	0,92	17	15,6
5 " " }					
6 " " }	1760	15	0,79	25	13,9
7 " " }					
8 " " }	2500	6	0,81	15	20,3
9 " " }					
10 " " }	1950	4	0,78	8	15,2
11 " " }					
12 " " }	2300	6	0,83	14	19,1
13 " " }					
14 " " }	1960	8	1,02	16	20,0
15 " " }					
16 " " }	2100	7	0,88	15	18,5
17 " " }					
18 " " }	1610	4	1,17	6	18,8
19 " " }					
20 " " }	1630	3	1,31	5	21,3
21 " " }					
22 " " }	1680	3	1,29	5	21,7
23 " " }					
24 " " }	2080	4	0,93	8	19,4

Bij de bestudeering van deze getallen treft het, dat de afscheiding van stikstof in het begin kleiner is dan later. Ongetwijfeld heeft het dier, dat op het oogenblik dat het in de kooi werd geplaatst, in slechten voedingstoestand verkeerde, gedurende de eerste weken zijn schade ingehaald. Toen de hond dan ook op 24 Febr., dus ongeveer een maand nadat hij gekoooid was, weer werd gewogen, bleek dat hij ruim 2 pond was aangekomen. Het feit, dat de stikstof-afscheiding zoo gering was, wordt zoodoende wel duidelijk.

Voorts zien wij, dat in den loop van het onderzoek de afscheiding van indican in grootte afneemt. Gedurende twee weken werden, hoewel geringe, toch meetbare en vrij standvastige hoeveelheden gevonden.

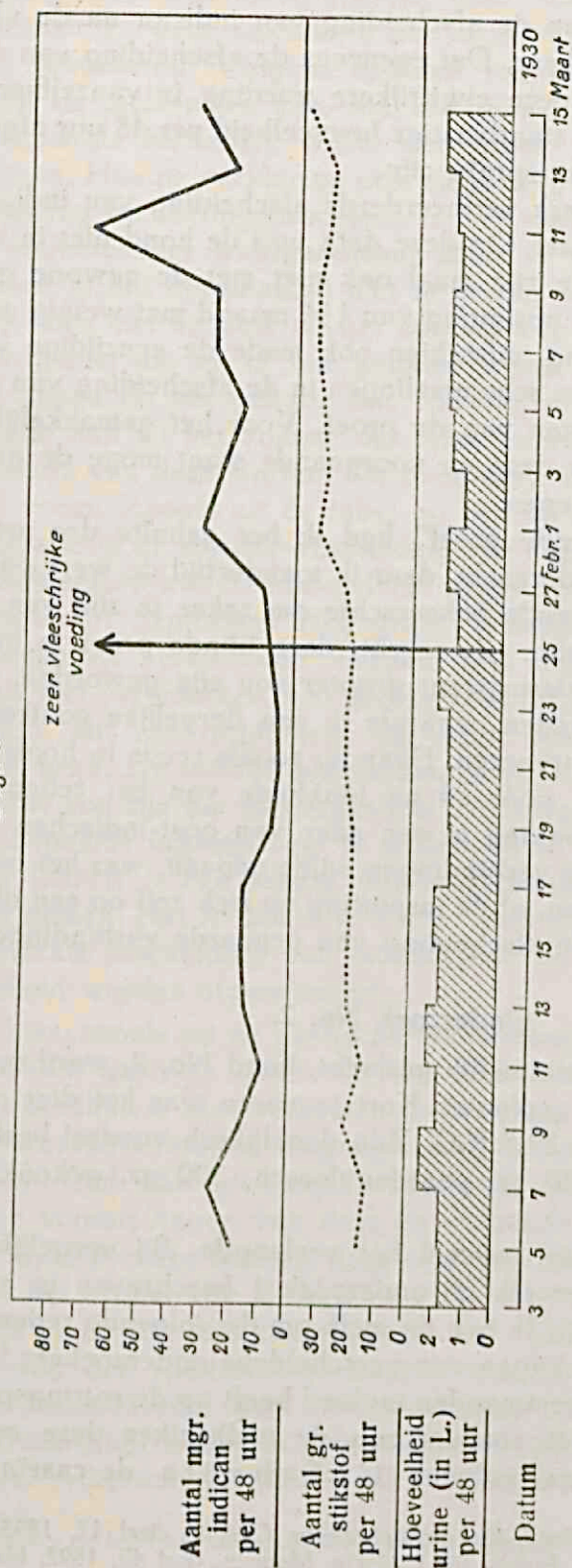
Nadien zijn echter de gehalten aan indican en dientengevolge de algehele hoeveelheden per 48 uur zoo gering, dat zij nauwelijks meer meetbaar zijn. Daar nu een vermeerdering en zeer zeker een vermindering van de afscheiding van indican pas waargenomen kan worden, wanneer we deze verandering kunnen vaststellen ten opzichte van een niet te geringe en meetbare hoeveelheid, trachtte ik, door meer vleesch met de voeding te geven, de afscheiding van indican te versterken. Immers bij vleeschrijke voeding is het te verwachten, dat meer indol ontstaat en het is dan ook bekend, dat in dat geval de afscheiding van indican toeneemt. Op 25 Febr. veranderde ik dus het dieet en wel zoo, dat de hond een dagelijksch voedsel kreeg van de volgende samenstelling: 200 gr. bruin brood, 250 c.c. melk, 400 gr. paardenvleesch, 250 gr. aardappelen.

De afscheiding van indican en stikstof gedroeg zich toen als volgt:

Staat 9 (onderzoek No. 1).

Datum	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
25 Febr. 1930					
26 " " }	1460	7	1,55	10	22,6
27 " " }					
28 " " }	1845	18	1,74	30	32,1
1 Maart " }					
2 " " }	1230	20	2,37	25	29,2
3 " " }					
4 " " }	1730	10	1,76	17	30,1
5 " " }					
6 " " }	1875	14	1,79	26	33,7
7 " " }					
8 " " }	1800	15	1,83	27	32,9
9 " " }					
10 " " }	1545	45	1,83	70	28,2
11 " " }					
12 " " }	1705	12	1,58	20	26,9
13 " " }					
14 " " }	2015	16	1,82	32	36,5

Fig. 3



Onderzoek No. 1. Nadat hond No. 1 vanaf 26 Jan. 1931 tot en met 24 Febr. 1931 een voedsel van standvastige samenstelling had genoten, werd op 25 Febr. 1931 zeer vleeschrijk voedsel verstrekt. (400 gr. paardenvleesch per dag.) De belangrijke schommeling welke de lijn der indican-afscheiding vertoont bij het einde der proef, staat in verband met een tijdelijke ongesteldheid van het dier.

De vermeerdering van de afscheiding van indican na de vleeschrijke voeding is onmiskenbaar. Dat eveneens de afscheiding van stikstof grooter is geworden bij deze eiwitrijkere voeding is vanzelfsprekend.

Van een min of meer standvastige hoeveelheid per 48 uur afgescheiden indican kan nauwelijks sprake zijn.

Eigenaardig is de sterk vermeerderde afscheiding van indican met de urine van 9 en 10 Maart. Op deze data was de hond niet in zijn gewone doen en verorberde zijn maal ook niet met de gewone graagte. Mogelijk is de langdurige opsluiting van $1\frac{1}{2}$ maand met weinig gelegenheid tot lichaamsbeweging, misschien ook mede de eenzijdige voeding van invloed op deze sterke schommelingen in de afscheiding van indican gedurende de laatste dagen van de proef. Voor het gemakkelijk overzicht der uitkomsten van deze en voorgaande staat moge de grafische voorstelling op blz. 65 dienen.

Bij voorgaande „blinde proef” had ik het gehalte der urine aan estersulfaten nog niet onderzocht, daar ik toendertijd de werkwijze voor dit onderzoek niet voldoende beheerschte om zeker te zijn van de uitkomsten. Het was derhalve gewenscht, deze blinde proef te herhalen, wanneer mijn ervaring hieromtrent grooter zou zijn geworden. Er was echter nog een andere reden, waarom ik een dergelijke contrôle-proef ten tweede male wilde uitvoeren. Daar ik, zooals reeds in hoofdstuk III uitvoerig beschreven is, vóór en na blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel door inspuiting in een ader van oost-indischen inkt, de afscheiding van gepaarde verbindingen wilde nagaan, was het niet overbodig eveneens na te gaan, of de inspuiting op zich zelf op een of andere wijze invloed heeft op de afscheiding van gepaarde verbindingen.

Onderzoek No. 2.

Een hond van het mannelijk geslacht, hond No. 2, werd op 3 September 1930 in de kooi geplaatst. Kort te voren was het dier gewogen en had een gewicht van 23,5 K.G. Zijn dagelijksch voedsel bestond uit: 300 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. gekookte aardappelen.

Water verkreeg het dier zooveel het verlangde. Bij vergelijking van dit voedsel met dat, hetwelk bij onderzoek 1 beschreven is, ziet men, dat nu de melk ontbreekt. Ik heb de melk om de volgende redenen weggelaten. Uit de mededeelingen van verscheidene onderzoekers ¹⁾ schijnt te blijken, dat melk een remmenden invloed heeft op de rottingsprocessen in het darmkanaal. Niet zoozeer zou de melksuiker deze remmende werking bezitten, dan wel volgens C. Schmitz de caseïne. Deze

¹⁾ C. Schmitz, Zeitschrift für physiologische Chemie, deel 17, 1893, blz. 401. E. Biernacki, Deutsches Archiv für klinische Medizin, deel 49, 1892, blz. 87.

verklaring heeft iets onbegrijpelijks, daar caseïne toch tot de eiwitstoffen behoort en deze stoffen in het algemeen de rotting in het darmkanaal bevorderen. Volgens anderen zou het dan ook wel het koolhydraat, de melksuiker zijn, die een gunstigen voedingsbodem vormt voor bepaalde bacteriën, welke den groei van de rottingsbacteriën tegenstaan. Hoe de verklaring ook moge zijn, de remmende invloed van melkvoeding op rottingsprocessen in het darmkanaal is door verschillende onderzoekers waargenomen. Daar ik de vorming van rottingsproducten in het darmkanaal niet te gering wilde doen zijn, meende ik goed te doen met de melk uit het voedsel weg te laten.

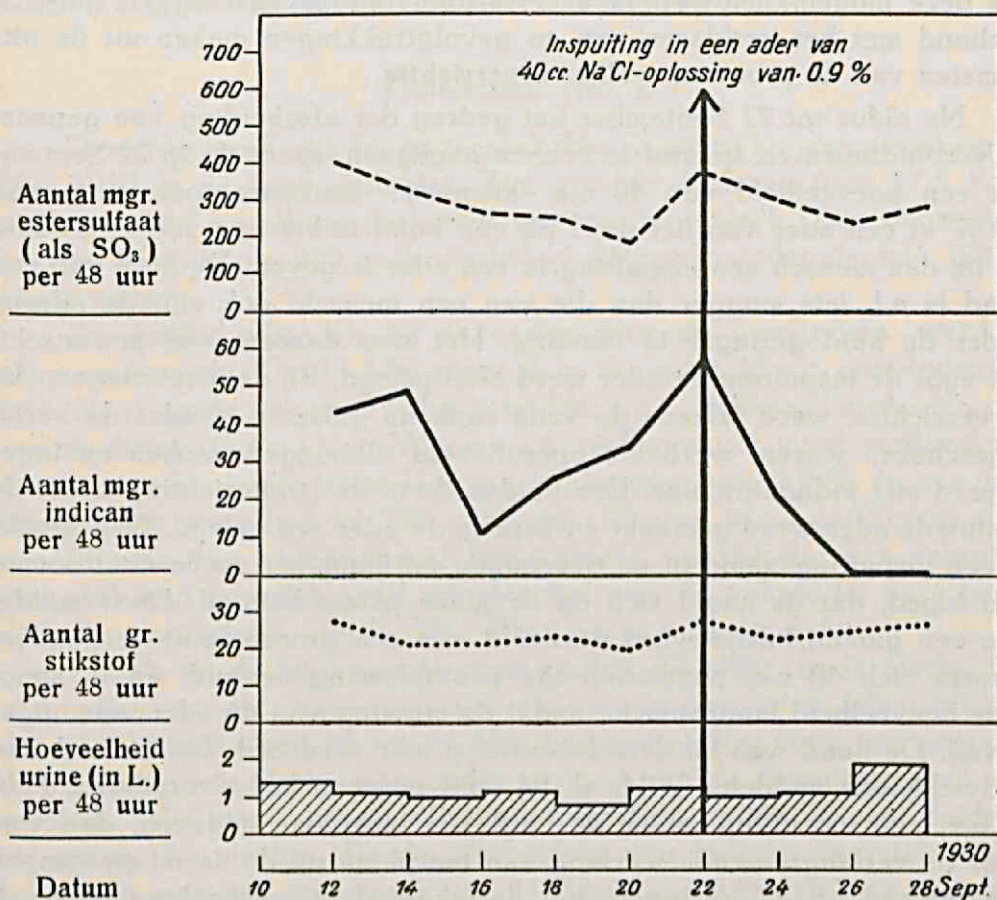
De urine, die in 48 uur geloosd werd, onderzocht ik telkens na elke 2 dagen op het gehalte aan indican, estersulfaten en stikstof en berekende dan uit het volume der urine en het gehalte de afgescheiden hoeveelheid van deze stoffen. Dit onderzoek zette ik van 10 tot 22 September voort. Zooals uit de tabel op blz. 68 te zien is, was gedurende dit tijdsverloop de stikstof-afscheiding niet zeer regelmatig. B.v. over 18 en 19 September was de hoeveelheid afgescheiden stikstof 18,8 gram en over 20 en 21 September 26,2 gram. Waardoor deze vrij aanzienlijke schommelingen veroorzaakt werden, was mij niet bekend. Overigens kan men niet verwachten, hoe gaarne men dit bij een onderzoek ook zou wenschen, dat een organisme, dat leeft, een regelmatigheid van een uurwerk bezit. De indican-afscheiding gaat ook niet zoo regelmatig als gewenscht zou zijn om met zekerheid een verandering in de afscheiding na een bepaalde ingreep vast te stellen. Wat de afscheiding van estersulfaten betreft is een zekere overeenstemming met die van indican waar te nemen. Het is dan ook wel te verwachten, dat in het algemeen bij versterkte afscheiding van indican ook de estersulfaten in grotere hoeveelheid worden afgescheiden.

Echter, zooals uit de grafische voorstelling op blz. 69 met één oogopslag blijkt, gaan de lijnen, die de afscheiding van indican en estersulfaat voorstellen, niet volkomen evenwijdig. Zelfs kan de lijn, die de indican-waarde voorstelt, stijgen, terwijl de lijn der estersulfaat-afscheiding daalt. Ook kan het omgekeerde geval zich voordoen, zooals in de grafische voorstellingen van deze en volgende proeven te zien is. Ook andere onderzoekers hebben deze verschijnselen waargenomen, zooals blijkt uit het artikel van E. Mayerhofer¹⁾, waarin hij o.a. schrijft: „Beim Studium der Indikanreaktion bei gleichzeitiger quantitativer Bestimmung der Ätherschwefelsäuren machte ich schon vor längerer Zeit die Beobachtung, dass oft bei geringer Indikanreaktion die Ätherschwefelsäurezahl trotzdem eine hohe war oder, es fiel umgekehrt bei geringerer Ätherschwefelsäurezahl, die Indikanreaktion intensiver aus.”

¹⁾ E. Mayerhofer, Zeitschrift für physiologische Chemie, deel 70, 1910, blz. 391.

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan unican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorganisch sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Hoeveelheid anorganisch sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur.	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur.
10 Sept. 1930	1400	30	1,89	95,4	123,2	1336	1725	389	42	26,5
11 " "	1100	44	1,93	126,1	150,4	1338	1654	316	48	21,2
12 " "	970	10	2,11	121,4	148,0	1178	1436	258	10	20,5
13 " "	1155	22	2,04	141,3	162,3	1632	1875	243	25	23,6
14 " "	860	40	2,19	141,2	161,9	1214	1392	178	34	18,8
15 " "	1240	46	2,11	132,2	162,1	1639	2010	371	57	26,2
16 " "										
17 " "										
18 " "										
19 " "										
20 " "										
21 " "										
Op 22 Sept. insputting in een ader van 40 c.c. NaCl-oplossing van 9 %.										
22 Sept. 1930	1050	20	2,20	136,6	163,5	1434	1716	282	21	23,1
23 " "	1135	0	2,11	133,4	153,6	1514	1743	229	0	24,0
24 " "	1960	0	1,34	79,1	93,3	1550	1829	279	0	26,3
25 " "										
26 " "										
27 " "										

Fig. 4



Onderzoek No. 2. Hond No. 2 ontving vanaf 3 tot en met 26 September 1930 een voedsel van standvastige samenstelling. Op 22 September 1930 werd bij het dier 40 cc. van een keukenzout-oplossing van 0,9%, in een ader ingespoten. Estersulfaten, noch indican worden daarna in versterkte hoeveelheid afgescheiden.

Het is dus heel goed denkbaar, dat door een of andere oorzaak, b.v. door een ingreep in de normale levensverrichtingen in den vorm van een inspuiting in een ader van oost-indischen inkt de afscheiding van indican vermeerderd of vermindert, terwijl de hoeveelheid afgescheiden estersulfaat standvastig blijft, of zelfs in omgekeerde richting verandert. Op deze mogelijkheid wil ik zeer bijzonderen nadruk leggen, juist in verband met het verklaren van en gevolgtrekkingen maken uit de uitkomsten van de proeven, welke ik verrichtte.

Na aldus tot 22 September het gedrag der afscheiding van gepaarde verbindingen en stikstof te hebben nagegaan, spoot ik op 22 September een hoeveelheid van 40 c.c. kiemvrije keukenzoutoplossing van 0,9 % in een ader van het dier. Bij een hond is het niet zoo eenvoudig als bij den mensch een inspuiting in een ader te geven. De huid van een hond is n.l. iets stugger dan die van een mensch, ook zijn de aderen onder de huid geringer in omvang. Het was daarom wel gewenscht, dat vóór de inspuiting de ader werd blootgelegd. Bij de inspuitingen, die ik verrichtte, werd telkens de vena saphena gekozen. Nadat de haren afgeschoren waren, werd het operatieveld schoongewasschen en ingesmeerd met jodiumtinctuur. Een huidsnede in de lengterichting naast de gestuwde ader werd gemaakt en daarna de ader vrij gelegd. Dan bracht ik een inspuitingsnaald in en overtuigde mij door het snelle uitstroomen van bloed, dat de naald zich op de juiste plaats bevond. Door middel van een gummi buisje werd de naald met een groote spuit verbonden, waarin zich 40 c.c. physiologische zoutoplossing bevond, en ik spoot deze hoeveelheid langzaam in, nadat de stuwning van de ader was opgeheven. De hond was bij deze bewerking niet verdoofd. De invloed van bedwelmende middelen wilde ik bij mijn proeven liefst vermijden. Had ik b.v. een inspuiting onder de huid van morphine gegeven, dan was door de verlangzamende werking van morphine op de darmbewegingen een invloed op de rotting in het darmkanaal te verwachten geweest. Sommige proefdieren gedroegen zich echter gedurende den ingreep zoo rustig, alsof ze wel bedweld waren, anderen daarentegen hadden neiging hun poot terug te trekken. Het was derhalve noodig de poot, in welke de inspuiting verricht werd, goed vast te houden. Op deze wijze te werk gaande is zeer zelden een inspuiting mislukt.

Na deze inspuiting van 40 c.c. zoutoplossing onderzocht ik gedurende een week de urine en vond, dat de afscheiding van stikstof vrijwel gelijk bleef als vóór de inspuiting. De afscheiding van indican verminderte sterk, was zelfs de laatste dagen van de proef nul. Hoewel niet in zoo sterke mate, nam de afscheiding van estersulfaten ook iets af. De uitkomsten van dit onderzoek leeren ons dus dat bij een voedsel met standvastige samenstelling en bij altijd dezelfde omstandigheden de

afscheiding van indican aanzienlijk kan wisselen. Zeker is echter, dat na de inspuiting van de keukenzout-oplossing de afscheiding van ester-sulfaten of indican niets grooter wordt.

Ik ga nu over tot de beschrijving van de onderzoeken, waarbij vóór en na inspuiting van oost-indischen inkt in een ader de afscheiding van gepaarde verbindingen werd nagegaan.

Onderzoek No. 3.

Dezelfde hond, die bij onderzoek No. 1 gebruikt was, werd op 12 Mei 1930 in de kooi geplaatst. Zijn gewicht bedroeg toen 17,5 K.G., welk gewicht na afloop der proef onveranderd bleek. Zijn dagelijksch voedsel bestond uit: 200 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 250 gr. aardappelen.

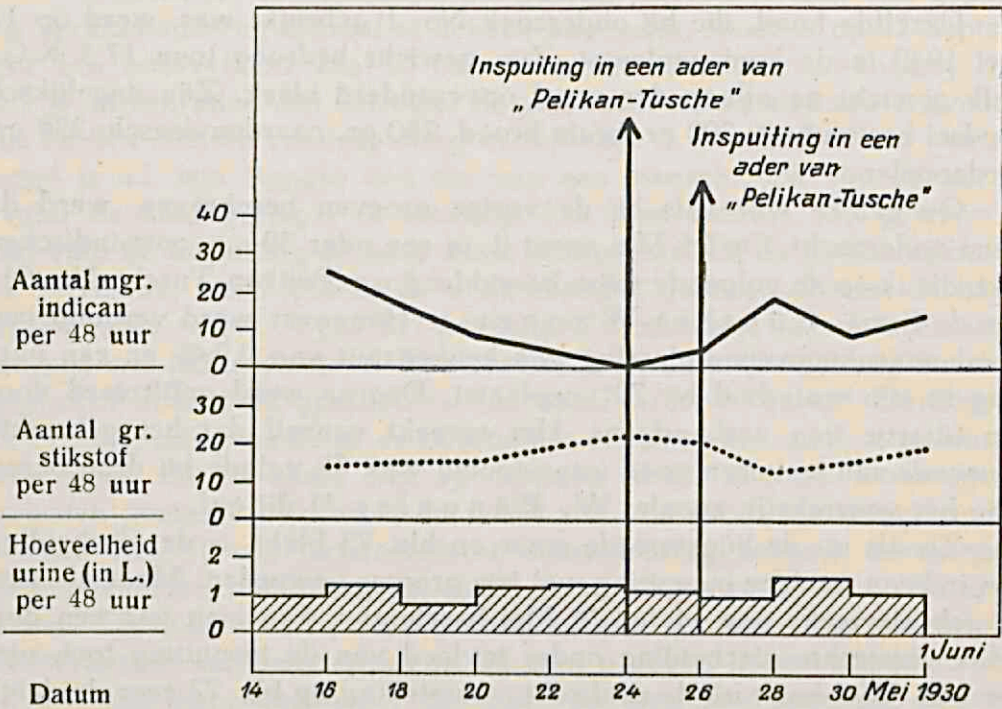
Op gelijke wijze als bij de vorige proeven beschreven, werd de urine onderzocht. Op 24 Mei spoot ik in een ader 30 c.c. oost-indischen inkt, die ik op de volgende wijze bereidde: 6 c.c. Pelikan-Tusche No. 541 van de firma *Günter-Wagner* te Hannover werd verdund met 4 volumina kiemvrije oplossing van keukenzout van 0,9 % en een uurlang in een waterbad bij 70° geplaatst. Daarna werd gefiltreerd door een filtertje van verbandgaas. Het spreekt vanzelf dat het gebruikte glaswerk van te voren goed uitgestoomd was. Ik volgde bij deze bereiding het voorschrift, zooals *W. Büngeler*¹⁾ dit gaf.

Zooals uit de bijgevoegde staat op blz. 73 blijkt, is de afscheiding van indican na deze inspuiting wel iets grooter geworden. Maar als men de geheele reeks van 14 tot 24 Mei beschouwt, kan men van een duidelijk versterkte afscheiding onder invloed van de inspuiting toch niet spreken. Wel komt uit de grafische voorstelling op blz. 72 zeer duidelijk tot uiting, dat de lijn, die de afscheiding van indican voorstelt, vanaf het begin van het onderzoek tot 24 Mei zeer geleidelijk en geregeld daalt. Op deze waarneming, die ik bij mijn onderzoeken vaker gedaan heb, kom ik later terug.

Op 26 Mei heb ik de inspuiting met oost-indischen inkt nog eens herhaald en hierna is de afscheiding van indican duidelijk toegenomen. Men is zeer geneigd dit toenemen als een gevolg van de inspuiting te beschouwen. Toch moet men ook aan de mogelijkheid denken van een physiologische schommeling, die toevallig samenvalt met deze inspuiting. Men mag dus, zooals vanzelf spreekt, uit één waarneming nog geen besluiten trekken, maar moet het onderzoek vele malen herhalen. Daarom deed ik dan ook een aantal verdere proeven, die ik nu ga beschrijven.

¹⁾ *W. Büngeler*, *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie*, deel 35, 1927, blz. 67.

Fig. 5



Onderzoek No. 3. Bij hond No. 1 werd op 24 Mei 1930 30 cc. Oost-Indische inkt in een ader gespoten. Deze inspuiting werd 26 Mei herhaald. Na deze bewerkingen is de afscheiding van indican duidelijk gestegen.

Staat 11 (onderzoek No. 3).

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per L.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur.	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur.
14 Mei 1930 } 15 " " }	940	27	1,37	25	12,9
16 " " } 17 " " }	1230	14	1,15	17	14,1
18 " " } 19 " " }	765	12	2,00	9	15,3
20 " " } 21 " " }	1160	4	1,61	5	18,7
22 " " } 23 " " }	1230	0	1,75	0	21,5
Op 24 Mei inspuiting in een ader van 30 cc. 5 maal verdunde „Pelikan-Tusche”.					
24 Mei 1930 } 25 " " }	1090	5	1,84	5	20,1
Op 26 Mei inspuiting in een ader van 30 cc. 5 maal verdunde „Pelikan-Tusche”.					
26 Mei 1930 } 27 " " }	960	20	1,16	19	11,1
28 " " } 29 " " }	1450	6	1,07	9	15,5
30 " " } 31 " " }	1035	14	1,89	14	19,5

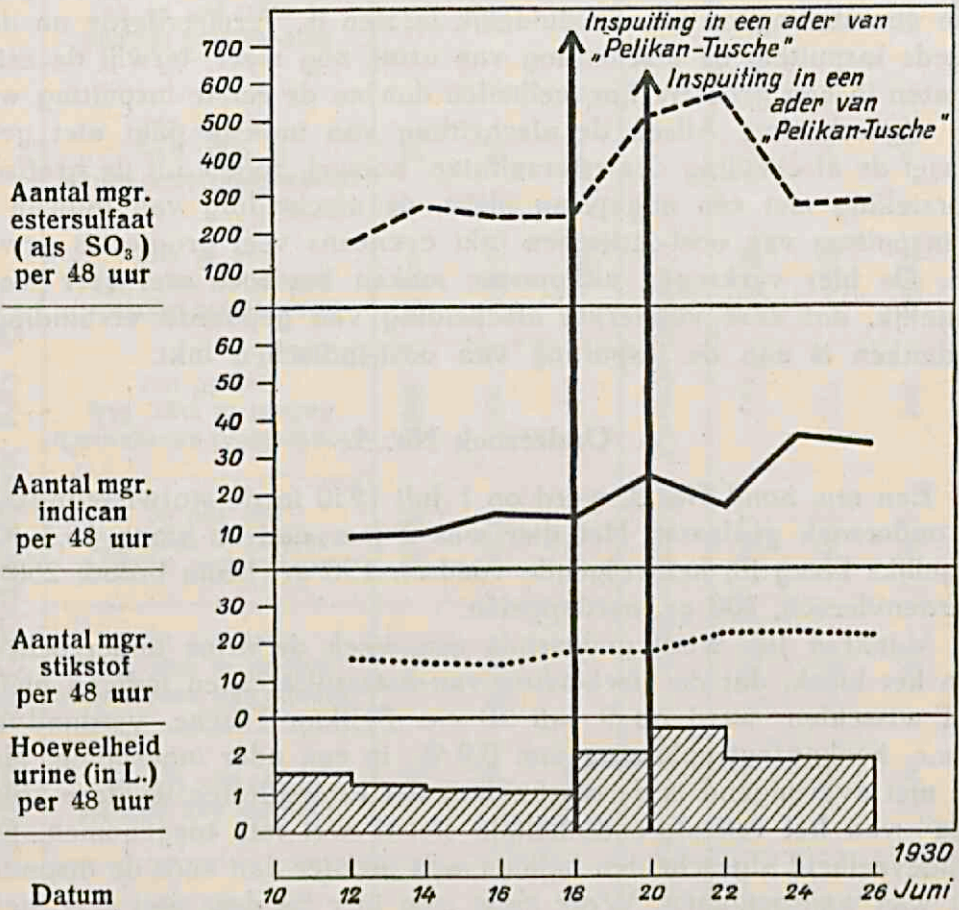
Onderzoek No. 4.

Voor dit onderzoek werd gebruik gemaakt van denzelfden hond, die voor proef No. 2 diende. Op 7 Juni 1930, toen hij in de kooi werd geplaatst, was het gewicht 24,2 K.G., welk gewicht gedurende de proefneming geen wijziging onderging. Als voedsel werd per dag verstrekt: 300 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. gekookte aardappelen.

Van 10 tot 18 Juni onderzocht ik de urine op gepaarde verbindingen en stikstof. Op 18 Juni spoot ik 50 c.c. van een $2\frac{1}{2}$ maal verdunde colloïdale oplossing van Pelikan-Tusche in een ader in. De hoeveelheid

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorganisch sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Hoeveelheid anorganisch sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
10 Juni 1930	1520	6	1,05	66,9	78,7	1017	1196	179	9	16,0
11 " "										
12 " "	1250	8	1,29	91,8	112,8	1148	1410	262	10	15,1
13 " "										
14 " "	1095	14	1,32	86,4	107,4	946	1176	230	15	14,5
15 " "										
16 " "	1050	13	1,63	113,3	136,3	1190	1431	241	14	17,1
17 " "										
Op 18 Juni inspuiting in een ader van 50 c.c. 2 $\frac{1}{2}$ maal verdunde „Pelikan-Tusche“										
18 Juni 1930	2100	12	0,83	17,6	41,9	370	880	510	25	17,4
19 " "										
Op 20 Juni inspuiting in een ader van 50 c.c. 2 $\frac{1}{2}$ maal verdunde „Pelikan-Tusche“										
20 Juni 1930	2775	6	0,80	45,8	66,1	1271	1834	563	16	22,2
21 " "										
22 " "	1920	18	1,17	121,6	136,0	2335	2611	276	35	22,5
23 " "										
24 " "	1945	17	1,09	88,0	102,4	1712	1992	280	33	21,2
25 " "										

Fig, 6



Onderzoek No. 4. Hond No. 2 ontving op 18 Juni 1930 een inspuiting in een ader van 50 cc. Oost-Indischen inkt. Deze inspuiting werd op 20 Juni 1930 herhaald. Hierna is niet alleen de afscheidingen van gepaarde verbindingen toegenomen, maar ook, hoewel in mindere mate, de hoeveelheid urine.

ingespoten oost-indische inkt is, in verband met de grootte van het dier, aanzienlijker dan bij de vorige proef. Terstond na de inspuiting nam de afscheiding van urine zeer toe. Ook is de afscheiding van indican duidelijk groter; nog veel meer die van de estersulfaten.

Den 20en Juni werd de inspuiting van oost-indischen inkt op dezelfde wijze herhaald. Zooals uit de staat op blz. 74 en uit de grafische voorstelling op blz. 75 duidelijk te zien is, vermeerderde na deze tweede inspuiting de afscheiding van urine nog meer, terwijl de estersulfaten in nog grootere hoeveelheden dan na de eerste inspuiting werden afgescheiden. Alleen de afscheiding van indican gaat niet gelijk op met de afscheiding der estersulfaten, hoewel, zooals uit de grafische voorstelling met één oogopslag blijkt, de afscheiding van indican na de inspuiting van oost-indischen inkt eveneens veel groter is geworden. De hier verkregen uitkomsten maken het toch wel zeer waarschijnlijk, dat deze versterkte afscheiding van gepaarde verbindingen te danken is aan de inspuiting van oost-indischen inkt.

Onderzoek No. 5.

Een reu, hond No. 3, werd op 1 Juli 1930 in de stofwisselingskooi ter onderzoek geplaatst. Het dier was 2 jaar oud en woog 16,3 K.G. Dagelijks kreeg hij het volgende voedsel: 150 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 200 gr. aardappelen.

Vanaf 4 Juli werd gedurende een week de urine onderzocht en toen het bleek, dat de afscheiding van estersulfaten en indican niet te veel wisselden, werd op 9 Juli 20 c.c. Pelikan-Tusche, verdund met 30 c.c. keukenzout-oplossing van 0,9 %, in een ader ingespoten. Hoewel niet overtuigend is de afscheiding der estersulfaten na deze „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel wel iets toegenomen. Ook de hoeveelheid afgescheiden indican was groter dan vóór de inspuiting ooit was waargenomen. Weer moet men hier bij deze niet zeer sterke vermeerdering van de afscheiding der gepaarde verbindingen na de inspuiting bedacht zijn op physiologische schommelingen. Bij geen van de tot nu toe beschreven proeven werd echter na de inspuiting van oost-indischen inkt een verminderde afscheiding van gepaarde verbindingen waargenomen en zulk een verminderde afscheiding zou men toch ook wel eens verwachten, indien althans slechts physiologische schommelingen zouden voorkomen. De staat met de becijferde uitkomsten en de grafische voorstelling behorende bij deze proefneming bevinden zich op blz. 77 en 78.

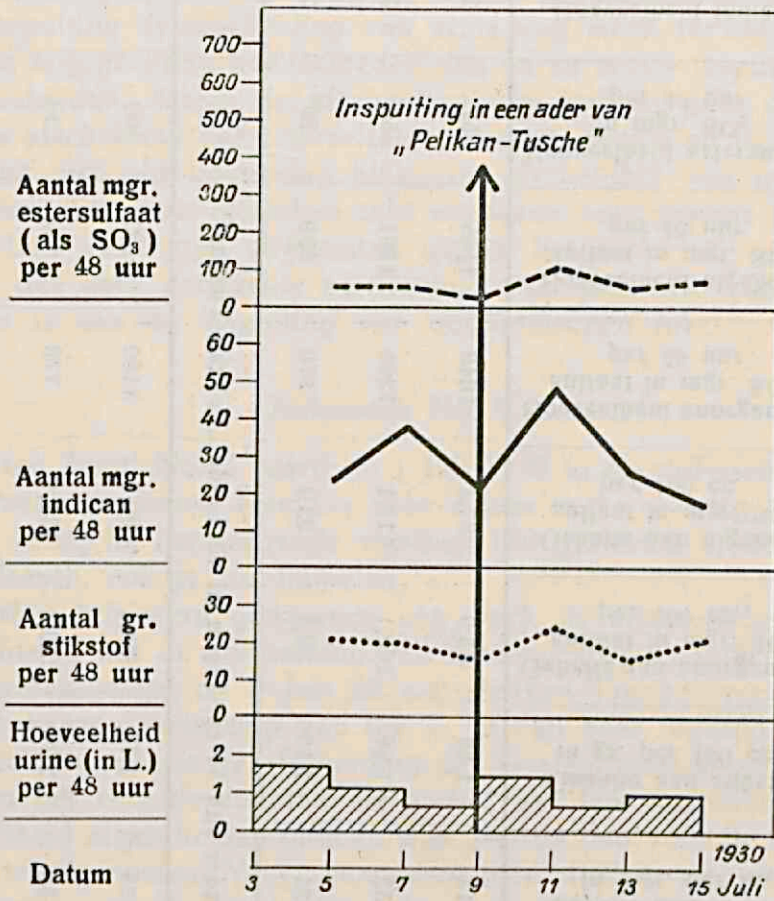
Onderzoek No. 6.

Hond No. 4 werd op den 6en October 1930 in de kooi geplaatst.

Staat 13 (onderzoek No. 5)

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorgaansch sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Hoeveelheid anorgaansch sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
3 Juli 1930	{ }	14	1,26	63,9	67,4	1048	1105	57	23	20,7
4 " "										
5 " "	{ }	33	1,69	108,1	113,1	1205	1261	56	37	18,8
6 " "										
7 " "	{ }	34	2,50	89,8	93,4	570	599	29	22	15,9
8 " "										
Op 9 Juli inspuiting in een ader van 50 cc. 2½ maal verdunde „Pelikan-Tusche”										
9 Juli 1930	{ }	34	1,73	83,4	90,7	1180	1283	103	48	24,5
10 " "										
11 " "	{ }	30	2,34	123,2	131,1	776	826	50	25	14,7
12 " "										
13 " "	{ }	17	2,04	93,8	101,3	938	1013	75	17	20,4
14 " "										

Fig. 7

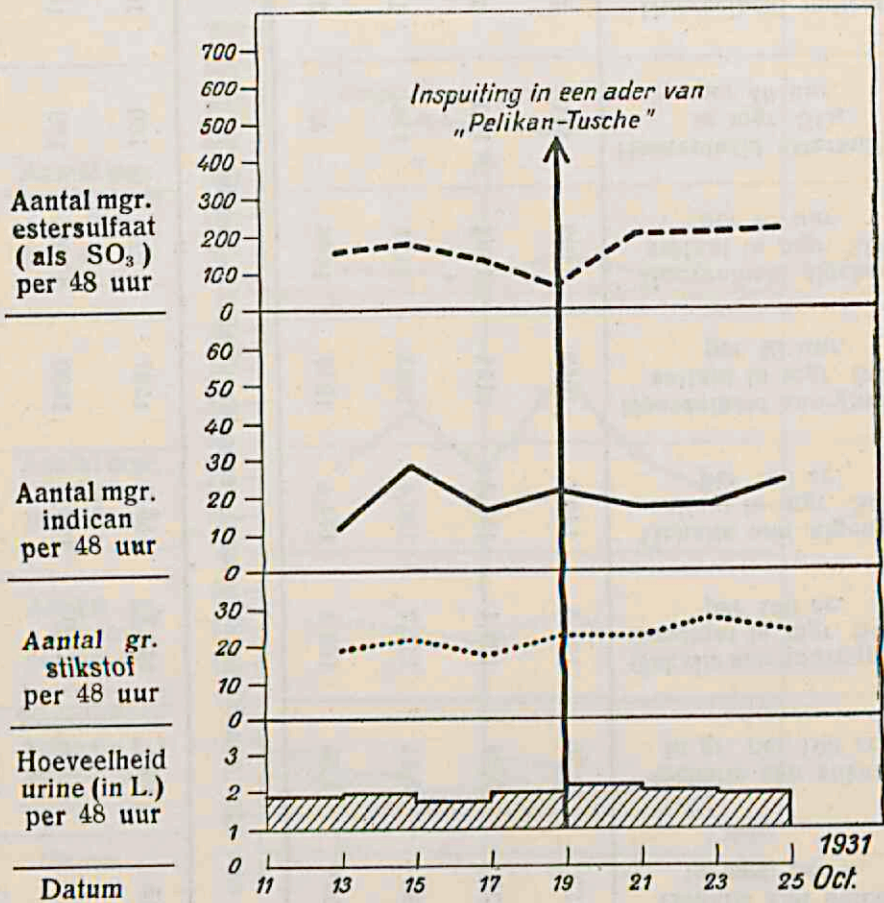


Onderzoek No. 5. Hond No. 3 werd op 9 Juli 1930 in een ader ingespoten met 50 cc. Oost-Indischen inkt. De afscheiding van gepaarde verbindingen is na deze inspuiting iets toegenomen.

Staat 14 (Onderzoek No. 6.)

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan unican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorganiſch sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Hoeveelheid anorganiſch sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur.	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur.	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur.	Hoeveelheid ſlikſtof in gr. per 48 uur.
11 Oct. 1930	800	12	2,20	131,5	149,1	1052	1193	141	10	17,6
12 " "										
13 " "	840	32	2,28	137,1	157,4	1152	1322	170	27	19,2
14 " "										
15 " "	615	25	2,54	171,2	190,4	1053	1171	118	15	15,6
16 " "										
17 " "	955	21	2,24	169,4	174,4	1618	1666	48	20	21,4
18 " "										
Op 19 October inſpuiting in een ader van 50 cc. 2½ maal verdunde „Pelikan-Tuſche“										
19 Oct. 1930	1070	15	1,88	142,7	159,5	1527	1707	180	16	20,1
20 " "										
21 " "	925	17	2,60	173,0	193,4	1600	1789	189	16	24,1
22 " "										
23 " "	830	26	2,62	194,2	217,4	1612	1804	192	22	21,7
24 " "										

Fig. 8



Onderzoek No. 6. Hond No. 4 werd op 19 October 1930 in een ader ingespoten met 50 cc. Oost-Indischen inkt. De afscheiding van indican is hierna onveranderd gebleven, de afscheiding der estersulfaten iets toegenomen.

Bij den aanvang der proef bedroeg zijn gewicht 17,9 K.G. Zijn dagelijksch voedsel bestond uit: 200 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. aardappelen.

Uit de gegevens, die de staat op blz. 79 verstrekt, ziet men, dat na inspuiting van oost-indischen inkt de afscheiding van estersulfaten iets vermeerderd is, terwijl de afscheiding van indican vrijwel gelijk blijft. Ook is de grootste hoeveelheid urine per 48 uur waar te nemen in de 48 uur na de inspuiting. Tevens zien wij in de grafische voorstelling op blz. 80, dat de lijn, die de afscheiding van stikstof voorstelt, vóór de inspuiting lager ligt dan na de inspuiting.

Onderzoek No. 7.

Den 2den November 1930 werd de hond No. 5 in de kooi geplaatst. Zijn dagelijksch voedsel bestond uit: 300 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. aardappelen.

Bij de vorige proef bleek de afscheiding van estersulfaat na de inspuiting in een ader van oost-indischen inkt versterkt, terwijl de hoeveelheid indican per 48 uur nauwelijks veranderde; bij proef No. 7 zijn de uitkomsten omgekeerd. Hier zien wij vóór de inspuiting een regelmatigte afscheiding van indican, getuige de grafische voorstelling op blz. 83. Na de inspuiting is een duidelijk toenemen van de afscheiding van indican waar te nemen. Maar de afscheiding van estersulfaten blijkt na de inspuiting vrijwel onveranderd. Ook hier dus geen samengaan van de afscheiding van indican en estersulfaten. De versterkte afscheiding van urine, terstond na de inspuiting, is bij dit onderzoek zeer duidelijk. De getallen, behorende bij deze proef, zijn weergegeven in de staat op blz. 82.

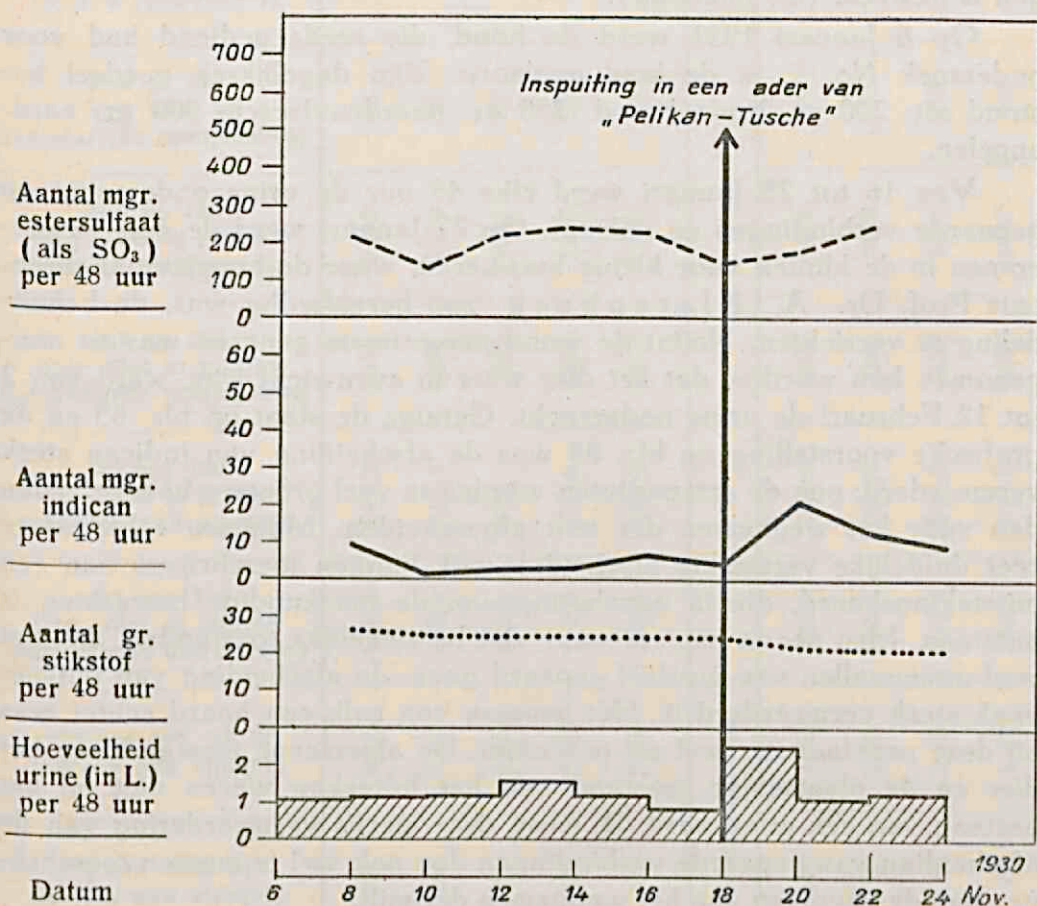
Onderzoek No. 8.

Bij de voorgaande proeven is, nu een duidelijker, dan weer niet zoo duidelijk, toch wel altijd een sterker worden der afscheiding van gepaarde verbindingen waar te nemen na inspuiting van oost-indischen inkt. Is de veronderstelling juist, dat onder invloed van de „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel deze vermeerderde afscheiding tot stand komt, dan zal men, door op een of andere wijze de werkzaamheid van het reticulo-endotheliale stelsel te belemmeren of te verminderen, eveneens deze versterking van de afscheiding van gepaarde verbindingen moeten waarnemen.

Zooals reeds in hoofdstuk I uitvoeriger besproken is, wordt door het wegnemen der milt een belangrijk gedeelte van het reticulo-endotheliale stelsel verwijderd. De werkzaamheid van het reticulo-endotheliale stelsel vermindert dus, zij het dan ook maar tijdelijk, daar

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorganisch sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Hoeveelheid anorganisch sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
6 Nov. 1930	1075	8	2,42	167,2	186,4	1797	2004	207	9	26,0
7 " "										
8 " "	1140	0	2,16	149,1	160,3	1700	1827	127	0	24,6
9 " "										
10 " "	1140	2	2,10	125,3	143,7	1428	1638	210	2	23,9
11 " "										
12 " "	1560	2	1,54	93,6	108,6	1460	1694	234	3	24,0
13 " "										
14 " "	1180	5	2,03	125,9	144,6	1485	1706	221	6	24,0
15 " "										
16 " "	870	5	2,70	119,7	136,0	1041	1183	142	4	23,5
17 " "										
Op 18 Nov. inspuiting in een ader van 50 cc. 2½ maal verdunde „Pelikan-Tusche“.										
18 Nov. 1930	2550	8	0,85	36,8	43,2	938	1102	164	20	21,7
19 " "										
20 " "	1170	10	1,86	112,0	132,5	1310	1550	240	12	21,8
21 " "										
22 " "	1225	7							9	
23 " "										

Fig. 9



Onderzoek No. 7. Hond No. 5 werd op 18 November 1930 in een ader ingespoten met 50 cc. Oost-Indischen inkt. Duidelijk is na deze inspuiting de afscheiding van indican versterkt. Terstond na de inspuiting is de afscheiding van urine zeer versterkt.

het overige reticulo-endotheliale stelsel zeer spoedig het verlies aan werkzaamheid aanvult.

Het was dus wel van belang eens na te gaan welke invloed het wegnemen van de milt zou hebben op de afscheiding van gepaarde verbindingen. Tegelijk herhaalde ik dan het onderzoek van K. Mitsuba, welk onderzoek tenslotte toch het uitgangspunt voor mijn proefnemingen is geweest (zie inleiding).

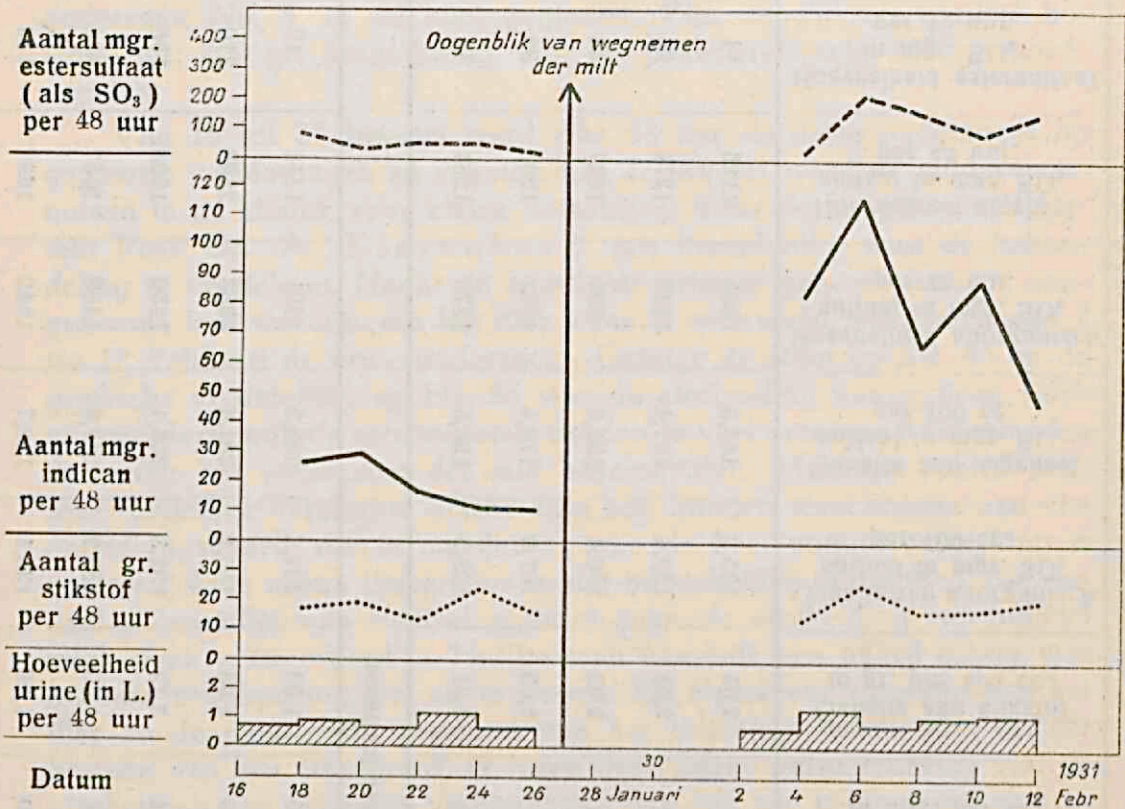
Op 6 Januari 1931 werd de hond, die reeds gediend had voor onderzoek No. 5, in de kooi geplaatst. Zijn dagelijksch voedsel bestond uit: 200 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. aardappelen.

Van 16 tot 25 Januari werd elke 48 uur de urine onderzocht op gepaarde verbindingen en stikstof. Op 27 Januari werd de milt weggenomen in de kliniek voor kleine huisdieren, waar de hoogleeraar-directeur Prof. Dr. A. Klarenbeek zoo bereidwillig was, de behandeling te verrichten. Nadat de wond per primam genezen was en aangenomen kon worden, dat het dier weer in evenwicht was, werd van 2 tot 12 Februari de urine onderzocht. Getuige de staat op blz. 85 en de grafische voorstelling op blz. 86 was de afscheiding van indican sterk vermeerderd; ook de estersulfaten werden in veel grootere hoeveelheden dan vóór het wegnemen der milt afgescheiden. Men zou echter deze zeer duidelijke versterkte afscheiding ook kunnen toeschrijven aan een ontstekingshaard, die in aansluiting aan de heelkundige bewerking is ontstaan. Men neemt immers waar, dat bij ziekelijke toestanden, die met veel uiteenvallen van weefsel gepaard gaan, de afscheiding van indican vaak sterk vermeerderd is. Het bestaan van zulk een haard echter was bij deze proefneming wel uit te sluiten. De algemeene toestand van het dier en de plaatselijke toestand van het lidteken wezen niet op het bestaan van een etterhaard. Ik meen deze sterke vermeerdering van de afscheiding van gepaarde verbindingen dan ook wel te moeten toeschrijven aan de gevolgen van het wegnemen der milt.

Nu komt evenwel bij deze proef nog een verwikkeling; het dier had namelijk een half jaar te voren een inspuiting in een ader van oost-indischen inkt gekregen. Aan de milt was reeds met het bloote oog duidelijk te zien, dat zich nog inkt in de milt moest bevinden. De kleur van het orgaan, ook op doorsnede, was donkerzwart. Bevonden zich de inktdeeltjes in de reticulo-endotheliale elementen van de milt of op andere plaatsen? Deze vraag kon slechts door microscopisch bezichtigen worden beantwoord. Prof. Dr. R. de Josselin de Jong was zoo welwillend dit onderzoek te verrichten. Hij komt daarbij tot de gevolgtrekking, dat, met enkele uitzonderingen, de kooldeeltjes niet in de endotheelcellen van de miltsinus voorkomen. Wel komen zij voor in het

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per l.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorgansch sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 100 cc.	Hoeveelheid anorgansch sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO_3 per 48 uur.	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur.	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur.
16 Jan. 1931	780	33	2,05	135,2	144,3	1055	1126	71	26	16,0
17 " "										
18 " "	895	32	2,04	139,4	142,4	1248	1274	26	29	18,3
19 " "										
20 " "	655	24	2,03	150,4	156,8	985	1027	42	16	13,3
21 " "										
22 " "	1115	11	2,00	167,0	170,4	1862	1900	38	12	22,3
23 " "										
24 " "	655	17	2,31	193,9	195,5	1270	1281	11	11	15,1
25 " "										
Op 27 Januari werd de milt weggenomen.										
2 Febr. 1931	695	120	1,93	201,6	203,2	1401	1411	10	83	13,4
3 " "										
4 " "	1290	90	1,98	185,1	201,4	2388	2598	210	116	25,5
5 " "										
6 " "	780	84	2,12	192,3	206,1	1450	1608	158	66	16,5
7 " "										
8 " "	1060	84	1,60	139,2	147,6	1469	1557	88	89	17,0
9 " "										
10 " "	1185	40	1,69	130,1	142,7	1542	1691	149	47	20,0
11 " "										

Fig. 10



Onderzoek No. 8. Bij hond No. 3 werd op 27 Januari 1931 de milt weggenomen. Zeer duidelijk is de versterkte afscheiding der gepaarde verbindingen na het wegnemen der milt.

reticulum der follikels, terwijl in de pulpa een reticulaire rangschikking niet gevonden wordt. Ook bevinden zich in het bloed, dat in de pulpa ligt, veel inktdeeltjes, eveneens om de kleine bloedvaatjes.

De reticulo-endotheliale elementen van de milt zijn dus voor een groot deel niet meer beladen met inktdeeltjes. Kort na de inspuiting waren zij zeer waarschijnlijk wel daarmee beladen. Zeer vele onderzoekers hebben toch waargenomen, zooals reeds in hoofdstuk II vermeld werd, dat bij een inspuiting van „Pelikan-Tusche” de kooldeeltjes zich voornamelijk ophoopen in het reticulo-endotheliale stelsel van milt en lever.

Dat na een half jaar de inktdeeltjes niet meer op dezelfde plaats liggen, behoeft ons niet te verwonderen. In ieder geval is het reticulo-endotheliale stelsel van deze milt na een half jaar zeker wel niet meer geblokkeerd geweest. Door het wegnemen der milt is dus wel degelijk een belangrijk en werkzaam gedeelte van het reticulo-endotheliale stelsel verwijderd.

En dan blijkt dus ook uit de uitkomsten van proef No. 8 alweer, dat bij verminderde werkzaamheid van het reticulo-endotheliale stelsel de afscheiding van gepaarde verbindingen toeneemt.

Onderzoek No. 9.

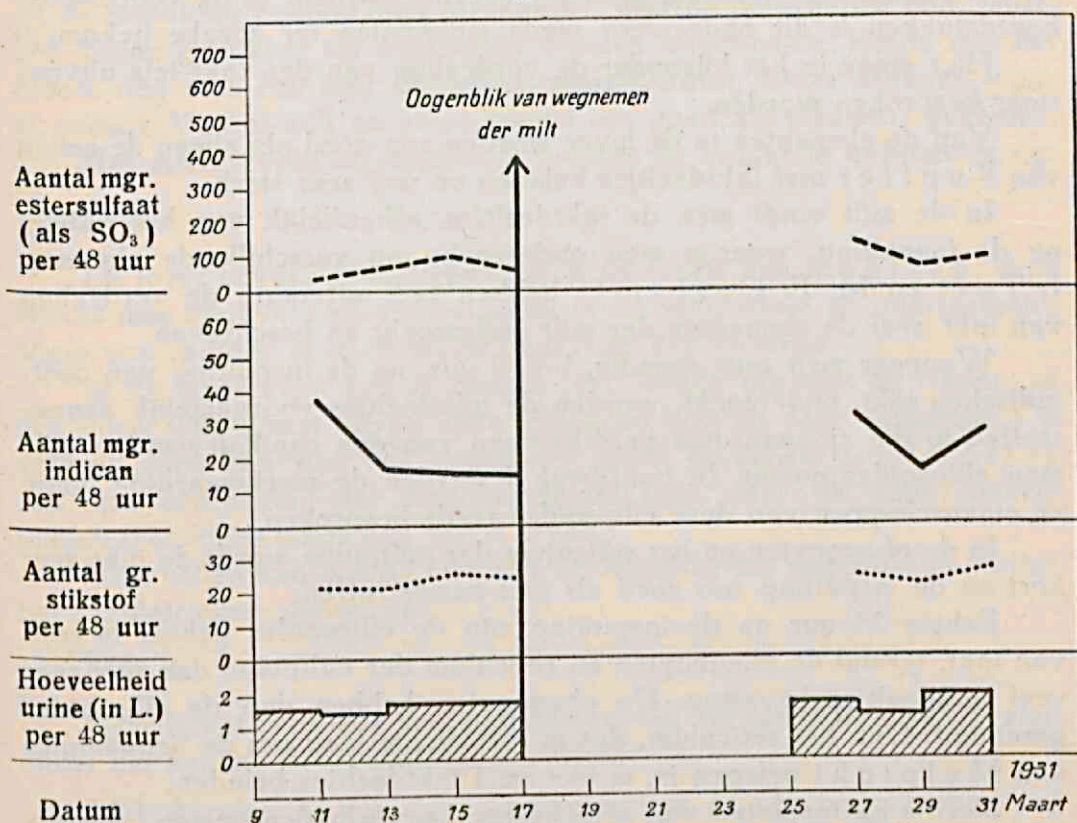
Hiervoor werd een hond gekozen, die van te voren nog nooit met oost-indischen inkt was ingespoten. Het dier, hond No. 6, was 2 jaar oud en woog bij den aanvang der proef 18,3 K.G. Als voedsel werd per dag verstrekt: 400 gr. bruin brood, 250 gr. paardenvleesch, 300 gr. aardappelen.

Uit de tabel op blz. 88 en uit de grafische voorstelling op blz. 89 blijkt, dat van 9 tot 17 Maart 1931 de afscheiding van indican geleidelijk verminderde, dat echter estersulfaten en stikstof in vrij regelmatige hoeveelheden werden afgescheiden. Op 17 Maart werd de milt weggenomen. Nadat de heilkundige behandeling goed geslaagd en het verdere verloop gunstig waren geweest, werd vanaf 25 Maart de urine weer onderzocht. De vermeerdering van de afscheiding van gepaarde verbindingen was nu niet zoo overtuigend als bij de vorige proef. Toch blijken indican en estersulfaten na het wegnemen der milt gemiddeld iets meer te worden afgescheiden dan vóór dat wegnemen. In verband met de andere uitkomsten ligt het voor de hand deze vermeerdering te beschouwen als een gevolg van het wegnemen der milt.

Staat 17 Conderzoek No. 9)

Datum.	Hoeveelheid urine per 48 uur in cc.	Gehalte aan indican in mgr. per L.	Gehalte aan stikstof in gr. per 100 cc.	Gehalte aan anorganisch sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Gehalte aan algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 100 cc.	Hoeveelheid anorganisch sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid algeheel sulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid estersulfaat in mgr. SO ₃ per 48 uur	Hoeveelheid indican in mgr. per 48 uur	Hoeveelheid stikstof in gr. per 48 uur
9 Maart 1931	1540	24	1,38	138,4	140,0	2131	2156	25	37	21,3
10 " "										
11 " "	1410	12	1,46	124,0	128,2	1748	1808	60	17	20,6
12 " "										
13 " "	1700	9	1,46	106,1	111,8	1804	1901	97	15	24,8
14 " "										
15 " "										
16 " "	1700	8	1,40	112,0	115,2	1904	1958	54	14	23,8
Op 17 Maart werd de milt weggenomen.										
25 Maart 1931	1612	20	1,45	116,5	187,8	1248	2012	134	32	23,4
26 " "										
27 " "	1280	12	1,63	144,2	147,7	1846	1891	45	15	20,9
28 " "										
29 " "										
30 " "	1820	15	1,41	119,0	122,4	2169	2228	59	27	25,7

Fig. 11



Onderzoek No. 9. Hond No. 6 werd op 17 Maart 1931 van zijn milt beroofd. De invloed van het wegnemen der milt op de afscheiding van gepaarde verbindingen is bij dit onderzoek niet zeer duidelijk.

Eigen onderzoek over de verdeeling van een in een ader ingespoten Oostindische inkt-oplossing in milt, lever en beenmerg.

Het is een bekend feit, dat een gedurende het leven in de bloedbaan gebrachte oplossing van oost-indischen inkt haar inktdeeltjes afzet op bepaalde plaatsen in het lichaam. Hoofdzakelijk in de lever, milt en beenmerg worden reeds enkele uren na de inspuiting in een ader de inktdeeltjes opgehoopt gevonden; en wel in die orgaanelementen, welke tot het reticulo-endotheliale stelsel gerekend worden. In de voorgaande hoofdstukken is dit onderwerp reeds meermalen ter sprake gekomen.

Hier moge in het bijzonder de verdeeling van den inkt iets uitvoeriger besproken worden.

Van de elementen in de lever worden zoo goed als alleen de cellen van Kupffer met inktdeeltjes beladen en wel zeer sterk.

In de milt vindt men de inktdeeltjes, afhankelijk van het tijdstip na de inspuiting, waarop men onderzoekt, op verschillende plaatsen. J. Tait en M. F. Cashin¹⁾ hebben zeer uitvoerig de verdeeling van inkt over de elementen der milt onderzocht en beschreven.

Wanneer men zeer spoedig, b.v. 2 uur, na de inspuiting van oost-indischen inkt, onderzoekt, worden de inktdeeltjes voornamelijk aangetroffen in die eigenaardige verdikkingen van den capillairwand, welke men ellipsoïdes noemt. In hoofdstuk I werden de merkwaardige bouw en eigenschappen van deze ellipsoïdes reeds besproken.

In de phagocyten en het reticulum der miltpulpa wordt de inkt zeer kort na de inspuiting zoo goed als niet aangetroffen.

Echter 24 uur na de inspuiting zijn de ellipsoïdes geheel bevrijd van inkt, terwijl de phagocyten en reticulum der miltpulpa dan wel zeer veel inktdeeltjes bevatten. De phagocyten hebben dan de ellipsoïdes gereinigd. Ook het reticulum, dat in een dichte laag om de lichaampjes van Malpighi gelegen is, is met veel inktdeeltjes beladen.

Slechts na inspuiten van zeer groote hoeveelheden nemen, volgens J. Tait en M. F. Cashin de wanden der miltsinus inktdeeltjes op.

Bij het onderzoek, in dit proefschrift beschreven, werd nu gebruik gemaakt van het inspuiten in een ader van oost-indischen inkt met het doel de reticulo-endotheliale elementen, in het bijzonder van milt en lever, met inktdeeltjes te beladen. Teneinde na te gaan, of de inspuiting het gewenschte gevolg had, werden enkele proefdieren aan een inspuiting met oost-indischen inkt onderworpen, waarna de organen milt, lever, beenmerg en in een enkel geval ook een lymfkliertje onderzocht werden.

¹⁾ J. Tait en M. F. Cashin. Quarterly Journal of Experimental Physiology, deel 15, 1925, blz. 421.

Prof. Dr. R. de Josselin de Jong was zoo bereidwillig het onderzoek van deze organen op zich te nemen. De beoordeeling over de verdeeling van den inkt bij de nu te beschrijven onderzoekingen is van zijn hand.

Onderzoek A.

In begin November 1930 werd hond A ingespoten met 50 cc. $2\frac{1}{2}$ maal verdunde oost-indischen inkt in een ader. Het dier werd 24 uur na de inspuiting gedood door strychnine, waarna de organen milt, lever, een kleine lymfklier ter onderzoek werden uitgenomen. Reeds met het bloote oog was een zeer duidelijke zwartkleuring dezer organen waar te nemen. Vooral milt en lever waren zoo goed als pikzwart gekleurd.

Het microscopische onderzoek leverde de volgende uitkomsten op:

Lever.

De lever bevat het inkt-pigment in de cellen van Kupffer; deze zijn er mee opgevuld en voornamelijk in de periportale en intermediaire zone; veel minder in de centrale gedeelten der kwabjes.

In de levercellen zelf is slechts zeer weinig pigment te vinden, in den vorm van uiterst kleine, fijne korreltjes hier en daar verspreid. Op vele plaatsen kan men ook voorbij en naast de cellen van Kupffer een fijne begrenzing der bloedcapillairen zien door de fijne zwarte pigmentkorreltjes langs den wand ervan.

Vele cellen van Kupffer zijn tot barstens toe opgevuld en vullen het capillairlumen geheel op.

Milt.

Deze bevat eveneens veel pigment en wel het meest duidelijk te zien onder het kapsel. Het wordt aangetroffen:

1. Als begrenzing om de lichaampjes van Malpighi; niet of uiterst weinig er in.
2. Diffuus in pulpacellen (veel).
3. Opgehoopt in celgroepjes als kleine zwarte, ronde of ovale conglomeraten. Hoe deze zich tot de vaten verhouden is niet met zekerheid te zeggen.

Lymfklier.

Hierin is een massa pigment, voornamelijk in de lymfsinus en in de cellen van het reticulo-endotheliale stelsel te vinden.

Het pigment is niet te zien in de randfollikels zelf, méér in de mergstralen; maar het is voornamelijk het reticulo-endotheliale netwerk,

minder het lymphoïde weefsel, waar het pigment te zien is.

Uit dit microscopische onderzoek leeren wij, dat 24 uur na de inspuiting de inktdeeltjes in de organen milt, lever en lymfklier zich bijna uitsluitend opgehoopt hebben in de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel.

Dat de inktdeeltjes niet gevonden worden in de wanden der miltsinus, behoeft ons niet te verwonderen. Geheel in overeenstemming met de reeds vermelde mededeeling van Tait en Cashin wordt de inkt, wanneer zij in een betrekkelijk geringe hoeveelheid ingespoten wordt, niet aangetroffen in de wanden der miltsinus. Slechts na inspuiten van zeer groote hoeveelheden inkt, die zeer zeker nadeelig zouden werken op den gezondheidstoestand van het dier, ja zelfs doodelijk zouden kunnen zijn, worden volgens Tait en Cashin de wanden der miltsinus door de inktdeeltjes aangetoond.

Onderzoek B.

Hond B werd op 8 Juni 1931 in een ader ingespoten met 50 cc. 2½ maal verdunde oplossing van oost-indischen inkt. Na 24 uur werd het dier door morphine en aether bedwelmd en werden de organen milt, en lever uit het lichaam genomen. Ook een gedeelte van een pijpbeen werd ter onderzoek genomen.

Het microscopische onderzoek leverde de volgende uitkomsten op:

Lever.

Een fraaie pigmentophooping is te vinden in bijna alle cellen van Kupffer, maar voornamelijk in de intermediaire zône der leverkwabjes of ook wel, maar minder, in de periportale zône. Sommige zijn geweldig gevuld en steken als dikke, ovale lichamen in het capillairlumen uit; andere bevatten iets minder, maar zijn toch ook gezwollen.

Verder is er een fijn neerslag van pigmentkorreltjes langs een gedeelte van het niet door de cellen van Kupffer bedekte deel van de capillairwanden; en tenslotte is er een fijn netvormig neerslag van pigment in het periportale bindweefsel, óm de bloedvaten en óm de galbuisjes.

Slechts op enkele plaatsen is zeer weinig pigment in het endotheel van een poortadertakje of ook in het lumen van een poortader te vinden.

De levercellen vertoonen vleksgewijze lichte degeneratieve veranderingen.

In enkele galcapillairen is een kleine galdruppel te zien.

Ook in enkele levercellen is hier en daar een klein zwart puntje te zien, maar dat zinkt in het niet tegenover het beeld der cellen van Kupffer.

Een photo van een microscopisch praeparaat van deze lever wordt in fig. 3 weergegeven.

Figuur 3.



Lever van een hond, welke gedurende het leven in een ader ingespoten werd met 50 cc. van een $2\frac{1}{2}$ maal verdunde oplossing van oost-indischen inkt. Na 24 uur werd het orgaan uit het lichaam verwijderd. Zeer duidelijk is de pigment-ophooping in de cellen van Kupffer te zien. Zij steken als dikke, ovale lichamen in het capillairlumen uit. (125maal vergroot)

Milt.

De milt bevat minder pigment dan de lever. Het ligt niet in de trabekels en niet in de lichaampjes van *Malpighi*; wel in fijne korreltjes aan den rand daarvan. Het pigment bevindt zich voornamelijk in het stroma van de miltpulpa, d.w.z. verspreid in kleine groepjes van de cellen van het miltreticulum. Het pigment is niet te vinden in de endotheliën der bloedsinus.

Opmerkelijk is, dat in de milt het pigment meestal in kleine hoopjes bij elkaar zit, wat men vooral fraai ziet in de alleen met eosine gekleurde praeparaten.

Bij zeer zwakke vergrooting herinnert het beeld daardoor soms aan door zilverneerslag zwartgekleurde nierglomeruli.

Overigens ligt het pigment verspreid in min of meer vertakte cellen

van het reticulum of als losse verspreide korreltjes, waarvan de localisatie niet nauwkeurig is te bepalen.

Een photo van een microscopisch praeparaat van deze milt wordt in fig. 4 weergegeven.

Figuur 4.



Milt van een hond, welke gedurende het leven in een ader ingespoten werd met 50 cc. van $2\frac{1}{2}$ maal verdunde oplossing van Oost-indischen inkt. Na 24 uur werd de milt uit het lichaam verwijderd. Vooral in de cellen van het reticulum wordt de inkt aangetroffen. (125 maal vergroot.)

Beenmerg.

Het beenmerg bevat zeer weinig van het ingespoten pigment. Het is alleen te zien in heele kleine korreltjes tusschen de vetcellen, zonder dat met zekerheid te zeggen is, waar ze precies in liggen; het maakt over het algemeen den indruk buiten de cellen te liggen.

Vooral dus in de lever, maar ook wel in de milt, worden de inktdeeltjes aangetroffen in de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel. De inkt heeft zich zoo goed als niet afgezet in het beenmerg.

Onderzoek C.

Op 11 September 1931 werd hond C in een ader ingespoten met 50 cc. $2\frac{1}{2}$ maal verdunde oplossing van oost-indischen inkt. Onder narcose met morphine en aether werden 8 uur na de inspuiting de lever en

milt uit het lichaam genomen. Na den dood (door chloroform) werd een pijpbeen uit het lichaam genomen

Bij het microscopische onderzoek bleek het volgende:

Lever.

In de lever is een lichte acute stuwung.

Diffuus is door de lever te zien een ophooping van pigment in de cellen van K u p f f e r en wel sterk overwegend in de periportale zône van de leverkwabjes.

De cellen van K u p f f e r zijn veelal tot barstens toe met het pigment opgevuld, terwijl in de levercellen zelf geen of zoo goed als geen pigmentkorreltjes, ook niet met sterke vergrooting, aan te treffen zijn.

Milt.

De milt vertoont een eenigszins ander beeld dan dat van de voorgaande honden.

Het pigment is n.l. minder diffuus verbreid en overwegend opgehoopt in de perivasculaire celgroepjes om de kleine arterie-takjes. Nu en dan ziet men fraai een overlans getroffen arterietje eindigen in zulk een groepje pigmenthoudende cellen. Ook is het pigment te vinden aan de randen der lichaampjes van M a l p i g h i. Er tusschen in is het licht diffuus verspreid in de elementen der pulpa, zoowel in de begrenzing der miltsinus als in de pulpacellen zelf.

Beenmerg.

Het beenmerg bevat uiterst weinig pigment en wel, zoover te beoordeelen, in de beenmergcellen, welke zich tusschen de vetcellen bevinden.

Helaas ontbraken tijd en gelegenheid de onderzoekingen in deze richting voort te zetten. Het zou toch wel van belang geweest zijn eens na te gaan, wanneer en waarheen de inktdeeltjes de reticulo-endotheliale elementen verlaten.

Toch mogen wij uit de betrekkelijk weinige proeven wel vaststellen, dat het doel, hetwelk met de inspuiting van oost-indischen inkt beoogd werd, namelijk beladen der reticulo-endotheliale elementen in milt en lever, bij de onderzoekingen, in dit proefschrift vermeld, bereikt is geworden.

Een tweede, eigenlijk belangrijker vraag is, of door deze belading de werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel opgeheven of belemmerd worden. Deze moeilijkheid werd reeds in hoofdstuk II nader onder het oog gezien.

HOOFDSTUK VI.

BESCHOUWINGEN OVER DE VERKREGEN UITKOMSTEN.

Bij de in dit proefschrift beschreven onderzoekingen is het gebleken, dat de afscheiding van indican met de urine bij een hond onder altijd dezelfde omstandigheden en bij een standvastige voeding aan groote schommelingen onderhevig is. De hoeveelheden indican bij een standvastige, tamelijk vleeschrijke voeding met de urine afgescheiden bedragen per 48 uur van 0 tot 57 mgr. Hoewel voor de proeven verschillende honden dienden, hebben deze uiterste getallen betrekking op een en hetzelfde proefdier. Echter ook bij andere dieren werden groote schommelingen in de afscheiding van indican gevonden.

Er is reeds in het vorige hoofdstuk op gewezen, dat bij sommige proeven de afscheiding van indican in het begin sterker is dan eenigen tijd later. Zoo is bij onderzoek 1, 3, 8 en 10 een daling der lijn, welke in de grafische voorstelling de indican-afscheiding voorstelt, waar te nemen van de eerste dag van het onderzoek af tot aan het oogenblik van inspuiting.

De dieren ontvingen bij deze proeven een hoeveelheid vleesch, welke grooter was dan zij waarschijnlijk ooit gewend waren geweest. Aanvankelijk werd het rottingsproduct indoxyl in grootere hoeveelheden met de urine afgescheiden als gepaarde verbinding dan later, wanneer men verwachten kan dat het organisme zich aan de vleeschrijkere voeding heeft aangepast. Deze daling der indicanafscheiding kan beteekenen, dat de rotting in den darm geringer in omvang is geworden, echter ook dat de verhouding van paring der giftige rottingsproducten tot ontleding dier stoffen zich heeft gewijzigd ten gunste van deze laatste.

Welke van die twee factoren bij dit verschijnsel van geleidelijke daling der indican-afscheiding in het spel is geweest, is niet zonder meer uit te maken.

De kleinste waarde, welke ooit gevonden werd voor de afscheiding der estersulfaten bedroeg 11 mgr. SO_3 per 48 uur, de grootste waarde 389 mgr. SO_3 . Nog meer dan de afscheiding van indican vertoont de afscheiding van estersulfaten onder normale, altijd dezelfde omstandigheden, aanzienlijke schommelingen. Het is, nog minder dan bij de indican-afscheiding, geoorloofd bij het zoover uit elkaar liggen van de twee uiterste waarden, een gemiddelde te berekenen voor de dagelijksche afscheiding. Ook zou men over meer gegevens moeten beschikken dan in dit proefschrift vermeld worden. Laat men echter de uiterste waarden, die niet zoo heel vaak voorkomen, wegvallen, dan blijkt de verhouding van estersulfaat tot algeheel sulfaat in de urine van een hond van ongeveer dezelfde orde te zijn als bij den mensch.

Daar nu de physiologische schommelingen, zoowel der estersulfaat-afscheiding als der indican-afscheiding reeds zoo aanzienlijk zijn, is het niet zoo eenvoudig, een abnormale, versterkte afscheiding vast te stellen.

Overzien wij echter de uitkomsten van de proeven 3 tot en met 7, dan treft het ons, dat wel nooit na de inspuiting van oost-indischen inkt deze gepaarde verbindingen in verminderde mate worden afgescheiden, iets wat men toch ook wel eens zou verwachten, indien het slechts physiologische schommelingen betrof. De lijnen, welke in de grafische voorstellingen deze waarden aangeven, dalen na de inspuiting nooit, althans niet binnen 4 dagen na de inspuiting.

Maar wel worden bij sommige, hoewel niet alle, proeven zoowel indican als estersulfaten in onmiskénbaar versterkte hoeveelheden afgescheiden na de „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel. Zeer duidelijk is dit verschijnsel bij proef 4 waar te nemen. Maar bij deze proef is ook de afgescheiden hoeveelheid urine na de inspuiting sterk vermeerderd. Dit is des te merkwaardiger, daar andere onderzoekers meenen, dat na blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel de afscheiding van urine vermindert. Het onderzoek van P. S a x l en E. D o n a t h over de beteekenis van het reticulo-endotheliale stelsel bij de regeling van den water-omzet werd reeds in hoofdstuk II vermeld. Niet alleen bij onderzoek 4, maar ook bij onderzoek 7 werd de urine in zeer versterkte hoeveelheid na de inspuiting afgescheiden. Ook bij onderzoek 5 is een wel niet zoo sterke, maar toch ook duidelijk vermeerderde afscheiding van urine waar te nemen.

Daar bij het onderzoek, in dit proefschrift behandeld, echter nooit een duidelijke vermindering der hoeveelheid afgescheiden urine werd

waargenomen, maar wel in sommige gevallen een onmiskenbaar versterkte afscheiding, kan ik de meening van Saxl en Donath en van anderen, als zou na blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel de afscheiding van urine verminderd zijn, niet onderschrijven. Veeleer blijkt bij mijn onderzoekingen het tegendeel.

Nu is bij deze proeven, waarbij een duidelijk toenemen der afscheiding van indican en estersulfaten na inspuiting met oost-indischen inkt wordt waargenomen, het bezwaar te opperen, dat dit toenemen in het geheel niet het gevolg behoeft te zijn van een versterkte paring, maar dat bij de versterkte afscheiding van urine eveneens een versterkt uitwasschen van de weefsels plaats vindt. Zoo zou de gevolgtrekking, dat na blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel de afscheiding der gepaarde verbindingen toeneemt, niet op goede gronden berusten.

Tegen dit bezwaar is het volgende in te brengen. Al is dan de afscheiding van urine versterkt, in nog sterkere mate is de afscheiding, of van indican, of van estersulfaten toegenomen. Ook zou men nā deze vermeerderde urineloosung en de daarmee gepaard gaande vermeerderde afscheiding van gepaarde verbindingen een compensatorisch verminderde afscheiding van gepaarde verbindingen verwachten. Dit is echter bij geen enkele der proeven het geval.

Bij enkele der proeven is de vermeerdering van de afscheiding der gepaarde verbindingen zóó gering, dat men zeer zeker uit deze uitkomsten alleen geen gevolgtrekkingen zou mogen maken. Ook is bij enkele proeven, na de blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel, een vermeerderen van de afscheiding van een der beide onderzochte gepaarde verbindingen waar te nemen. Zoo zien wij bij onderzoek 6 na de inspuiting een geringe vermeerdering van de hoeveelheid afgescheiden estersulfaat, terwijl de afscheiding van indican onveranderd blijft. Omgekeerd zien wij bij onderzoek 7 alleen de afscheiding van indican versterkt.

Een andere moeilijkheid bij de beoordeeling der uitkomsten is, dat aan den oost-indischen inkt wellicht door de fabriek een bederf-werende stof is toegevoegd, welke ook op een of andere wijze invloed oefent op de afscheiding der gepaarde verbindingen. Zoo is het b.v. bekend, dat na toediening van phenol, dat ook wel eens als bederf-werend middel wordt gebruikt, de afscheiding der estersulfaten toeneemt. Doch als men nagaat, welke kleine hoeveelheden van zulk een bederf-werend middel reeds voldoende zijn, dan kan de invloed van zulke toegevoegde stoffen door hun geringe aanwezigheid toch niet of nauwelijks in aanmerking komen. Temeer daar de luttele milligrammen, welke op deze wijze misschien aan het lichaam toegediend zijn, toch zeker niet volledig afgescheiden worden als estersulfaat. Aannemende, dat wij eerst van

een versterkte afscheiding spreken, wanneer er 50 mgr. estersulfaat (als SO_3) meer wordt afgescheiden, dan vóór de inspuiting is een hoeveelheid van b.v. 20 mgr. phenol als bederf-wereld middel toch te gering om deze afscheiding in merkbare mate te vermeerderen. Gelet op de onderzoeken van H. R o d e ¹⁾ en anderen verschijnt van het toegediende phenol omstreeks 20 % als estersulfaat in de urine. Van deze 20 mgr. phenol zou er dus ruim 3 mgr. estersulfaat (als SO_3) met de urine afgescheiden worden. Deze invloed mag men toch wel verwaarloozen. Het is bovendien nog niet geheel zeker, of er inderdaad zulk een middel is gebruikt, dat invloed heeft op de afscheiding der estersulfaten. De fabriek kon bij navraag niet mededeelen, welk middel toegevoegd was, daar er afwisselend verschillende gebruikt worden. Op het tijdstip, dat deze beschouwing op schrift werd gesteld, werd een onderzoek ingesteld met het doel na te gaan of in de gebruikte „Pelikantusche” phenol of andere stoffen voorkomen, welke invloed oefenen op de vorming van gepaarde verbindingen en zoo ja, in welke hoeveelheid. De uitslag van dit onderzoek was op dit oogenblik, dat deze beschouwing geschreven werd, nog niet bekend.

Bij de beoordeeling der uitkomsten moet er gelet worden op het feit, dat in de lever, waarvan het reticulo-endotheliale stelsel geblokkeerd is, behalve de ontleding der vergiftige stoffen, ook de paring dezer stoffen aan andere plaats vindt. Indien men dus uit de versterkte afscheiding van gepaarde verbindingen na de blokkade van het reticulo-endotheliale stelsel de gevolgtrekking maakt, dat de ontleding der vergiftige rottingsproducten uit het darmkanaal is verminderd, is het waarschijnlijk, dat de paring van deze stoffen op andere plaatsen, in andere cellen plaats vindt dan de afbraak.

Ook meenen vele onderzoekers, dat de zoogenaamde blokkade niet altijd een remming der werkingen van het reticulo-endotheliale stelsel te weeg brengt, maar integendeel een versterking.

Zoo zien wij dus, dat bij de beoordeeling der uitkomsten van de onderzoeken, in dit proefschrift vermeld, zich veel bezwaren voordoen, welke het met zekerheid maken van gevolgtrekkingen bemoeilijken. En dit des te meer, daar er over betrekkelijk weinig, nog wel biologische, proeven met hun uitkomsten beschikt kan worden.

Deze proeven namen echter zooveel tijd in beslag, dat het voor mij ondoenlijk was hun aantal te vergrooten. Zeer wenschelijk zou het echter zijn proefnemingen in deze richting voort te zetten, teneinde met zekerheid gevolgtrekkingen te kunnen maken, dan nu mogelijk is.

Misschien is echter ook nu reeds de veronderstelling dat in de reticulo-endotheliale elementen van milt en lever de afbraak van giftige

¹⁾ H. R o d e. Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 124, 1922, blz. 15.

rottingsproducten uit het darmkanaal plaats vindt, niet te gewaagd, vooral wanneer wij in aanmerking nemen de uitkomsten en gevolgtrekkingen der onderzoekingen van K. Mitsuba, M. Händel en E. H. Rosenzuaig, welke onderzoekingen in de inleiding en ook later ter sprake zijn gekomen.

Mitsuba meent toch, dat in de milt, een orgaan, rijk aan reticulo-endotheliale elementen, de ontleding van vergiftige stoffen plaats vindt. M. Händel en E. H. Rosenzuaig kennen aan het reticulo-endotheliale stelsel een rol toe bij het onschadelijk maken van toege- diende vergiften.

Het onderzoek van Mitsuba, die na het wegnemen der milt een versterkte afscheiding der gepaarde verbindingen waarnam, is ook nagegaan. Weliswaar slechts in twee proeven, waarvan de eene toch een zeer bijzondere beteekenis heeft.

Bedoeld wordt onderzoek 3, waarbij een hond, die langen tijd van te voren een inspuiting in een ader had ontvangen van oost-indischen inkt, van zijn milt werd beroofd. Het is, volgens de algemeene opvatting en volgens het microscopische onderzoek, hetwelk van deze milt verricht werd, hoogst onwaarschijnlijk, dat het reticulo-endotheliale stelsel na zoo een langen tijd nog geblokkeerd is geweest.

Veeleer is aan te nemen, dat er een woekering van de reticulo-endotheliale elementen heeft plaats gehad. Het was zeer duidelijk waar te nemen, dat de milt van deze hond, die nog zwart was gekleurd, veel omvangrijker was, dan men verwachten zou in verband met de grootte van het dier. Dat na de verwijdering van een wellicht zeer werkzaam gedeelte van reticulo-endotheel de afscheiding van gepaarde verbindingen zeer sterk toeneemt, beteekent een grooten steun voor de opvatting, dat in de elementen van het reticulo-endotheliale stelsel de vergiftige rottingsproducten uit het darmkanaal ontleed worden.

SAMENVATTING.

Er werd een onderzoek ingesteld naar de rol, welke het reticulo-endotheliale stelsel speelt bij het onschadelijk maken, meer in het bijzonder het ontleden, van vergiftige rottingsproducten uit het darmkanaal.

Daartoe werd de urine van honden onderzocht op het gehalte aan indican en estersulfaten vóór en ná „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel met oost-indischen inkt.

Voor het meten van de hoeveelheid indican in de urine werd de werkwijze van J. B o u m a gevolgd, echter na deze zoodanig gewijzigd te hebben, dat kleinere hoeveelheden, die volgens de vroegere werkwijze niet gemeten konden worden, nu wel te meten waren.

Voor het meten van de hoeveelheid estersulfaten werd de werkwijze van O. R o s e n h e i m en J. C. D r u m m o n d gevolgd, welke naast betrouwbaarheid een groote mate van eenvoudigheid bezit.

De afscheiding van indican en estersulfaten bij den hond komt onder normale omstandigheden in groote trekken overeen met de afscheiding van voornoemde stoffen bij den mensch.

Microscopische bestudeering na inspuiting met oost-indischen inkt in een ader bevestigt het reeds bekende feit, dat de inktdeeltjes zich hoofdzakelijk afzetten in de reticulo-endotheliale elementen van lever en milt.

Bij de betrekkelijk weinige proeven is de afscheiding van indican en estersulfaten, althans van een van deze beide, na „blokkade” van het reticulo-endotheliale stelsel en ook na gedeeltelijke verwijdering van dit stelsel door het wegnemen van de milt, nu eens meer, dan eens minder duidelijk versterkt, zoodat de gevolgtrekking in overeenstemming met de uitkomsten van M i t s u b a wellicht gerechtvaardigd is, dat het reticulo-endotheliale stelsel onder normale omstandigheden de rottingsproducten, welke in het darmkanaal ontstaan, door vernielen onschadelijk maakt. Dientengevolge worden deze rottingsproducten na algeheele of gedeeltelijk uitschakelen van de werking van het reticulo-endotheliale stelsel door „blokkade” met oost-indischen inkt in versterkte mate met de urine afgescheiden.

BRIEF SUMMARY AND CONCLUSIONS.

The significance of the reticulo-endothelial system in destroying the harmful bacteriological products from the intestinal tract was investigated.

For this purpose we examined the secretion of indican and sulphuric acid esters in the urine of dogs before and after „blockade” of the reticulo-endothelial system by East-Indian ink.

J. Bouma's method for the determination of the quantity of indican in the urine was used. As this method in its original form is not able ^{apt} to determine very ^{small} quantities of indican the method was ameliorated in such a manner, that even traces of indican could be measured.

The quantity of sulphuric acid esters in the urine was measured by O. Rosenheim and J. C. Drummond's method, which as was stated by ^{us} ourselves, is reliable and quite easy ^{to perform} in use.

The excretion of indican and sulphuric acid esters in the dog under normal circumstances is in general quite similar to the excretion of the ^{same} theme in human beings.

Microscopical examinations of the liver, the spleen and other organs of the reticulo-endothelial elements after intravenous injection of East-Indian ink showed us, as was already found by others, that the ink-particles in the first place ^{more} retained in the liver and the spleen.

We could only do relative ^{few} experiments. The results show that secretion of indican and sulphuric acid esters together or at least ⁱⁿ from one of the two, more or less increased after „blockade” of ^{or} partial removing by exstirpation of the spleen, of the reticulo-endothelial system. As far as may be concluded from the results of these few experiments, it seems to us, that our results agree with Mitsuba's.

Therefore we can confirm, Mitsuba's hypothesis, that under normal circumstances the reticulo-endothelial system destroys the poisonous bacteriological products of the testinal tract.

In this way the excretion of the bacterial products from the intestinal tract is increased by total or partial inhibiting of the function of the reticulo-endothelial system by „blockade” with East-Indian ink.

STELLINGEN

1. Bij verbrandingen van de huid verdient de behandeling met 5% looizuur-oplossing de voorkeur.
(E. C. Davidson. Surgery, Gynecology and Obstetrics, deel 41, 1925, blz. 202)
2. Het verdient aanbeveling bij essentiele hypertensie diathermie van den schedel toe te passen.
(D. Laszlo en E. Weisel. Klinische Wochenschrift, 9de jaargang, 1930, blz. 1576)
3. Men blaze bij het meten van de bloedsdrukking de manchet niet snel tot zeer groote waarde op.
(A. Hirschbruch. Klinische Wochenschrift, 10de jaargang, 1931, blz. 778)
4. De behandeling van asphyctische pasgeborenen volgens Schultze is af te keuren.
(S. Liebmann. Archiv für Gynäkologie, deel 139, 1930, blz. 544)
5. De monocytën uit het bloed zijn in hoofdzaak afkomstig van het reticulo-endotheliale stelsel.
(W. Büngeler en B. Fischer-Wasels. Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft, 26ste Tagung, 1931, blz. 148)

6. Volgens onderzoeken aan den Siamang is het onwaarschijnlijk, dat de aard der gebitswisseling invloed oefent op de vorming van het voorste gedeelte van de kaak.

(J. J. H. Mijsberg-v.Roojen en W. A. Mijsberg.
Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsge-
schichte, deel 95, 1931, blz. 708)

7. De opvatting van B. Stuber en K. Lang, dat de glykolyse de oorzaak is van de bloedstolling, berust op onvoldoende gronden.

(B. Stuber en K. Lang. Die Physiologie und
Pathologie der Blutgerinnung, 1930, Urban en
Schwarzenberg)

8. De formule voor de grondstofwisseling van H. Bohnenkamp heeft groote voordeel boven andere (Benedict, Dubois), dat zij dimensionaal juist is.

(H. Bohnenkamp. Pflügers Archiv für die
gesammte Physiologie, deel 228, 1931, blz. 125)

