



Proeven over het verband tusschen de actueele reactie van bloed en urine

<https://hdl.handle.net/1874/272614>

44^e 192, 1920.

**PROEVEN OVER HET VERBAND
TUSSCHEN DE ACTUEELE REACTIE
VAN BLOED EN URINE**



R. BAHLMANN

A. qu.
192



PROEVEN OVER HET VERBAND TUSSCHEN
DE ACTUEELE REACTIE VAN BLOED EN
URINE.

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



1170 8546

8cc.

A-4^o = 192, 1920.

**PROEVEN OVER HET VERBAND TUS-
SCHEN DE ACTUEELE REACTIE VAN
BLOED EN URINE.**

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJ-
GING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT
TE UTRECHT OP GEZAG VAN DEN RECTOR-
MAGNIFICUS Dr. W. VOGELSANG, HOOG-
LEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN
EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN
DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN
DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER
GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG
28 SEPTEMBER 1920, DES NAMIDDAGSTE 4 UUR

DOOR

ROBERT BAHLMANN,

ARTS,

GEBOREN TE WEIMAR.



ELECTRISCHE DRUKKERIJ E. J. BOSCH & ZON - UTRECHT.

AAN MIJNE MOEDER.

Aan het einde mijner academische opleiding gekomen, betuig ik mijn oprechten dank aan de Hoogleraren der geneeskundige faculteit voor alles, wat ik van hen heb mogen leeren.

Bijzonderen dank ben ik verschuldigd aan U, hooggeachte Promotor, Professor Ringer, vooral voor de belangstelling, waarmede U mijne werkzaamheden op Uw laboratorium heeft gevolgd en voor de hulp, die U mij met de grootste welwillendheid bij de proefnemingen heeft verleend.

En ook aan alle anderen, die mij bij de voorbereiding van dit proefschrift behulpzaam zijn geweest, spreek ik daarvoor mijn hartelijken dank uit.

INLEIDING.

De snelheid van chemische reacties hangt voor een goed deel af van de temperatuur en van de concentratie der met elkaar reageerende stoffen. Een gelijkmatige snelheid kan dus in het algemeen alleen voorkomen bij eene constante temperatuur en constante concentraties. Tal van gewichtige chemische reacties, die zich in het levende lichaam van mensch en hogere dieren afspelen, kunnen met een bijna eenparige snelheid voortgaan, want deze organismen bezitten het vermogen zoowel de temperatuur als de concentratie van verschillende voor het leven belangrijke stoffen in het bloed constant te houden. Beschouwen wij het gelijkmatige voortgaan van de verschillende scheikundige processen in het organisme als typisch voor deze levensvorm, dan moeten wij wel de inrichtingen, waardoor dit mogelijk wordt gemaakt, dus het standvastig houden van temperatuur en concentraties, als fundamenteele levensverrichtingen beschouwen. In het bijzonder vraagt de regulatie der concentratie van de waterstofionen onze aandacht, die immers eene buitengewone beteekenis heeft voor tal van reacties. Door talrijke waarnemingen is vastgesteld, dat de concentratie der waterstofionen of de actueele reactie van het bloed slechts geringe schommelingen vertoont. Het lichaam bezit dus inderdaad het vermogen, het evenwicht tusschen zuren en basen in het bloed op zoodanige wijze te handhaven, dat de actueele reactie onder normale omstandigheden standvastig blijft. Daar nu door de stofwisseling, waarbij vooral stoffen met zure

eigenschappen gevormd worden, en door de resorptie van stoffen van uit het darmkanaal dit evenwicht voortdurend dreigt verstoord te worden, moeten er ook voortdurend factoren in het spel zijn, die dit tegengaan. Reeds het bloed op zich zelf in vitro verzet zich sterk tegen eene verandering van de reactie.

R. Höber¹⁾ geeft naar Friedenthal op, dat men aan bloedserum 40—70 maal zooveel natronloog moet toevoegen als aan zuiver water om de gelijke roode kleur met phenolphthaleïne te krijgen en zelfs 327 maal zooveel zoutzuur voor dezelfde kleur met methylo ranje. Moore en Wilson titreerden serum tot het omslagpunt van phenolphthaleïne en daarna tot dat van methylo ranje; voor de laatste titratie was zooveel zuur noodig, als overeenkwam met een normaliteit van het serum aan alkali van 0,14 tot 0,16 normaal. Buiten deze grenzen, de „neutral zone”, veranderde de reactie echter sterker door het toevoegen van zuur of alkali. Hieruit meenen de schrijvers te moeten besluiten, dat het vermogen van de eiwitstoffen van het bloedserum om alkali of zuur te binden, ook door dit getal wordt aangegeven; totaal zou dus 0,15 norm. natriumhydroxyde bijv. kunnen worden gebonden. Nu komt de osmotische druk van het serum van zoogdieren overeen met die van een 0,9% of 0,15 norm. natriumchloride-oplossing. Door deze overeenkomst van getallen werden Moore en A. Douglas Bigland²⁾ getroffen. Zij meenden, dat het getal 0,15 N. ook hier zou samenhangen met het genoemde vermogen der eiwitstoffen om te binden

¹⁾ Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 4^e Auflage, S. 187, (1914).

²⁾ The biochem. Journal, Vol. V, p. 32, (1911).

of te adsorbeeren, waardoor onder normale omstandigheden het gehalte aan crystalloïden van het serum werd geregeld. Om den aard van deze betrekking, chemische binding of adsorptie te leeren kennen, onderzochten zij het zuur- en alkalibindend vermogen van serum nog nader. Zij meenden, dat het niet goed mogelijk zou zijn, de electrometrische bepaling van de concentratie der waterstofionen op dierlijke vloeistoffen met nagenoeg neutrale reactie toe te passen. Daarom namen zij hun toevlucht tot titratie met gebruik van indicatoren. Daar nu de indicatorenmethode bij aanwezigheid van eiwitstoffen dikwijls moeilijkheden oplevert, gingen zij als volgt te werk. Door perkamentpapier werd serum van gedestilleerd water gescheiden; aan het serum werden verschillende hoeveelheden $\frac{N}{10}$ loog of zuur toegevoegd.

Als nu in het dialyseertoestel evenwicht ontstaan was, werd 20 cM.³ van de eiwitvrije buitenvloeistof getitreerd. Daaruit werd berekend, hoeveel zuur van het toegevoegde nog vrij overgebleven was. Zij vonden, dat de hoeveelheid gebonden zuur of alkali van de concentratie hiervan afhangt, maar als een zeker maximum bereikt is, wordt praktisch niets meer gebonden; bij aanzienlijke verhooging der concentratie echter wel, maar daarbij wordt het eiwit ontleed. De binding beschouwen zij als te zijn van chemischen aard.

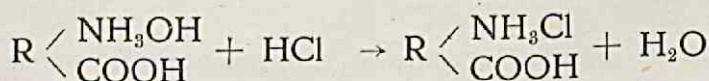
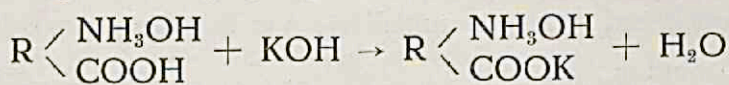
De electrometrische methode bleek echter zeer goed bruikbaar te zijn voor het onderzoek van bloed en serum. Onder anderen is door W. E. Ringer¹⁾ daarmee het

¹⁾ Gedenksboek van Van Bemmelen, 1910, blz. 243 en Onderzoeken Physiol. Lab. Utrecht (V) XI, blz. 261, (1911).

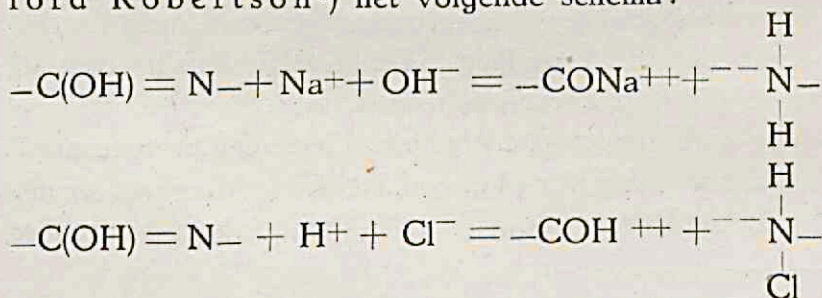
zuur- en alkalibindend vermogen van bloedserum nagegaan. De veranderingen der actueele reactie, verkregen door het toevoegen van verschillende hoeveelheden zuur en alkali, is daar aanschouwelijk door graphische voorstellingen verduidelijkt.

Verschillende stoffen van het bloed en het serum zijn de dragers van dit vermogen om zuur of alkali te binden: de eiwitstoffen, karbonaten en phosphaten. De twee laatste stoffen werken natuurlijk chemisch, maar ook het zuur- en alkalibindend vermogen van eiwit wordt thans als een chemische reactie beschouwd.

Hardy, Pauli en Handowsky geven daarvoor de volgende vergelijking:



Alleen de eindstandige groepen der tot een complex vereenigde aminozuren zouden volgens deze voorstelling aan de werking deelnemen. De groote omvang der binding, bijv. van caseïne en edestine kan echter aldus moeilijk verklaard worden. Daarom gaf T. Brailsford Robertson¹⁾ het volgende schema:



¹⁾ The Journal of biol. chemistry, Vol. IX, p. 311, (1911).

Volgens deze voorstelling worden bij de binding met basen geen metaalionen gevormd, wat werkelijk niet het geval schijnt te zijn. Of echter het eiwitmolekuul werkelijk bij de binding in kleinere ionen uit elkaar valt, is nog een open vraag.

Volgens L. J. H e n d e r s o n komen bij de reguleering van de concentratie der waterstofionen van het bloed de anorganische bestanddeelen op den voorgrond. In eene polemiek tegen R o b e r t s o n schrijft hij: „The power of proteins to preserve neutrality in solution, though great in itself, is, under conditions which obtain in the organism, not comparable with that of the inorganic constituents of blood and protoplasm.”¹⁾ De karbonaten zouden de eerste rol spelen, dan komen de phosphaten, terwijl de eiwitstoffen een ondergeschikte beteekenis zouden hebben. A. B e l a k²⁾ meent terecht, dat deze regulatie niet trapsgewijze in werking treedt, maar tegelijk door alle componenten; ook de globulinen zouden eene grootere beteekenis hebben dan H e n d e r s o n hen toedacht. Een trapsgewijze regulatie zal zich H e n d e r s o n ook wel niet voorgesteld hebben, daar zij met onze physisch-chemische begrippen volkomen in strijd is. In eene vloeistof is immers maar één concentratie der waterstofionen, die wij door het teeken $[H^+]$ voorstellen, en deze is het, die bepaalt, in welken vorm een stof aanwezig is, bijv. hoeveel phosphaat of karbonaat in den vorm van primair phosphaat of van secundair phosphaat, of hoeveel in den vorm van hydrokarbonaat of van koolzuur, zooals door

¹⁾ The Journal of biol. chemistry, Vol. VII, p. 34, (1909).

²⁾ Biochem. Zeitsch., Bd. 90, S. 96, (1918).

de volgende vergelijkingen, die het evenwicht voorstellen, nog wordt verduidelijkt:

$$K = \frac{[H^+][HPO_4^{--}]}{[H_2PO_4^-]} \text{ en } K_1 = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Zooals dadelijk blijken zal, hangt juist van de concentratie van het ongedissociëerde gedeelte de regulatie af; verandert de $[H^+]$ dan moet ook voor alle aanwezige regulatoren de verhouding van gedissociëerd en ongedissociëerd gedeelte veranderen. Het vermogen van het bloedserum om zuren te binden, dat J. F. Mc. Clendon, A. Shedlov en W. Thomson¹⁾ de reserve-alkaliteit noemen, dankt het volgens deze onderzoekers voornamelijk aan het $NaHCO_3$. Ook L. Michaelis²⁾ acht de beteekenis van phosphaten en eiwitstoffen gering tegenover die der karbonaten, en gaat dus met de meening van Henderson mee. Uit de concentratie van deze 3 stoffen is hun invloed op de reactie te schatten. Het geheele gehalte aan CO_2 is 0,03 moleculair, het gehalte aan phosphaten ongeveer 0,003 moleculair; uit eene ruwe schatting van het moleculaire gehalte aan eiwitstoffen in het bloed tracht Michaelis hun invloed op de reactie na te gaan — dit is wel eenigszins bedenkelijk, zooals de lezer na het boven uiteengezette zal begrijpen — en meent, dat in het allergunstigste geval hun invloed met die van de phosphaten op een lijn kan worden gesteld. De hoeveelheid bloedlichaampjes in het plasma is ook van invloed op de reactie van het bloed, dat namelijk bij dezelfde koolzuur-spanning minder alkalisch is, naarmate het meer

1) Zie ref. Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde, 1918, I, blz. 1010.

2) Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 88, (1914).

bloedlichaampjes bevat. K. A. Hasselbalch¹⁾ wijst hierop en geeft met een graphische voorstelling de daarbij gevonden verschillen op, waaruit blijkt, dat voor dezelfde actueele reactie gedefibrineerd bloed met gelijke hoeveelheid serum verdund een 12 mM. hoogere koolzuurspanning moet hebben dan het onverdunde. Hieruit blijkt, dat de eiwitstoffen niet geheel verwaarloosd mogen worden, want voornamelijk aan de bloedkleurstof zal dit verschil wel te wijten zijn. Ook Michaelis merkte, dat bloed door verdunning met gedestilleerd water haemolytisch geworden, meer zuur was dan het met isotonische zoutoplossing verdunde. De eigenschappen van de bloedkleurstof brachten zelfs Arvo Ylppö er toe, op grond van electrometrische reactiebepalingen een acidotische constitutie van het pasgeboren kind aan te nemen. Volgens K. A. Hasselbalch²⁾ was echter het hoge haemoglobine-gehalte de oorzaak van dezen hoogen zuurgraad, dien Ylppö vond; overigens hield deze onderzoeker niet voldoende rekening met den invloed van de koolzuurspanning, zoodat zijne reactiebepalingen bij eene te lage koolzuurspanning zijn verricht. Oxyhaemoglobine is een ampholyt, die bij nagenoeg neutrale reactie isoëlectrisch is. Bij zure reactie is het een base, bij alkalische een zuur, dat sterk genoeg dissoceert om al het koolzuur uit het bloed te verdrijven. Gewoon bloed kan immers in vacuo zonder toevoeging van zuur koolzuurvrij gemaakt worden, wat met serum of plasma niet gaat. Gaat koolzuur verloren bij het uitvoeren van eene bepaling, dan wordt het bloed

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 46, S. 428, (1912).

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 80, S. 251, (1917).

alkalischer; is echter veel haemoglobine aanwezig, dan vinden wij het bloed minder alkalisch, dan wij bij een laag haemoglobine-gehalte zouden gevonden hebben, m.a.w. het resultaat van Arvo Ylppö is dus het gevolg van het verwaarlozen van koolzuur-spanning en haemoglobine-gehalte.

De stoffen met reactie-reguleerende eigenschappen zijn zwakke zuren of basen, d.w.z. de moleculen zijn slechts voor een klein gedeelte in hunne ionen gesplitst. Wordt nu bijv. bij een zwak zuur de actueele reactie gewijzigd door het toevoegen van loog, worden dus aanwezige waterstofionen volgens de vergelijking $H^+ + OH^- \rightarrow H_2O$ weggenomen, dan is het evenwicht tusschen de gedissociëerde en de ongedissociëerde moleculen van het zuur verstoord en dadelijk worden ongedissociëerde moleculen in hunne ionen gesplitst om het evenwicht volgens de wet der massawerkingen te herstellen; zoo worden nieuwe waterstofionen gevormd. De zwakke zuren hebben dus in oplossing een depot, waaruit weggenomen waterstofionen grootendeels kunnen worden aangevuld.

E. d'Agostino¹⁾ heeft mathematisch afgeleid, welke dissociatie-constante zwakke zuren en basen zouden moeten hebben, opdat zij het grootste vermogen hebben eene reactie vast te leggen. Zal een stof, een zwak zuur of een zwakke base, de sterkst reguleerende werking voor een bepaald gebied van reactie, bijv. tusschen de grenzen $[H^+] = a$ en $[H^+] = b$, hebben, dan moet de dissociatie-constante gelijk zijn aan $\sqrt{ab}$. Gaat het er om, het neutrale punt zooveel mogelijk vast te leggen,

¹⁾ Arch. internation. de physiologie, Vol. XI, p. 38, (1911).

dan kunnen wij voor geringe wijzigingen in de buurt van het neutrale punt stellen $a = b$. K krijgt dan de waarde van de concentratie der waterstofionen van het neutrale punt zelf, dus ongeveer 10^{-7} . Van koolzuur en H_2PO_4 is de dissociatie-constante bij 38° resp. $4,2 \cdot 10^{-7}$ en $2,4 \cdot 10^{-7}$. Deze getallen liggen inderdaad dicht bij de waarde van het neutrale punt. Ook experimenteel is aangetoond, dat deze stoffen in 't bijzonder in de buurt van de neutrale reactie reguleerend werken.

Het is duidelijk, dat de zoogenaamde bufferstoffen van het bloed een reactieverandering slechts kunnen verlangzamen en naarmate het depot van „potentiële” H- en OH-ionen verbruikt wordt, wordt hunne werking zwakker. In het bloed moet dus nog op andere wijze dan met bufferstoffen een reactiestoornis, zooveel als het kan, onmogelijk gemaakt worden. Op twee wijzen geschiedt dit: door de afscheiding van reactie-storende stoffen en door de vorming van stoffen, die deze in het bloed zelf of in de weefsels neutraliseeren. Van dit laatste is een verhoogde hoeveelheid ammoniak in de urine een teeken. Bij acidosis, die bij diabetes mellitus herhaaldelijk wordt waargenomen, vinden wij, zooals bekend is, in de urine dikwijls een sterk verhoogd ammoniakgehalte. Ook in experimenten, zooals A. Begun, Herrman en Münzer ¹⁾ genomen hebben, waarbij zoutzuur per os gebruikt werd, steeg het ammoniakgehalte van de urine, terwijl de reactie van het bloed, beoordeeld naar de koolzuur-spanning der alveolaire lucht, niet veranderd was. Het zijn vooral de vleescheters, die door overvloedige productie van ammoniak

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 71, S. 255, (1916).

zuren onschadelijk kunnen maken; planteneters, wier voedsel rijk is aan organische zouten, die tot natrium- en kaliumhydrokarbonaat geoxydeerd worden, neutraliseeren zuren met dit alkali, dat echter slechts in beperkte hoeveelheid geleverd kan worden, waardoor zij slecht tegen zuurvergiftiging gewapend zijn. De grootste rol speelt echter de excretie van zuren; het vluchtige koolzuur ontwijkt langs de longen en andere, minder vluchtige zuren verlaten opgelost in de urine het lichaam. Weliswaar, de secretie van maag-, darm- en pancreas-sap is natuurlijk ook van invloed op de reactie van het bloed, zooals alle wisselwerkingen tusschen het bloed en de cellen van het lichaam, maar zooals gezegd, de belangrijkste excretie van zuren geschiedt wel door de ademhaling en de werking der nier. De ademhaling valt buiten het terrein van dit proefschrift; hier gaat het over de medewerking der nier om het evenwicht in het organisme van zuren en basen in stand te houden.

De nier blijkt binnen zekere grenzen haren arbeid volkomen te kunnen regelen naar de haar gestelde eischen. Door de groote schommelingen in de reactie van de urine is het mogelijk den aanvoer van zuren door afscheiding te compenseeren. Met eenzelfde volumen urine kan dus door eene gewijzigde reactie eene grootere of kleinere hoeveelheid zuur aan het lichaam worden onttrokken. Voor de kennis van het vermogen der nier, om de afscheiding in overeenstemming met den aanvoer van zuren in het bloed te doen plaats hebben, is dus het bepalen van de reactie van de urine in allerlei toestanden en de grenzen der veranderlijkheid van de reactie der urine van groot belang. De reactie van de urine nu is door verschillende onderzoekers op allerlei

wijze onderzocht. Labbé, Tison en Cavaroz ¹⁾ bepaalden de titratie-aciditeit met phenolphthaleïne als indicator; de getallen aanwijzend hoeveel c.M.³ $\frac{N.}{4}$

NaOH noodig is om telkens 10 c.M.³ urine te „neutraliseeren”, werden vereenigd tot eene aciditeitskurve. Het bleek, dat vóór den hooftmaaltijd maximale, enà minimale waarden gevonden werden. De afscheiding van zoutzuur in de maag is denkelijk de oorzaak van de lage waarden, want spoelen wij met eene sonde het zure maagsap weg, dan wordt de urine zelfs alkalisch.

De zure eigenschap van eene vloeistof hangt af van de actueele reactie of de concentratie der waterstofionen; de titratie geeft ons daarover geen inzicht, want bij het titreeren, waarbij men alkali toevoegt, wordt het aanvankelijk bestaande evenwicht voortdurend verschoven. De hoeveelheid gebruikt alkali is dus volstrekt niet een maat voor de aanvankelijk aanwezige hoeveelheid waterstofionen, maar zij hangt af van de hoeveelheid potentiëele waterstofionen en den aard van den indicator. Het is dus zeer wenschelijk, van de urine de concentratie der waterstofionen te kennen. Dan kunnen wij ook met behulp van de wet der massawerking het evenwicht van de daarin in oplossing zich bevindende zuren en basen bepalen, als wij de dissociatie-constante van elke stof kennen; bijv. kunnen wij dan uitmaken, hoeveel van het urinezuur in den vorm van zuur, hoeveel in den vorm van uraat aanwezig is. Voor de zuren, die beteekenis hebben voor de reactie van de urine, konden

¹⁾ Zie: Oppenheimers Handbuch der Biochemie, III. 1, (1910). L. Pincussohn, Physikalische Chemie des Harns.

L. J. Henderson en K. Spiro ¹⁾ de volgende dissociatie-constanten uit de fysisch-chemische literatuur bijeen brengen :

$$\text{hippuurzuur} \dots K = 2,22 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{melkzuur} \dots K = 1,38 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{oxaalzuur} \dots K = 1 \cdot 10^{-1}$$

$$\text{urinezuur} \dots K = 1,5 \cdot 10^{-6}$$

$$\text{H}_2 \text{ PO}_4 \dots K = 2 \cdot 10^{-7}$$

$$\text{H}_2 \text{ CO}_3 \dots K = 3 \cdot 10^{-7}$$

Van twee zuren, die onder pathologische omstandigheden in de urine voorkomen nml. β -oxyboterzuur en aceetazijnzuur hebben zij zelf deze constante bepaald :

$$\beta\text{-oxyboterzuur} \dots K = \pm 2 \cdot 10^{-5}$$

$$\text{acetazijnzuur} \dots K = \pm 1,5 \cdot 10^{-4}$$

Met behulp van deze getallen hebben zij kurven geconstrueerd, waarin voor een vijftal reacties, die ongeveer de reactie van normaal bloed, bloed bij acidosis, van normale urine, van sterk zure urine en van de allerzuurste urine moeten voorstellen, alle evenwichtsvoorwaarden zijn te vinden. In deze kurven geeft de ordinaat in percenten aan, hoeveel vrij zuur aanwezig is. Hieruit blijkt, dat bij zeer zure urine 99,5 % van de phosphaten als primair phosphaat aanwezig is, bij normale aciditeit ongeveer 94 %. In normaal bloed zou volgens deze graphische voorstelling van de phosphaten slechts 13 % als primair phosphaat aanwezig zijn, de rest, ongeveer 85 %, dus als secundair phosphaat. Bij de afscheiding houdt dus het lichaam bijna de helft van het alkali, dat met phosphorzuur verbonden is, terug. Ook urinezuur geeft het grootste gedeelte alkali, waaraan

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 15, S. 106, (1909).

het gebonden is, weer terug, als het met de urine het lichaam verlaat. Van de „diabetische zuren”, die als zouten in het bloed voorkomen, kan de nier globaal de helft van het alkali bij excretie terughouden. De aciditeit van de urine is dus een zeer werkzaam middel om het lichaam van de carnivoren voor alkaliverlies te beschermen.

Verschillende methoden om de concentraties der waterstofionen te meten, werden op de urine toegepast. H. Dreser ¹⁾ bestudeerde de „intensiteit van de hoeveelheid zuur” in de urine door salicylzuur of anijszuur er aan toe te voegen en dan met aether uit te schudden. De hoeveelheid salicylzuur of anijszuur, in den aether overgegaan, gebruikte hij als maatstaf voor de aciditeit. Dreser nam tot deze, zeker niet zeer juiste uitkomsten gevende, methode zijn toevlucht, omdat hij de urine niet met gaselectroden dorst te meten. Daar dit echter heel goed gaat, hebben zijn metingen thans geen groote waarde meer. L. J. Henderson ²⁾ bepaalde de veranderlijkheid van de $[H^+]$ in de urine door de kleur met de indicatoren neutraalrood en paranitrophenol verkregen, te vergelijken met bepaalde oplossingen van primair- en secundair-natriumphosphaat, waaraan dezelfde indicatoren waren toegevoegd. Hij zelf geeft aan, dat het omslagpunt van neutraalrood tusschen $[H^+] = 0,4 \cdot 10^{-7}$ en $[H^+] = 2 \cdot 10^{-7}$ ligt; bij zijn bepalingen werd de urine sterk met water verdund om door hare eigen kleur niet gestoord te worden. Voor de verandering door de verdunning bracht hij een ruwe correctie aan en vond als grenzen der actueele reacties $0,4 \cdot 10^{-7}$

¹⁾ Hofmeisters Beiträge, VI, S. 177, (1905).

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 24, S. 40, (1910).

en $40 \cdot 10^{-7}$, overeenkomend met fosphaat-oplossingen, waarin zich de moleculen primair- en secundair-phosfaat verhouden als resp. $\frac{1}{9}$ en $\frac{9}{1}$. Deze grenzen geven echter behalve door de weinig nauwkeurige methodiek een slecht beeld van de schommelingen der reacties. Immers het waren urinemonsters van 50 mensen, die ongeveer van denzelfden leeftijd op denzelfden voet leefden, namelijk studenten in de geneeskunde en bovendien werd steeds de urine van 12 uur des middags onderzocht.

Behalve de oudere onderzoekingen uit de jaren 1901 en 1903 van Höber en von Rhorer met concentratie-ketens beschikken wij over gegevens over de actueele reactie van de urine onder anderen van W. E. Ringer¹⁾ en K. A. Hasselbalch.²⁾ Ringer onderzocht urinemonsters van normale personen en van zieken; de meest uit elkaar loopende reacties waren $[H^+] = 0,29 \cdot 10^{-7}$ en $[H^+] = 112 \cdot 10^{-7}$. (Het laatste getal heeft betrekking op urine met sedimentum lateritium en is met het filtraat gevonden). Dit interval is aanzienlijk grooter dan dat door Henderson gevonden. Hasselbalch bestudeerde den invloed van het diëet op de $[H^+]$ van de urine en op de alveolaire koolzuurspanning. Zijne electrometrische reactie-bepalingen zijn zóó uitgevoerd, dat met de koolzuur-spanning van de urine rekening is gehouden. De volgende getallen, door hem gevonden, zullen duidelijk aantoonen, hoe de reactie van de urine van de samenstelling van het voedsel en dus ook van den aanvoer van zuren met

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 60, S. 341, (1909) en Onderzoekingen Physiol. Lab. Utrecht (V) X, blz. 109, (1909).

²⁾ Biochem. Zeitschrift., Bd. 46, S. 415, (1912).

het bloed afhankelijk is en hoe zelfs in verband met het opnemen van voedsel de reactie van de urine met de uren van den dag varieert. De reactie wordt opgegeven door den waterstofexponent $p_H (= -\log_{10} C_H)$.

Uren van den dag	8 (nacht- urine)	10.15 (1 ³ / ₄ uur na ontbijt)	11.45	2 (1 ¹ / ₂ uur na lunch)	3.30	4.45
plantaardig diëet: p_H	5,58	5,45	7,63	6,68	7,45	6,98
vleeschvoeding: p_H	5,28	5,01	4,88	4,99	5,12	5,19

Hasselbalch komt uit de uitkomsten van zijne metingen en die van von Skramlik tot het besluit, dat alle zelfs bij zieken ooit gevonden waarden voor de actueele reactie van de urine binnen het bereik zijner experimenteel door diëet-verandering te weeg gebrachte variaties vallen.

Nu vertoont ook het bloed geringe verschillen in de actueele reactie, afhankelijk van het voedsel. Hasselbalch vond namelijk bij zich zelf:

bij vleeschvoeding: koolzuur-spanning 38,9 mM.

$$p_H = 7,34 \text{ of } [H^+] = 0,46 \cdot 10^{-7}$$

bij plantaardig diëet: koolzuur-spanning 43,3 mM.

$$p_H = 7,36 \text{ of } [H^+] = 0,44 \cdot 10^{-7}$$

Voor dezelfde koolzuur-spanning van 40 mM. zou dat zijn:

bij vleeschvoeding: $p_H = 7,33$ of $[H^+] = 0,47 \cdot 10^{-7}$

bij plantaardig diëet $p_H = 7,42$ of $[H^+] = 0,38 \cdot 10^{-7}$

Het bloed is dus bij vleeschdiëet minder alkalisch dan bij het vegetarische; er bestaat dus een zekere graad van acidosis, maar door de veranderde koolzuur-spanning (38,9 en 43,3 mM.) blijft de actueele reactie

bijna onveranderd. Dit geschiedt door tusschenkomst van het ademcentrum. De waterstofionen werken als chemische reguleurs voor de ademhaling, het koolzuur heeft volgens de theorie van H. Winterstein ¹⁾ geen specifieke werking op het ademhalings-centrum. Bij onveranderde prikkelbaarheid van het adem-centrum wordt dus juist de concentratie der waterstofionen bijna constant gehouden.

Wij kunnen ons nu de vraag stellen of de zoo geringe veranderingen in de reactie van het bloed aanleiding geven tot de zeer groote verschillen in de actueele reactie van de urine. Dit zou heel goed mogelijk zijn, als wij bedenken, dat ook geringe wijzigingen in het gehalte van het bloed aan bijv. galkleurstoffen of aan suiker groote veranderingen in de concentraties dezer stoffen in de urine kunnen geven. Het kwam mij voor, dat het de moeite waard zou zijn, eens na te gaan, welk verband er bestaat tusschen de werkelijke reactie van de door de nieren stroomende vloeistof en van de afgescheiden urine en of werkelijk kleine wijzigingen in de reactie van de eerstgenoemde vloeistof gepaard kunnen gaan met groote wijzigingen in de reactie der urine. Dit verband is tot dusver nog niet stelselmatig bestudeerd. Willen wij nu proeven gaan nemen, om den invloed van wijzigingen van de actueele reactie van het bloed op de nierwerking te bestudeeren, dan is het wenschelijk de prikkelbaarheid van het adem-centrum te wijzigen of het geheel uit te schakelen, daar dit anders eene reactiewijziging door een iets veranderde samenstelling van het bloed zooveel mogelijk tracht te voor-

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 70, S. 45, (1915).

komen. Het eerste is door narkose mogelijk en dan zien wij ook wijzigingen van de reactie van het bloed. Als voorbeeld wil ik hier de getallen van H. Winterstein aanhalen, gevonden bij 8 konijnen in diepe chloralnarkose vóórdát iets bijzonders met de dieren geschied was.

Nummer van het konijn.	p _H	C _H	Opmerkingen :
1	7,136	$7,31 \cdot 10^{-8}$	ziek dier
2	7,352	$4,45 \cdot 10^{-8}$	
3	7,389	$4,08 \cdot 10^{-8}$	
4	7,386	$4,11 \cdot 10^{-8}$	
5	7,042	$9,08 \cdot 10^{-8}$	
6	7,199	$6,32 \cdot 10^{-8}$	
7	7,269	$5,38 \cdot 10^{-8}$	
8	7,152	$7,05 \cdot 10^{-8}$	

Deze getallen loopen onderling tamelijk sterk uit elkaar en verschillen aanmerkelijk met de reactie van het bloed van een konijn buiten narkose, waarvoor Winterstein in eene proef heeft gevonden $C_H = 2,10 \cdot 10^{-8}$. Een bezwaar van de narkose is, dat ingevolge veranderingen van de lichaamstemperatuur en diepte der narkose de prikkelbaarheid van het ademcentrum gedurende eenigen tijd niet voldoende constant kan worden gehouden, zoodat de reactie van het bloed naar beide zijden schommelingen vertoont. Voor mijn doel, de functioneele betrekking tusschen de actueele reactie van het bloed en die van de daarbij afgescheiden urine op te sporen, kon ik dus reactie-wijzigingen, door narkose verkregen, niet gebruiken, daar het begrijpelijker wijze noodig was,

de nieren eenigen tijd lang te doorstroomen met een vloeistof van praktisch standvastige reactie en samenstelling. Door infusie van zuur in de bloedvaten is dit zeker ook zeer moeilijk te bereiken; alleen een zwak zuur zou daarvoor in aanmerking kunnen komen, en wel zoo, dat het geleidelijk gedurende eenigen tijd in eene arterie of vena zou moeten stroomen en gedurende dien tijd zou zeer te vreezen zijn, dat de actueele reactie van het bloed niet standvastig kon worden gehouden. Om alle moeilijkheden zooveel mogelijk te vermijden heb ik bij mijn proeven eenvoudig het ademcentrum vernietigd door het proefdier te dooden en dan kunstmatig de nier met eene vloëistof van constante en bekende reactie te doorstroomen.

Door deze proeven zouden wij misschien een nader inzicht kunnen krijgen in de beteekenis van de werkelijke reactie der urine, die wij tegenwoordig op tamelijk eenvoudige wijze kunnen vaststellen. Tot dusverre weten wij daarvan nog niet veel af. Er bestaat geen duidelijk verband van den werkelijken „zuurgraad” met dien, gevonden door gewone titratie en bepaling van het ammoniakgehalte. Ook de beteekenis van een hoogen of lagen „zuurgraad”, gemeten door de concentratie der H-ionen in de urine, kunnen wij niet geheel overzien. Maar het is onmiddellijk duidelijk, dat voor het verkrijgen van een goed inzicht in deze vraagstukken een zeer uitgebreid onderzoek zou moeten worden verricht bij dieren en ook bij menschen. Waarom ik niet bij menschen onderzoekingen heb gedaan, zal uit het volgende duidelijk worden. De actueele reactie van het bloed van gezonden en zieken vertoont heel duidelijk goed meetbare verschillen. Met getallen van

L. Michaelis en W. Davidoff¹⁾ wil ik dit hier illustreeren. Ofschoon met de door hen gebruikte gas-electroden niet geheel betrouwbare uitkomsten te verkrijgen zijn, geven de volgende getallen toch zeker wel eenigszins een beeld van de voorkomende schommelingen. Het veneuze bloed werd met 0,85 % NaCl-oplossing verdund, wat met onverdund bloed volgens de schrijvers geen verschil zou opleveren, en met eenige korrels hirudine werd de stolling voorkomen.

pH van bloed van gezonde mensen in dubbelbepalingen:

7,57	7,61
7,62	7,67
7,54	7,56 (hysterie)
7,49	7,57
7,49	7,49
7,58	7,55

Eenige getallen van twijfelachtig gezonde mensen laat ik achterwege. De volgende tabel bevat hunne uitkomsten bij zieken:

Aard der ziekte.	pH in dubbelbepaling.	
Coma diabeticum.	7,11	7,13
Chron. loodvergiftiging	7,42	7,45
Anaemie	7,50	7,53
Insufficiëntia aortae, oedeem.	7,56	7,56
Nephritis chronica.	7,57	7,59
Icterus catarrhalis	7,57	7,57
Anaemie na bloeding.	7,57	7,62
Polyarthritis	7,57	7,64
Nephritis chronica.	7,59	7,61

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 46, S. 131, (1912).

Aard der ziekte.	p _H in dubbelbepaling.	
Arterioscl. nephritis	7,59	7,62
Phthisis, T. 40°	7,59	7,60
Purpura.	7,59	7,61
Carcinoma, T. 38°	7,59	7,62
Carcinoma	7,60	7,64
Erysipelas.	7,60	7,61
Coma uraemicum.	7,61	7,62
Loodvergiftiging	7,62	7,56
Nephritis chronica.	7,64	7,67
Morbus Basedowi	7,65	7,60
Arterioscl. nephritis	7,66	7,66
Diabetes zonder aceton	7,66	7,66
Jicht (?)	7,66	7,67
Anaemie (purpura).	7,66	7,69
{ Pneumonie T. 40°	7,71	7,74
{ Na crisis	7,69	7,69
Sepsis, phlegmonen T. 38,5°	7,71	7,71
Hemiplegia luet. (sopor)	7,73	7,73

Uit deze tabel blijkt, dat alleen bij het coma diabeticum de p_H van het bloed geheel uit het kader valt. Een pathologische verhooging van de C_H is ook volgens A. Loewy en C. Brahm ¹⁾ alleen hierbij gevonden. In deze tabel staan mensen naast elkaar met de meest uiteenlopende afwijkingen en het is wel zeker, dat hunne urine op het oogenblik, dat het bloed werd opgevangen zeer verschillende actueele reacties had. Men kan zelfs veronderstellen, dat bij zieken, waar de samenstelling van het bloed in sommige opzichten wijzigingen ondergaat, dit bloed, ook al bezat het zelfs dezelfde C_H, bij het stroomen door de nieren aanleiding kan geven tot urine van verschillende actueele reacties. Uit mijne proeven is de mogelijkheid daarvan duidelijk gebleken. De vergelijking van de uitkomsten van gelijk-

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 79, S. 244, (1917).

tijdige reactiebepalingen van bloed en urine bij verschillende mensen zou nog deze moeilijkheid opleveren; dat de verschillen tusschen de actueele reacties van het bloed van verschillende mensen grooter zijn dan de reactiewisselingen van hetzelfde individu onder verschillende toestanden, althans volgens Hasselbalch zijn de grootste verschillen bij eenzelfde individu, door andere voeding of luchtverduunning in een pneumatische kamer ¹⁾ te weeg gebracht, twee honderdste van pH . In alle geval zou het onderzoek bij mensen zeer moeilijk zijn, ook al omdat men dan op veneus bloed is aangewezen, dat in reactie verschilt met het arteriële, dat door de nier stroomt, en de berekening van de actueele reactie van arteriëel bloed uit de bepaling van het veneuze voor mijn doel niet nauwkeurig genoeg geacht kan worden te zijn. Een en ander was voor mij een reden, geen menschelijk materiaal te onderzoeken.

Winterstein, wien het te doen was om de beteekenis der waterstofionen voor de ademhaling, nam zijne eerste proeven met pasgeboren konijnen, die van de aorta uit met eene aangezuurde vloeistof van Ringer doorspoeld werden. Bij mijne doorstroomingsproeven met nieren gebruikte ik lagere dieren, die wellicht minder gevoelig, eene overlevingsproef beter zouden doorstaan, want ook ik wilde doorstromen met eene physiologische zoutoplossing. Een voordeel hiervan was, dat de samenstelling van de doorstroomings-vloeistof door de bereiding bekend was en aan de reactie elke gewenschte waarde kon gegeven worden. Bij de keuze van de reactie van de doorstroomings-vloeistof waagde ik mij ver buiten de physiologische grenzen van de C_H van

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 68, S. 265, (1915).

het bloed, om zoo nog duidelijker den invloed van wijzigingen van de reactie van de doorstroomings-vloeistof op de reactie van de urine in het licht te stellen. Bij deze wijze van werken en natuurlijk zeer voorzichtige beoordeeling der uitkomsten kon ik door interpolatie den invloed binnen de physiologische grenzen, naar ik meende nog beter overzien.

Achteraf bleken deze overdreven grenzen der reactie der doorstroomings-vloeistof zelfs zeer gewenscht; de uitkomsten van de genomen proeven liepen nog al uit elkaar, zoodat eene beoordeeling door de breed gekozen grenzen beter mogelijk is geworden.

De lagere dieren, die ik voor mijne doorstroomingsproeven gebruikte, waren kikvorschen. Door de onderzoekingen van Hamburger en Brinkman ¹⁾ is namelijk bij deze dieren vastgesteld, dat bij eene doelmatige samenstelling van de doorstroomings-vloeistof, in de urine geen glucose is aan te toonen, m. a. w. bij deze experimenten bleef de vitale eigenschap der nier om suiker tegen te houden, bewaard. Dit gaf mij de hoop, de nier van eenen kikvorsch zonder al te groote beschadiging te kunnen onderwerpen aan eene toch onphysiologische doorstrooming met een „physiologische” vloeistof. Om mij eenigszins een oordeel over de al dan niet normale werking der nier bij mijne proeven te kunnen vormen, voegde ik aan de doorstroomings-vloeistof behalve glucose, nog een andere stof toe, die in normale omstandigheden wordt afgescheiden, en wel ureum. Met micromethoden, die in dit proefschrift (blz. 49) beschreven zijn, heb ik nu en dan het gehalte

¹⁾ Kon. Akad. van Wetenschappen XXV, Deel 2 en XXVI Deel 1 en Biochem. Zeitschr., Bd. 88, S. 97, (1918).

aan deze beide stoffen in de urine onderzocht. De tegenstelling „volledige” impermeabiliteit voor glucose en volledige permeabiliteit, althans geen retentie, voor ureum, heb ik als een teeken voor eenen normalen toestand beschouwd.

De keuze van proefdier was aanleiding, dat ik de mij aanvankelijk gestelde taak, den samenhang tusschen de reactie van bloed en urine te bestudeeren, niet vervuld heb. De bij kikvorschen gescheiden vascularisatie van glomeruli en tubuli maakt het mogelijk de werking van elk onderdeel afzonderlijk na te gaan. Bij mijne proeven heb ik uitsluitend langs arteriëelen weg de nier doorstroomd en in overeenstemming met de opvatting van Hamburger wil ik ook de bij mijn doorstroomings-proeven verkregen urine als een glomerulus-product beschouwen. Mijn onderzoek heeft dus eigenlijk alleen betrekking op de vraag, naar het verband tusschen reactie der doorstroomings-vloeistof en van de door de glomeruli afgescheiden urine. Dat de verkregen urine in het algemeen van reactie verschildte met de doorstroomings-vloeistof, bleek reeds door het onderzoek met neutraalrood als indicator bij de proeven van Hamburger en Brinkman. Door het langs electrometrischen weg bepalen van de concentratie der waterstofionen van doorstroomings-vloeistof en van de daarmee verkregen urine en door deze waarden te vergelijken heb ik getracht de werking der nieren in dit opzicht nader te onderzoeken. In het eerste hoofdstuk heb ik de gebruikte methodiek beschreven, in het tweede (blz. 62) de genomen proeven met een korte beschouwing der door mij verkregen uitkomsten.

HOOFDSTUK I.

OVER DE WIJZE VAN EXPERIMENTEEREN EN DE DAARBIJ GEBRUIKTE METHODEN VAN ONDERZOEK.

Doorstromings-
vloeistof.

Om op althans zooveel mogelijk physiologische wijze de reactie van de doorstromings-vloeistof te varieeren, werd dit gedaan met mengsels van karbonaten en koolzuur en met mengsels van primair- en secundair-natriumphosphaat; als bufferstoffen, die in bloed een voorname plaats innemen, zijn karbonaten en phosphaten immers in de inleiding reeds besproken. Ik nam nu twee reeksen van proeven, waarvoor met behulp van deze stoffen isotonische zoutoplossingen werden bereid. Bij de bereiding gebruikte ik steeds dezelfde zuivere praeparaten; het keukenzout was in ons laboratorium zelf zorgvuldig gezuiverd. Voor het toevoegen van het calciumchloride gebruikte ik een 0,6045 moleculaire oplossing van Kahlbaum's praeparaat „pro analysi mit Garantieschein”, de overige bestanddeelen werden afgewogen in substantie; het kaliumchloride (Merck) op de analytische balans en ook de glucose puriss. en het ureum puriss., althans wanneer het gehalte aan deze stoffen toch niet later nog nauwkeurig werd vastgesteld.

De glomerulus is zeer gevoelig voor zuurstofgebrek ¹⁾; de doorstromings-vloeistof moet dus rijk aan zuurstof

¹⁾ Zie R. Magnus, Oppenheimers Handb. der Biochemie, III 1, S. 535, (1910).

zijn. Hamburger bereikt dit door zuurstof voortdurend er door te laten parelen. Met het oog op mijne eerste proefreeks, waar de reactie van de doorstrooingsvloeistof van het opgeloste koolzuur afhankelijk was, kon ik dit niet doen, daar een zuurstofstroom het opgeloste koolzuur zou meeslepen en zoo telkens de reactie van de doorstrooings-vloeistof zou veranderen. Voor mijn doel moest de reactie gedurende een proef constant en bekend zijn; daarom moest ook de koolzuurspanning constant blijven.

Om nu een doorstrooingsvloeistof te hebben, die met zuurstof verzadigd is, ging ik als volgt te werk. In eene getubuleerde flesch van 2 L., die als reservoir voor de doorstrooings-vloeistof gedurende een proef diende, bracht ik de zoutoplossing. Van te voren was zuurstof uit een bom door de flesch geleid. Met een gummistop met twee gaten werd de flesch gesloten; door het eene gat ging een capillaire buis met kraan voor de toe- en afvoer van gassen en in het andere stak een tamelijk dikke glazen staaf, wier beteekenis later zal blijken. Door de flesch nu te schudden, werd de zuurstof opgelost en telkens de gasruimte langs de capillaire buis met zuurstof of koolzuur aangevuld. Door flink te schudden ontstaat ten slotte evenwicht tusschen de gaspanningen van de vloeistof en de ruimte daarboven in de flesch. De koolzuurspanning werd nu gemeten. In eenen gashouder, dien ik den vorm gaf van een gasburet, werd een mengsel van zuurstof en koolzuur van de bepaalde koolzuurspanning gebracht en daaruit werd gedurende een doorstrooming telkens de door de weggevoeren oplossing ontstane ruimte in de flesch aangevuld. Zoo veranderde het koolzuurgehalte van het gasmengsel

boven de doorstroomings-vloeistof niet en derhalve ook niet de koolzuurspanning van de doorstroomings-vloeistof, die daarmee immers in evenwicht was.

Micro-gasana- Voor het bepalen der koolzuurspanning gebruikte ik
lyse volgens de micro-gasanalyse volgens August Krogh¹⁾. De
Krogh. gewone gasanalyse wordt namelijk bij hoeveelheden onder de 10 cM.³ steeds moeilijker en minder nauwkeurig. Voor het bepalen van de koolzuurspanning van de doorstroomings-vloeistof had ik wel een grootere hoeveelheid gas kunnen gebruiken en de gewone gasanalyse kunnen toepassen; voor het bepalen van de koolzuurspanning van de verkregen urine was ik echter op een micromethode aangewezen en ik koos, zooals gezegd, die van Krogh. Zijn toestel gebruikte ik zelfs steeds, ook voor de doorstroomings-vloeistof, daar de nauwkeurigheid ervan voldoende bleek te zijn en het toestel handig in het gebruik was. Bij deze micro-gasanalyse wordt een bel van het te onderzoeken gasmengsel in eene capillaire buis gebracht en de lengte ervan gemeten. Deze gasbel wordt dan in aanraking gebracht met eene absorptievloeistof, voor koolzuur bijv. loog en dan weer terug gezogen in de capillaire buis en de veranderde lengte vastgesteld. Het verschil in lengte is door absorptie tot stand gekomen en daaruit laat zich gemakkelijk het volumenpercentage of de spanning berekenen.

De capillaire buis van het toestel (fig. 1) heeft een lumen van ongeveer 0,25 mM. diameter en eene lengte van ongeveer 19 cM. met eene verdeeling tot op milli-

¹⁾ Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, VIII, S. 495, (1915).

meters; onderdeelen hiervan moeten geschat worden. Aan den onderkant loopt de capillaire buis uit in eene cylindervormige verwijding, trechter 1, die ongeveer 0,4 cM.³ water kan bevatten; ook aan den bovenkant vormt een trechtertje het uiteinde, dat alleen voor de

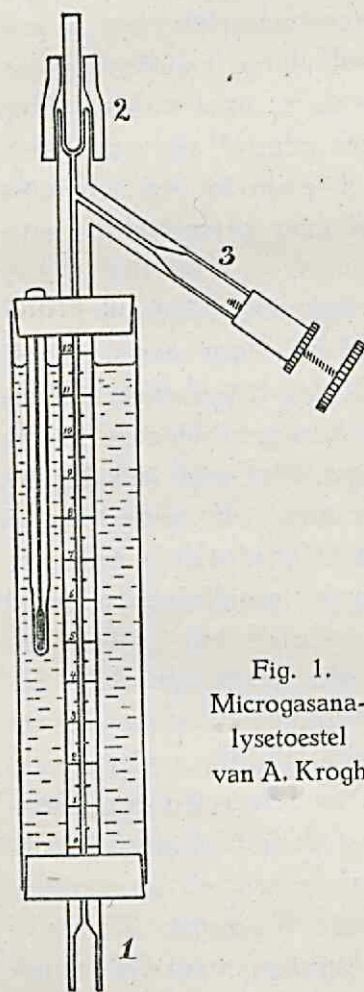


Fig. 1.
Microgasana-
lysetoestel
van A. Krogh.

schoonmaak dient en overigens goed gesloten wordt. Over trechter 3, waarin de zijbuis uitloopt, is goed sluitend een metalen huls met eene schroef geschoven. Door daaraan te draaien kan men de vloeistof, waarmee alle lumina gevuld zijn, bewegen en daarmee een luchtbel uit 1 in de capillaire buis opzuigen. Dat gedeelte der capillair, waarin de lengte van de gasbel wordt gemeten, is in een glazen cylinder ingesloten en de tusschenruimte met water gevuld. Door dit water met eene groote luchtbel te bewegen wordt voor eene gelijke temperatuur gezorgd, die op een thermometer in genoemde tusschenruimte wordt afgelezen.

Met zeer kleine hoeveelheden gas kan men met dit toestel een gasanalyse doen: een bel van 5,2 mM³. inhoud is in de capillaire

buis ongeveer 10 cM. lang, wat een behoorlijke lengte is om nauwkeurig te kunnen werken. Het geheele toestel wordt voor eene bepaling met water gevuld; om zeker te zijn, dat geen spoor alkali aanwezig was, nam ik dikwijls iets aangezuurd water. Luchtbellen mogen niet achterblijven, deze beletten namelijk het juiste instellen der gasbel, die men wil meten en die daartoe de beweging der schroef gehoorzaam moet volgen. Het toestel wordt geklemd aan een statief en voor een gasanalyse staat het trechttertje 1 even in een schaalte met water. Bij het indompelen mag geen luchtbelletje in 1 komen.

Het gasmengsel boven de doorstroombings-vloeistof in de getubuleerde flesch werd nu voor een analyse als volgt in het toestel van Krogh gebracht. Aan de capillaire buis in de stop van de getubuleerde flesch wordt een kort buisje bevestigd, dat met een kleine capillaire haak is voorzien, bestemd om onder water in trechter 1 gehaakt te worden. Voordat dit geschiedt, wordt de glazen staaf in de stop der getubuleerde flesch half erin gedrukt; daardoor worden de buisjes tot den haak met het gasmengsel uit de flesch gevuld. Nu wordt het haakje in trechter 1 gevoerd en de glazen staaf langzaam geheel in de flesch gedrukt. Ongeveer 7 cM.³ gas stroomt door het trechttertje en een klein gedeelte wordt gedurende deze doorstroombing in de capillaire buis opgezogen. Bij deze wijze van werken speelt de absorptie door het water geen rol. Krogh raadt weliswaar aan, bij het bepalen van koolzuurspanningen het gas boven glycerine op te vangen; de betrekkelijk groote hoeveelheid gas, waarover ik té beschikken had, veroorloofde mij op de beschreven

wijze te werk te gaan. Was de bel tot ongeveer de streep 8,0 opgeschroefd, dan werd het toestel omgedraaid, trechter 1 met water gevuld en weer teruggedraaid. Het ondereinde der bel werd op het nulpunt ingesteld en de lengte ervan en de temperatuur nauwkeurig genoteerd. Het water uit trechter 1 en uit de capillair onder de luchtbel werd nu zoo volledig mogelijk verwijderd; daartoe wordt de luchtbel in de capillair vlak bij den trechter gebracht, die nu met sterke loog gevuld wordt. De luchtbel wordt dan naar beneden in de loog geschroefd, maar een klein eindje laat men in de capillair. Door eventjes heen en weer te schroeven bereikt men, dat in $1\frac{1}{2}$ minuut al het koolzuur geabsorbeerd is. De bel wordt nu weer in de capillair gezogen; de loog zou volgens het voorschrift van Krogh door water moeten worden vervangen en daarna het ondereinde der bel weer op het nulpunt ingesteld moeten worden. Ik zag er evenwel geen bezwaar in, de loog in het ondereinde der capillair op te zuigen bij het meten der lengte van de luchtbel na de koolzuurabsorptie.

Om de bruikbaarheid en de nauwkeurigheid van de methode na te gaan, nam ik een reeks voorbereidende proeven, waarbij ik gasmengsels van bekende samenstelling onderzocht. In eene groote gasburet, waarvan de bol 350 c.M.³ en de buis met de verdeeling 50 c.M.³ groot was, bracht ik in overeenstemming met wat ik later bij mijne onderzoekingen noodig zou hebben, mengsels van zuurstof en koolzuur en wel zuurstof uit een cylinder, door de Maatschappij *Oxygenium* te Schiedam gevuld en koolzuur uit een Kipp-toestel. Zoo had ik een hoeveelheid gas van dezelfde samen-

stelling, voldoende voor een groot aantal proeven, wier uitkomsten hier vermeld staan.

Gasmengsel I: 380 cM.³ O₂ en 21 cM.³ CO₂.

Als absorptievloeistof wordt 10% natronloog gebruikt. Bij de eerste 4 bepalingen wordt de gasbel nog in overeenstemming met de opgave van Krogh boven glycerine opgevangen. Trechter 1 staat in een schaalteje met glycerine, waarmee ook de trechter zelf gevuld is op een klein kegeltje water na bij den ingang van de capillair. Met een fijn uitgetrokken glazen buisje wordt een gasbel in 1 gebracht; langzaam stijgt deze op. Een gedeelte hiervan wordt in de capillair opgezogen. Het toestel wordt omgekeerd, de bel breekt af, de glycerine wordt door water vervangen en het toestel wordt weer in den oorspronkelijken stand teruggebracht; nu wordt de lengte der bel gemeten:

Analyse-nummer.	Temperatuur (Celsius).	Lengte bel (cM.)	Koolzuurgehalte.
1	19,3 ⁰	12,66	
	na absorptie 19,2 ⁰	12,12	0,54
		0,54	0,1266 = 4,3 %
	na 2 ^e absorptie 18,0 ⁰ (1/2 uur later) gecorrigeerd op 19,2 ⁰	12,00 12,05	en 0,61 0,1266 = 4,8 %
2	17,8 ⁰	12,69	
	na absorptie 19,3 ⁰	12,12	
	gecorrigeerd op 17,8 ⁰	12,05 0,64	0,64 0,1269 = 5,0 %

Analyse-nummer.	Temperatuur. (Celsius).	Lengte bel (cM.)	Koolzuurgehalte.
3	26,0°	12,18	$\frac{0,89}{0,1218} = 7,3 \text{ ‰}$
	na absorptie 25,0°	{ 11,25	
	gecorrigeerd op 26,0°		
		$\frac{11,29}{0,89}$	
4	26,5°	12,28	$\frac{0,55}{0,1228} = 4,5 \text{ ‰}$ en $\frac{0,76}{0,1228} = 6,2 \text{ ‰}$
	na absorptie 25,0°	{ 11,68	
	gecorrigeerd op 26,5°		
		$\frac{11,73}{0,55}$	
	na 2° absorptie 20,0°	{ 11,25	
	gecorrigeerd op 26,5°		
		11,52	

Deze uitkomsten loopen te zeer uit elkaar. Uit 1 en 4 blijkt, dat na een 2° absorptie het volumen weer kleiner is geworden. Dit is ook wel te verwachten; het zuurstofgehalte van het gebruikte gasmengsel wijkt te zeer af van dat der atmosfeer, waarmee de verdunde loog in evenwicht is. Door het contact tusschen gasbel en loog gedurende $\frac{1}{2}$ minuut wordt wel alle koolzuur van de bel door de loog gebonden; het evenwicht tusschen de zuurstofspanningen is evenwel zeker nog niet tot stand gekomen. Het volumenverlies als de gasbel een 2° keer met de loog in aanraking komt, is gemakkelijk te verklaren door aan te nemen, dat weer zuurstof in de loog is opgelost.

Ook voor de glycerine geldt deze redeneering. Voor uitademingslucht geeft Krogh zeer goede resultaten op, als hij de bel boven glycerine opvangt. De zuurstofspanning van de uitademingslucht wijkt ongetwijfeld niet

zoozeer van die van de glycerine af als bij mijn proeven, waarbij ik gasmengsels moest analyseeren met een zuurstofgehalte van ongeveer 90 pct. Terwijl de bel in trechter 1 in aanraking is met glycerine, kan zuurstof uit de bel in de glycerine opgelost worden, waardoor een volumenvermindering ontstaat, waardoor het koolzuurgehalte zou stijgen. Bij de volgende 6 proeven worden de fouten, afhankelijk van de glycerine, geëlimineerd door weer eenzelfde groote hoeveelheid gas, zooals ik boven zeide ongeveer 7 c.M.³, in plaats van boven glycerine, boven aangezuurd water door trechter 1 te leiden; de uitkomsten zijn: 5,4%, 5,2%, 4,8%, 4,8%, 5,7% en 5,3%.

Het blijkt, dat tusschen het opvangen van een bel boven glycerine en de door mij toegepaste wijze feitelijk geen verschil bestaat wat betreft de nauwkeurigheid der uitkomsten. Het oplossen van zuurstof in glycerine speelt dus praktisch geen rol. De resultaten zijn echter niet bevredigend. Daar het gasmengsel verbruikt is, bereid ik een nieuw:

Gasmengsel II: 379 cM.³ O₂ en 22 cM.³ CO₂.

Volgens bereiding bevat het dus 5,5% CO₂. Bij de eerste 3 proeven wordt als absorptievloeistof 10% loog gebruikt. De uitkomsten zijn: 5,8%, 5,8% en 5,9%; de overeenstemming is goed, maar de absolute waarde schijnt te hoog. Ter controle wordt nu een bepaling gedaan met de gewone gasanalyse, waarbij sterke loog van ongeveer 30% als absorptievloeistof wordt gebruikt. Eerst wordt de oplosbaarheid van zuurstof in deze loog nagegaan. Een kleine gasburet met een fijne verdeling wordt verbonden met een gaspipet van Hempel, gevuld met de sterke loog. In deze gasburet wordt zuurstof gebracht, die bij 15,0° en atmosferischen druk een

volumen van $8,62 \text{ cM.}^3$ inneemt. 5 Minuten lang wordt zij in de pipet met de loog overgebracht, terwijl de pipet voortdurend geschud wordt. Nu wordt een volumen van $8,61 \text{ cM.}^3$ bij $t = 15,8^\circ$ afgelezen, overeenkomend met $8,59 \text{ cM.}^3$ bij $15,0^\circ$. Gedurende dien tijd was dus $0,03 \text{ cM.}^3 \text{ O}_2$ door absorptie verdwenen of $0,03\%$ van het volumen. Deze absorptie is dus van zeer weinig beteekenis. Het gasmengsel wordt nu op dezelfde wijze onderzocht:

Temperatuur :	Volumen (cM.^3)	Koolzuurgehalte.
16,0°	8,967	
na absorptie 16,5°	8,490	$\frac{0,492}{0,08967} = 5,49\%$
gecorrigeerd op 16,0°		
	8,475	
	0,492	

Neem ik nog de oplosbaarheid van zuurstof in aanmerking, dan vind ik voor het koolzuurgehalte van gasmengsel II $5,46\%$. Met het toestel van Krogh doe ik nu 4 analyses, echter met de sterke loog als absorptievloeistof. De uitkomsten zijn: $5,3\%$, $5,6\%$, $5,3\%$ en $5,3\%$.

Voor mijn doel achtte ik deze uitkomsten voldoende nauwkeurig en op de beschreven wijze heb ik dan ook steeds de koolzuurspanning van de doorstroomingsvloeistof bepaald.

Het doorstroo- De doorstroomings-vloeistof moest nu door de nieren
men der nieren. van den kikvorsch geleid worden. Daarbij moest dan

gezorgd worden, dat geen storende invloeden de beoordeeling van de uitkomsten zouden bemoeilijken, zoodat de invloed van de reactie zooveel mogelijk voor den dag zou komen. Ik gebruikte daarom steeds exemplaren van *rana esculenta*, terwijl de proeven ongeveer in hetzelfde jaargetijde genomen zijn. De druk, waaronder de doorstrooming geschiedde en de temperatuur bij de verschillende proeven mochten niet te sterk variëeren. De doorstroomings-vloeistof in de getubuleerde flesch, die van den atmospherischen druk was afgesloten, kon niet *zonder meer* door een buis in het vaatstelsel van den kikvorsch geleid worden. Zooals ik boven zeide, werd gedurende de doorstrooming het gas in de flesch telkens aangevuld uit een gasburet, waarin gas van de juiste samenstelling. Om nu te zorgen, dat de druk op de gewenschte hoogte werd gehouden, was aan de afvoerbuis van de flesch een rechtopstaande open zijbuis bevestigd, die als manometer dienst deed. De hoogte tusschen den kikvorsch en den meniscus daarin gaf nu den doorstroomingsdruk aan, die telkens gedurende een proef tusschen 25—40 cM. wisselde. Immers de meniscus in de manometerbuis daalt voortdurend, daar de aanvoer uit de gesloten flesch geen gelijken tred kan houden met het wegvloeien van de doorstroomings-vloeistof. Door telkens de kraan van den gashouder even open te draaien, waarmee de flesch verbonden is, werd de manometerbuis weer gevuld. Hoewel ik aan eenen constanten hydrostatischen druk de voorkeur zou gegeven hebben, had ik geen bezwaar tegen deze drukschommelingen, die ik alleen met ingewikkelde instrumenten had kunnen vermijden, daar alle proeven ze gemeen hebben. Voor het kiezen van deze hoogte waren mij

de getallen, die G. F. Nicolaï¹⁾ voor den bloedsdruk van amphibiën (*rana esculenta*) opgeeft, tot richtsnoer:

4,0 — 6,0	} cM. kwik volgens	Schulz
4,1 — 5,2		Hofmeister
2,9 — 4,2		Klug

In verband met de veel geringere viscositeit van de physiologische zoutoplossing dan van bloed, wilde ik de laagste waarde niet overschrijden. Bij eenen hoogen druk dan 40 cM. water zwellen in het experiment dan ook de arteriën van den kikvorsch onnatuurlijk sterk op. Een hooge druk is voor de diurese ook geenszins noodig; in eene oriënteerende proef leverde mij eens bijv. bij eenen constanten druk van 25 cM. water de nier van eene zijde ongeveer 0,3 cM.³ urine gedurende één uur.

De doorstromings-druk wordt echter niet alleen door de genoemde hoogte bepaald. Door eene injectienaald vloeit de doorstromings-vloeistof in een der aortae van den kikvorsch. Het kaliber van deze naald is, zooals men gemakkelijk in ziet, van het grootste belang voor de dynamica der doorstroming. In het begin gebruikte ik eens eene heel fijne injectienaald, die in de aorta communis was gestoken; ik kreeg geen urine, ook de vaatteekening op de testikels was behouden, hoewel ik eenen druk van 60 cM. water noteerde. Het was geen wonder, dat deze doorstroming mislukte, want het bleek, dat bij dezen druk in 15 minuten 3,5 cM.³ vloeistof vloeide in een maatglaasje, waarin ik de naald hield. In het vervolg heb ik dan ook een dikkere injectienaald gebruikt, waarvan het lumen meer in overeen-

¹⁾ Zie: Nagels Handbuch der Physiologie I, S. 773, (1909).

stemming was met dat van de aorta. Het kaliber hiervan wil ik aanduiden door de hoeveelheid vloeistof, die door de naald in één uur vloeide: 480 cM.³ bij eenen druk van 25 cM. water en ongeveer 660 cM.³ bij 40 cM. druk.

Om alle proeven zooveel mogelijk bij dezelfde temperatuur te nemen, werkte ik in een vertrek bij de gewone kamertemperatuur en voor een nauwkeurige instelling op 18°, die als de normale temperatuur gekozen werd, leidde ik de doorstromings-vloeistof door eenen koeler, die tusschen mijn manometer en de injectienaald in de aorta was ingeschakeld en nu als verwarmers dienst deed, doordat door den mantel water van 18° stroomde, dat in een thermostaat op temperatuur werd gebracht. Dit verwarmingswater stroomde uit den mantel van den koeler door een plat metalen doosje, waarop de kikvorsch kwam te liggen. Gedurende een proef werd steeds de temperatuur van den kikvorsch op de „verwarmbare operatietafel” gecontroleerd. Bij deze wijze van werken was het mogelijk grootere schommelingen dan 1° gedurende een proef te vermijden.

Om de injectienaald in de aorta te kunnen invoeren, werd de kikvorsch als volgt geprepareerd. Met het blad van een schaar door den mond werd de kop afgeknipt en het ruggemerg met eene naald vernield. Het dier, van te voren op temperatuur gebracht, werd nu met zijn rug gelegd op het verwarmbare doosje. De huid werd aan de buikzijde in de mediaanlijn geheel opengesneden en naar links en rechts weggenomen. De spieren werden doorkliefd, het borstbeen verwijderd en de buikwand weggesneden om de ureteren van terzijde goed te kunnen bereiken. Met een pincet greep en

klemde ik den darm dicht, vlak boven de omslagplooï van het peritoneum op de blaas, sneed den darm door en verwijderde alle ingewanden in eens, door achter het darmkanaal tot den hals het mesenterium door te knippen. Het urogenitaalstelsel bleef over en de beide aortae lagen thans goed bereikbaar. In de aorta dextra schoof ik de injectienaald en fixeerde haar door onder haar op de wervelkolom een kurkenplaatje te leggen, waartegen een veerende breinaald de injectienaald vasthield. De aorta sinistra werd met een klemmetje gesloten om geen doorstroomings-vloeistof te laten ontsnappen; in sommige gevallen ook de arteria intestinalis communis, als het mij voorkwam, dat daarlangs te veel vocht wegliep.

Het opvangen
van de urine.

Het opvangen van de „urine” geschiedde steeds met bijzondere voorzorgen; door aanraking met de lucht mocht de koolzuurspanning van de urine, die in vele proeven niet verwaarloosd mocht worden, niet gewijzigd worden, wilde ik de oorspronkelijke actueele reactie van de urine leeren kennen. Om dat te voorkomen werd de urine achter eenen kwikdruppel in een tamelijk nauw glazen buisje opgezogen. De druk, waaronder de urine werd afgescheiden, was natuurlijk niet in staat den kwikdruppel, dien ik om goed af te sluiten, in het buisje een lengte gaf van 3—4 cM., voort te duwen. Om de beweeglijkheid van den kwikdruppel te vergemakkelijken, werd het buisje met eene slang aan een zuigapparaat verbonden, bestaande uit 2 flesschen met water door eenen hevel vereenigd. Het niveauverschil daarin van ongeveer 8 cM. was de zuigkracht, waarmee de kwikdruppel werd voortbewogen, als het buisje nagenoeg

horizontaal werd gehouden. Het einde van het buisje, dat in den ureter werd ingevoerd, was tot een capillair uitgetrokken en rechthoekig omgebogen. Bij het begin van de proef moest dit gedeelte geheel met kwik gevuld zijn, waardoor geen luchtbel tusschen kwik en urine het koolzuurgehalte kon wijzigen. Om het kwik daar bij het invoeren in den ureter op zijn plaats te houden, was op den overgang tusschen het capillaire en het wijdere gedeelte een kraantje aangebracht; draaide men dit door het kwik heen dicht, dan bleef het kwik onbeweeglijk.

Al dadelijk bleek mij, dat alleen de manlijke exemplaren van den kikvorsch bruikbaar waren. De gang van Wolff, die als ureter dienst doet, is geschikt voor het invoeren van het beschreven buisje. Met een pincet werd de ureter dicht bij de blaas gegrepen, met eene schaar aangesneden en de capillaire haak een eindweegs ingevoerd, die daarvoor schuin tot een punt was afgeslepen. Daar dit einde betrekkelijk wijd was, sloot de elasticiteit van den ureter het voldoende af. Links en rechts van den kikvorsch stond een statief, waaraan de beide buisjes onbeweeglijk werden vastgeklemd. Als nu de kraantjes opengedraaid werden, kon de urine worden opgevangen; soms moest even tegen het buisje getikt worden om de beweging van den kwikdruppel aan den gang te krijgen.

Gewoonlijk werden op deze wijze de nieren één uur lang doorstroomd. In dien tijd kreeg ik aan elke zijde ongeveer gemiddeld $0,5 \text{ cM.}^3$ urine, bij sommige proeven wel $0,8 \text{ cM.}^3$, in andere gevallen veel minder, waardoor ik genoodzaakt werd den tijd van de proef te verlengen. Dit was afhankelijk van den aard der doorstroomings-vloeistof en den toestand van den kik-

Het bepalen van
de koolzuur-
spanning van
de urine.

vorsch. Gewoonlijk gebruikte ik de urine van de eene zijde voor het bepalen der koolzuurspanning, die bekend moest zijn voor de bepaling langs electrometrischen weg van de reactie van de urine, waarvoor ik dan de urine van de andere zijde gebruikte. De noodzakelijkheid, om de koolzuurspanning van de urine voor dit doel te kennen, zal later blijken.

Dat het theoretisch mogelijk is, met 1 cM.³ vloeistof een bepaling van de koolzuurspanning uit te voeren, licht Krogh zelf met een voorbeeld toe, maar zelfs 0,2 cM.³ is voldoende, hoewel ik gewoonlijk met meer vloeistof werkte. Het volgende voorbeeld zal dit duidelijk maken: in 0,2 cM.³ water is ongeveer 10 mM.³ koolzuur bij eenen partiëlen druk van het koolzuur van 37 mM. kwik of 5 volumenpercent opgelost. Een koolzuurvrije gasbel van eenen inhoud van 5 mM.³ groot genoeg voor een analyse, heeft om daarmee in evenwicht te komen $\frac{5}{100} \cdot 5 = 0,25$ mM.³ CO₂ noodig.

De vloeistof wordt dus bij het tot stand komen van het evenwicht armer aan koolzuur, de koolzuurspanning wordt dus iets lager, zoodat niet geheel 0,25 mM.³ uit de vloeistof in de gasbel overgaat en iets meer dan $10 - 0,25 = 9,75$ mM.³ CO₂ opgelost blijven. De koolzuurspanning van de vloeistof zou daardoor van 37 mM. kwik op 36,1 mM. kwik zinken. Dit is een verschil in koolzuurspanning van 0,1 % en valt binnen de grenzen der fouten van de methode.

Voor de meting van de koolzuurspanning der urine heb ik trechter 1 van het toestel van Krogh in een schaalte met kwik gedompeld, terwijl ook de trechter met kwik gevuld is. In de capillair was een luchtbel

opgezogen, die aan hare benedenzijde onmiddellijk aan het kwik grensde. Het buisje, waarin de urine was opgezogen, werd met het capillaire uiteinde, dat in den ureter lag, in trechter 1 gebracht en het kraantje geopend. Door den druk van den afsluitenden kwikdruppel kon nu het buisje geleidigd worden en boven kwik in trechter 1 de urine worden opgevangen, waardoor koolzuurverlies was uitgesloten. Ik zorgde, dat het kwik binnen en buiten den trechter ongeveer even hoog stond. Een fout hierin is van geen beteekenis, volgens Krogh blijft de partiële druk van het koolzuur dezelfde ook bij verschillen in den algeheelen druk, althans spelen afwijkingen in de totale spanning tot 100 mM. kwik geen rol. De bel wordt daarna in de vloeistof geschroefd, maar niet geheel, vooral als de capillaire buis met iets aangezuurd water gevuld is, mag een urine, waarin meer of minder karbonaten aanwezig zijn, daarmede niet in aanraking komen, de koolzuurspanning zou door koolzuurontwikkeling sterk stijgen. Eens is mij hierdoor een bepaling mislukt. Voor alle veiligheid vulde ik het toestel daarom in het vervolg met gedestilleerd water, wat tot geen bezwaren aanleiding gaf, als door goede schoonmaak gezorgd werd, dat geen loog in het toestel was. Om het evenwicht tusschen gasbel en urine tot stand te brengen, schudde ik in den beginne met de hand het toestel, terwijl trechter 1 in het kwik bleef staan. Om tijdverlies te vermijden gebruikte ik later een haakvormig roerstaafje, waarmee ik de vloeistof boven het kwik in den trechter voortdurend in beweging hield. Gedurende 5 minuten deed ik dat; daarna werd de gasbel gemeten. Het verdere beloop is geheel hetzelfde als bij de gasanalyse van de doorstromings-

vloeistof. Bij mijn oefeningsbepalingen van koolzuurspanningen van vloeistoffen gebruikte ik sterk verdund spuitwater; een dubbelbepaling gaf daarmee bijv. de volgende getallen: 12,5 % en 12,8 %. Bij nog sterkere verdunning vond ik in een dubbelbepaling 4,6 % en 5,1 %. Voor een micromethode stemmen deze uitkomsten goed overeen. Later onderzocht ik de koolzuurspanning van gasmengsels en vloeistof, die met elkaar geschud, geacht werden in evenwicht te zijn:

Doorstromings- vloeistof.	Koolzuurspanning gasmengsel.	Koolzuurspanning vloeistof.
I	10,7 %.	10,1 % en 10,7 %.
II	9,3 %,	9,2 %.

De raad van Krogh, om steeds dubbelbepalingen te doen, kon ik niet opvolgen, daar ik daarvoor niet voldoende urine kreeg. Door de uitkomsten bij verschillende kikvorschen onderling met elkaar te vergelijken, kon ik alleen over de juistheid van een bepaling een oordeel krijgen. Soms valt een waarde uit het kader; zoo'n analyse moet gewantrouwd worden. Een of andere onregelmatigheid is hiervan dan wel de oorzaak. Een vuiltje bijv. aan de oppervlakte van den meniscus in de capillaire buis geeft volgens Krogh grove storingen en op de oppervlakte van kwik zijn wel eens vuiltjes, die gemakkelijk er in kunnen komen.

De electrome-
trische bepaling
der reactie.

Met behulp van de bekende koolzuurspanning van de urine kon nu hare actueele reactie worden vastgesteld. Voordat ik de bijzonderheden der electrometrische bepaling, die zich bij mijn onderzoek voordeden, beschrijf, wil ik het beginsel ervan vermelden. — Komt een metalen plaat met een waterige vloeistof in aanraking, dan gaat in het algemeen het metaal in oplossing en wel in den vorm van ionen. De positief geladen ionen geven aan het oplosmiddel eene lading, die aan de plaat wordt onttrokken. Zoo ontstaat een potentiaalverschil tusschen vloeistof en metalen plaat. Dit potentiaalverschil wordt weldra constant, daar de toenemende negatieve lading van het metaal het verder uitzenden van positief geladen ionen steeds moeilijker maakt; het evenwicht is dan tot stand gekomen. De neiging van het metaal om in ionenvorm in oplossing te gaan, de electrolytische „Lösungsdruck” wordt door dit potentiaalverschil aangegeven. Zijn in het oplosmiddel reeds ionen van het metaal aanwezig, dan gaan niet alleen ionen van de metalen plaat in de oplossing over, maar ook meer en meer ionen uit de oplossing weer naar de plaat terug, die dus eene geringere electrische lading zal aannemen, het potentiaalverschil is dan kleiner. Zijn echter meer ionen in oplossing dan met den electrolytischen „Lösungsdruck” overeenkomt, dan worden ionen uit de oplossing op de metalen plaat als het ware neergeslagen en ontstaat er een potentiaalverschil in andere richting. De richting en de grootte van het potentiaalverschil zijn dus afhankelijk van de concentratie der ionen in de oplossing. Hierop berust nu ook de meting van de concentratie der waterstofionen in eene vloeistof. Want als wij een met waterstof verzadigde

platinaplaat in een vloeistof brengen, gedraagt deze plaat zich alsof zij een plaat van het „metaal” waterstof ware. En ontstaat dan een potentiaalverschil, Δ genoemd, afhankelijk van de concentratie der waterstofionen C_H . Het verband tusschen deze grootheden wordt door de volgende formule uitgedrukt: ¹⁾

$$\Delta = \frac{R T}{2 \epsilon} \ln \frac{K P_H^2}{C_H^2}$$

Hierin stelt ϵ de hoeveelheid electriciteit aan één gramaequivalent gebonden = 96530 Coulomb voor, P_H de druk van de waterstof in atmosfeeren (niet te verwarren met p_H , den waterstofionen-exponent van Sørensen) en K een constante. Met bij elkaar passende eenheden kunnen wij de betrekking tusschen Δ en C_H eenvoudiger sehrijven. De electricische energie en R drukken wij in calorieën uit: $R = 1,991$ en 1 Joule = 0,2396 calorieën. Bij een temperatuur van 18° C. is $T = 273 + 18 = 291$ en als wij de natuurlijke logarithme door de Briggiaansche vervangen, krijgen wij de formule:

$$\begin{aligned} \Delta &= \frac{1,991 \cdot 291}{2 \cdot 96530 \cdot 0,2396} \frac{2}{\log e} \log. \frac{K P_H}{C_H} = \\ &= 0,05768 \log. \frac{K P_H}{C_H} \end{aligned}$$

Voor den druk = 1 en bij een concentratie der waterstofionen = 1 heeft men gevonden:

$$- 0,277 = 0,05768 \log. \frac{K}{1}$$

¹⁾ Zie bijv. van Laar, Lehrbuch der theoretischen Electrochemie, S. 159, (1907).

Trekken wij hiervan de eerste formule af, dan valt de constante weg en krijgen wij:

$$-0,277 - \Delta = -0,05768 \log. P_H + 0,05768 \log. C_H$$

of $\frac{-0,277 - \Delta}{0,05768} + \log. P_H = \log. C_H.$

Kennen wij nu P_H en Δ , dan kunnen wij met deze laatste formule C_H berekenen. Heeft de waterstof een druk van 1 atmosfeer, dan wordt $\log. P_H = 0$ en bij een andere bekende drukking van de waterstof is $\log. P_H$ ook bekend. Om Δ te bepalen gebruikte ik een gasketen (fig. 2), die bij mijn proeven bestond uit

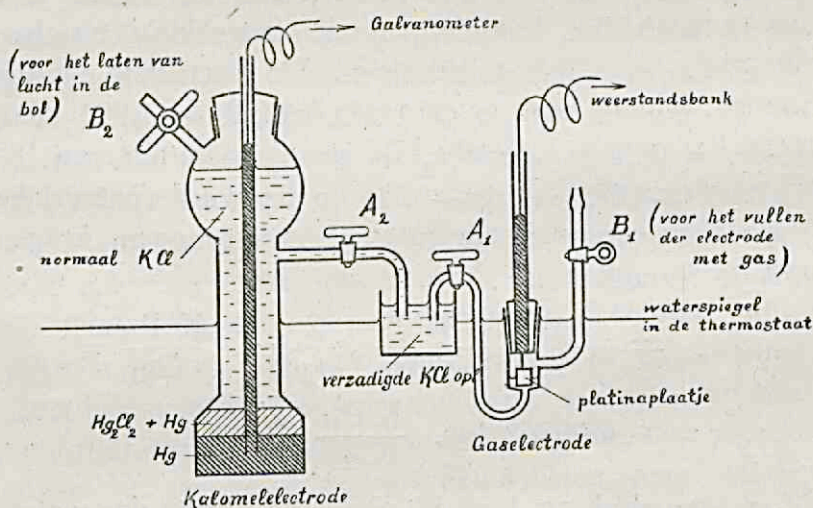


Fig 2. Gasketen.

een gaselectrode en eene kwik-kalomelelectrode ¹⁾ gevuld

¹⁾ Zie: W. E. Ringer. Onderzoekingen Physiol. Lab. Utrecht (V) X, blz. 116.

met normaal kaliumchloride, beide verbonden door middel van verzadigde kaliumchloride-oplossing. In de gaselectrode wordt waterstof en de te onderzoeken vloeistof gebracht; daar komt dus het potentiaalverschil Δ tot stand. De gebruikte gaselectroden waren volgens opgaaf van Prof. Ringer door de firma Marius te Utrecht vervaardigd; hun inhoud was ongeveer 1 cM.³, van boven waren zij door een lang slijpstuk afgesloten om diffusie van waterstof te voorkomen. Aan het slijpstuk was een platinaplaatje door middel van een platinadraad bevestigd. Het plaatje reikte bijna tot op den bodem van de cylindervormige ruimte, die daar in eene S-vormige buis met capillair lumen overging. Ook de buis met kraan B₁, die van opzij in de electrode uitkwam, had een capillair lumen. Het platinaplaatje was met een kwikzuiltje boven de ingeslepen stop verbonden, waarin de verbindende draad met de meettoestellen gestoken wordt. Draaien wij nu de kraantjes A₁ en A₂ der electroden open, dan komt er contact tusschen de norm. kaliumchloride-oplossing en de te onderzoeken vloeistof door middel van de verzadigde kaliumchloride-oplossing, waarvoor de daarin reikende capillaire buizen geheel met vloeistof gevuld moeten zijn. Om aan de aanrakingsoppervlakken de diffusie-potentiaal-verschillen zooveel mogelijk te vermijden, is juist een verzadigde kaliumchloride-oplossing genomen. Meten wij nu van deze gasketen de electromotorische kracht (E), dan is deze derhalve de som van 2 potentiaalverschillen nml. Δ en het bekende potentiaalverschil der kalomelelectrode = 0,560 Volt. De gezochte Δ = $E - 0,560$ Volt. Deze meting deed ik volgens de

opstelling van Poggendorff,¹⁾ met gebruik van een spiegelgalvanometer van d'Arsonval, een vasten weerstand van 10000 Ohm en een weerstandsbank. Eerst wordt de electromotorische kracht van een kleinen accumulator met behulp van een cadmium-normaalement vastgesteld en daarna de gasketen met den accumulator vergeleken. De gasketen, de kalomelelectroden en een aantal cadmium-normaalementen van groot model, waarvan de oudste en de nieuwste bij de proeven gebruikt werden en volkomen dezelfde getallen gaven, stonden in een thermostaat van 18°.

Bij het vullen der gaselectroden met de vloeistoffen, die onderzocht werden, deden zich eenige moeilijkheden voor. De geringe hoeveelheid urine maakte een spoelen der electroden, die met gedestilleerd water gevuld, bewaard werden, onmogelijk; deze moesten dus gedroogd worden. In den beginne werden de electroden met een doek en vloeipapier gedroogd na het slijpstuk er uit genomen te hebben. Om dit uit elkaar nemen te vermijden, probeerde ik hen te drogen door droge lucht er eenige uren door te zuigen, na eenige metingen waren echter de electroden gestoord; de electroden waren niet meer met de waterstof in evenwicht te brengen. In het vervolg werden de electroden daarom steeds met droge waterstof uit een Kipp-toestel gedroogd, na het vocht er zooveel mogelijk uit geslingerd te hebben. De geringe hoeveelheid urine was dan verder geen bezwaar. Het bleek zelfs, dat met zeer geringe hoeveelheden, zooals bijv. 0,2 cM.³, geheel betrouwbare uitkomsten konden

¹⁾ Zie: V. A. Julius, Leerboek der Natuurkunde, 3^e druk, II, blz. 207, (1899) en L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 127, (1914).

worden verkregen. Het platinaplaatje dompelde dan nog behoorlijk in de vloeistof en daar immers het potentiaalverschil onafhankelijk van de grootte van het aanrakingsoppervlak is, waren de uitkomsten nog even nauwkeurig. Als voorbeeld, welke nauwkeurigheid met deze kleine gaselectroden te bereiken is, wil ik de getallen aanhalen, die eene bepaling ter controle van de gebruikte electroden op 17 Jan. '20 opleverde. Twee electroden werden met dezelfde, ongeveer neutrale, fosphaatoplossing gevuld en bij de meting werden voor de electromotorische kracht van de daarmee samengestelde gasketens 0,6683 en 0,6681 Volt gevonden, waaruit volgt $\Delta = 0,1083$ en $\Delta = 0,1081$ of $p_H = 6,680$ en $p_H = 6,676$.

Bij die doorstroomings-vloeistoffen en de daarmee verkregen urine, waar de reactie afhankelijk was van opgelost koolzuur, moest in de electrode, in plaats van zuivere waterstof, een gasmengsel van waterstof en koolzuur in die verhouding zich bevinden, dat de koolzuurspanning hiervan met die van de te onderzoeken vloeistof in evenwicht was. Door uitwisseling van koolzuur kon dan in de electrode de reactie niet veranderen. De electroden, met zuivere waterstof gedroogd en verzadigd, werden met een gasburet verbonden, waarin een gasmengsel van de juiste samenstelling gebracht was. Dit gasmengsel kon langs kraan B_1 (fig. 2) in de electrode stroomen. De waterstof in het mengsel had nu geen druk meer van één atmosfeer; de lagere druk werd, als hij daalde beneden 0,98 atmosfeer, in de formule voor P_H ingevoerd. Het buisje met kraan A_1 werd gesloten met een gummibuisje, waarin een gummistopje, met eene naald doorboord, was gedrukt. Als nu in dit boorgat een klein capillairtje werd gebracht, kon het

gasmengsel uit de buret door de gaselectrode heen stroomen. Werd de electrode geacht daarmee voldoende doorstroomd te zijn, dan werd het capillairtje verwijderd en het buisje, waarin de urine werd opgevangen, met het capillaire einde, dat in den ureter paste, door het genoemde boorgat met de electrode verbonden. Met behulp van de gasburet kon dan door zeer voorzichtig den druk iets te laten dalen de urine in de electrode opgezogen worden, zonder dat koolzuur uit de urine werd weggezogen. Ook koolzuurverlies door contact met de lucht kon bij deze wijze van werken niet plaats vinden. Een bezwaar van dit opzuigen was, dat er soms gasbelletjes in de S-vormige capillaire buis der electrode kwamen, die verwijderd moesten worden, (daar zij een te grooten weerstand voor den electrischen stroom vormen), wat altijd, soms met eenige moeite, wel gelukte. De doorstromings-vloeistof werd ook direct uit het reservoir onder de noodige voorzorg in de electrode gezogen. Bij de phosphaatoplossingen zonder koolzuurgehalte paste ik dezelfde wijze van vullen toe, echter met zuivere waterstof. Met koolzuurhoudende gasmengsels werd bij de vulling geen overdruk gegeven; kraan B_1 werd gesloten als de druk gelijk was aan die van de atmosfeer. Nu werd 200 maal met de hand de electrode gewenteld om het evenwicht tusschen vloeistof en gas tot stand te laten komen. Daarbij wordt waterstof geabsorbeerd. Met zuivere waterstof werd nu de electrode weer aangevuld en ook zooveel mogelijk voor eenen gelijken druk als die van de atmosfeer gezorgd. Als nu na nogmaals 100 maal wentelen kraan A_1 voor de meting geopend werd, bleek dit geheel of op zeer weinig na bereikt te zijn.

De micro-
methode van
H. Maclean
om het reducee-
rend vermogen
te bepalen.

Om het reduceerend vermogen van de urine en de doorstroomings-vloeistof te bepalen, gebruikte ik de micromethode van Hugh Maclean ¹⁾ voor het bepalen van het gehalte van het bloed aan suiker. In zijn artikel geeft hij 2 wijzen van uitvoering aan, de eene met gebruik van 1 cM.³ bloed, de andere met gebruik van 0,2 cM.³. Alleen de laatste wijze, die met een zoo geringe hoeveelheid vloeistof kon uitgevoerd worden, kwam voor mijn doel in aanmerking. Hare uitvoering heb ik dus moeten bestudeeren en daarover reeds een mededeeling ²⁾ gepubliceerd. De op glucose onderzochte urine werd steeds op de boven beschreven wijze opgevangen, behalve bij proef 22, waar zij zonder afsluiting met een kwikdruppel in een buisje gevloeid is. De urine werd dan in een miniatuur reageerbuisje overgebracht, waaruit ik ze met een zelf vervaardigde pipet van precies 0,2 cM.³ afpipetteerde. Ik achtte de met de doorstroomings-vloeistoffen verkregen urine eiwitvrij te zijn, een enkele keer heb ik mij daarvan nog eens overtuigd; het geheele onteiwittingsprocedee, dat Maclean voor bloed aangeeft, liet ik achterwege, waardoor dit suikeronderzoek zeer vereenvoudigd werd. De pipet met de urine werd geledigd en nagespoeld in 20 cM.³ van de zure zoutoplossing, die op 1000 cM.³ 150 Gr. Na₂SO₄ + 10 aq., 1 cM.³ acid. acet. glaciale pro analysi en verder gedestilleerd water bevat en die dus alleen als verdunningsvloeistof gebruikt werd. Het door reductie uit CuO gevormde Cu₂O wordt evenals in de door Bang ³⁾ aangegeven wijziging zijner

¹⁾ The Biochemical Journal, Vol XIII, No. 2, p. 133, (1919).

²⁾ Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde, 1920, I, blz. 1829.

³⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 87, S. 248, (1918).

methode, door middel van joodzuur geoxydeerd, dat uit kaliumjodaat en zoutzuur verkregen wordt. Het HJO_3 , dat na de oxydatie overblijft, vormt met HJ , uit KJ verkregen, volgens de formule $\text{HJO}_3 + 5 \text{HJ} \rightarrow 6\text{J} + 3\text{H}_2\text{O}$ jodium, dat met natriumthiosulfaat getitreerd wordt. Aan de alkalische kopersulfaat-oplossing heeft Maclean KJO_3 en KJ toegevoegd; de samenstelling van deze vloeistof is de volgende:

KHCO_3	12 Gr.	
K_2CO_3 (anhydrisch)	8 Gr.	
$\text{CuSO}_4 + 5 \text{ aq.}$	0,35 Gr.	} zeer nauwkeurig afwegen.
KJO_3	0,05 Gr.	
KJ	0,5 Gr.	
aq. dest. ad	100 cM. ³	

Van deze oplossing werden 2 cM.³ bij de op de boven beschreven wijze verdunde urine gepipetteerd en deze 22 cM.³ werden in een Erlenmeyerkolf zoo boven een gasvlam verwarmd, dat zij na 1' 40" flink koken. Afwijkingen van dit voorgeschreven getal kwamen voor tot 10"; deze hebben echter geene beteekenis. 6 Minuten lang bleef de vloeistof koken, terwijl de vlam niet veranderd werd. De Erlenmeyerkolf stond daarbij op een driehoek van pijpensteeltjes vlak boven de vlam, die met een schoorsteentje voor den tocht beschermd werd. Na de 6 minuten werd dadelijk onder de kraan afgekoeld. Het gevormde Cu_2O bevindt zich in eenen colloïdalen toestand. De zuurstof van de lucht kan het zoo praktisch niet oxydeeren; zonder haast wordt nu 2 cM.³ zoutzuur van ongeveer 25 % toegevoegd. Daarmee worden verschillende reacties in het leven geroepen: de karbonaten worden ontleed en de vloeistof gaat door koolzuurontwikkeling sterk schuimen, uit het KJO_3 wordt

HJO_3 gevormd, dat dadelijk uit elkaar valt, eensdeels het Cu_2O oxydeert, anderdeels met KJ en HCl in overmaat aanwezig een hoeveelheid jodium en water vormt. De hoeveelheid jodium is zoo een maat voor den omvang der reductie en het grootst bij afwezigheid van Cu_2O en dus van reduceerende stoffen. Door een blinde proef kunnen wij vaststellen, hoeveel natriumthiosulfaat noodig is, om deze maximale hoeveelheid jodium te binden. Maclean geeft aan $\pm 11,05 \text{ cM.}^3$

$\frac{\text{N}}{400}$ -natriumthiosulfaat, bij drie door mij bereide oplossingen vond ik 11,57, 11,62 en 11,56 cM.^3 Daar een $\frac{\text{N}}{400}$ -oplossing niet lang goed blijft, bereidt Maclean

haar telkens versch door 5 $\text{cM.}^3 \frac{\text{N}}{10}$ -oplossing in een maatkolf tot 200 cM.^3 aan te vullen en titreert daarmee uit een gewone buret. Bij mijn proeven gebruikte ik een microburet, die met een flesch, gevuld met ongeveer 0,007 N.-oplossing, verbonden was, welke oplossing elke week met een $\frac{\text{N}}{100}$ J-oplossing nauwkeurig gesteld werd. De daarmee gevonden tritratiewaarden rekende ik met behulp van logarithmen om tot $\text{cM.}^3 \frac{\text{N}}{400}$ -oplossing.

Na het toevoegen van het zuur wordt zacht geschud, totdat het schuimen voorbij is. Dan wacht ik 1 minuut of iets langer, terwijl ik nu en dan den inhoud van de Erlenmeyerkolf flink laat draaien en ga over tot de titratie. De daarbij gevonden waarde wordt afgetrokken van het getal bij de blinde proef vastgesteld. Dit verschil wordt in een tabel opgezocht en de daarmee overeen-

komende hoeveelheid glucose aldus gevonden. De tabel kan niet gemist worden, daar bij verschillende hoeveelheden glucose de verhouding tusschen de met elkaar reageerende hoeveelheden verandert en daarmee de reductie op een ander punt blijft staan. De met de tabel gevonden hoeveelheid glucose, waarbij ik tusscheninliggende waarden interpoleerde, moet bij mijn wijze van werken met 5 vermenigvuldigd worden om de hoeveelheid glucose in 1 cM.³ vloeistof te bepalen.

Tabel voor het bepalen van suiker in 0,2 cM.³ bloed.
 Hoeveelheid glucose overeenkomend met cM.³ $\frac{N}{400}$
 Na₂S₂O₃-oplossing.

Glucose (mG.)	$\frac{N}{400}$ cM. ³	mG.	cM. ³	mG.	cM. ³
0,03	0,12	0,16	1,80	0,29	3,49
0,04	0,25	0,17	1,94	0,30	3,61
0,05	0,38	0,18	2,07	0,31	3,74
0,06	0,50	0,19	2,22	0,32	3,87
0,07	0,62	0,20	2,35	0,33	3,99
0,08	0,73	0,21	2,49	0,34	4,12
0,09	0,86	0,22	2,61	0,35	4,24
0,10	0,99	0,23	2,74	0,36	4,37
0,11	1,13	0,24	2,86	0,37	4,49
0,12	1,26	0,25	2,99	0,38	4,62
0,13	1,39	0,26	3,11	0,39	4,74
0,14	1,53	0,27	3,24	0,40	4,87
0,15	1,67	0,28	3,36		

Met glucose-oplossingen heb ik de betrouwbaarheid dezer verkorte methode nagegaan. De tijd, noodig om

de vloeistof aan de kook te brengen, staat achter elke bepaling vermeld in de volgende tabel:

100 cM.³ glucose-oplossing bevat:

Volgens bereiding (Gr.)	Volgens bepaling (Gr.)	Verwarmtijd.
0,1248	0,1232	1'35"
	0,1193	1'25"
	0,1189	1'40"
	0,1236	1'40"
0,0948	0,0924	1'35'
	0,0929	1'40"
	0,0924	1'40"
0,0748	0,0722	1'40"
0,0594	0,0590	1'40"

Ik heb verder de betrouwbaarheid van de werkwijze van Maclean, wanneer deze wordt toegepast op bloed, nauwkeurig bestudeerd en ik wil hier de uitkomsten van proeven vermelden, waarbij ik tweemaal telkens de volledige methode, dus met het van eiwit bevrijden, moest toepassen en wel, omdat ik het reducerend vermogen van bloed bepaalde vóór en na het toevoegen van eene hoeveelheid glucose, die mij vóór de analyse onbekend was.

Aan 20 cM.³ geklopt paardenbloed was:

Toegevoegd (Gr.) glucose.	teruggevonden (Gr.) glucose.
0,0183	0,0179
0,0088	0,0047 *)
0,0183	0,0184
0,0095	0,0105

*) 1½ uur na bereiding onderzocht, invloed van glycolyse.

De uitkomsten van deze methode zijn zeer bevredigend. Bovendien duren de bepalingen kort en in betrekkelijk korten tijd kan men deze methode ter bepaling van het reduceerend vermogen geheel meester zijn; van 19 Sept. 1919 tot 7 Oct. 1919 was ik er mee bezig.

De micromethode ter bepaling van het gehalte aan ureum.

Het scheen mij gewenscht, het ureumgehalte van de urine met behulp van het enzym der sojaboonen, dat ureum in ammoniumkarbonaat omzet, te bepalen, en daarvoor niet te gebruiken de bestaande micromethode van Bang, aangezien deze vrij omslachtig is en moeilijk in de uitvoering. De ureasemethode moest ik dus verfijnen en geschikt maken voor het bepalen van ureum in zeer kleine hoeveelheden vloeistof, waarin het ureumgehalte ongeveer met dat van menschenbloed overeenkomt. Het beginsel der ureasemethode wil ik hier eerst vermelden. Men neemt twee gelijke hoeveelheden van de vloeistof, waarvan men het ureumgehalte wil bepalen, voegt aan de eene urease toe, aan de andere niet. Men schept gunstige voorwaarden voor de werking van het enzym, d.w.z. men zorgt door een waterbad voor de optimale temperatuur van 35° en voegt primair-kaliumphosphaat toe om steeds de reactie zwak zuur te houden. Als het enzym zijn werk heeft gedaan, maakt men beide porties alkalisch en kan dan met een luchtstroom het ammoniak uitdrijven, dat in zuur wordt opgevangen. De vloeistof zonder urease staat alleen de hoeveelheid ammoniak af, die als zoodanig er in voorkomt, de vloeistof met urease dezelfde hoeveelheid vermeerderd met het ammoniak uit ureum gevormd. Door titratie wordt vastgesteld, hoeveel zuur

door het ammoniak van elk van beide hoeveelheden vloeistof is gebonden. Het verschil der waarden geeft aan de hoeveelheid ammoniak, uitsluitend uit het ureum gevormd. Daaruit wordt het ureumgehalte berekend.

Voor de uitvoering dezer micromethode is $0,4 \text{ cM.}^3$ vloeistof nodig, dat met twee pipetten van $0,2 \text{ cM.}^3$ wordt afgemeten. Het toestel van Cohen Tervaert¹⁾ voor de omzetting en destillatie werd gewijzigd en zoo geschikt gemaakt voor deze veel kleinere hoeveelheden.

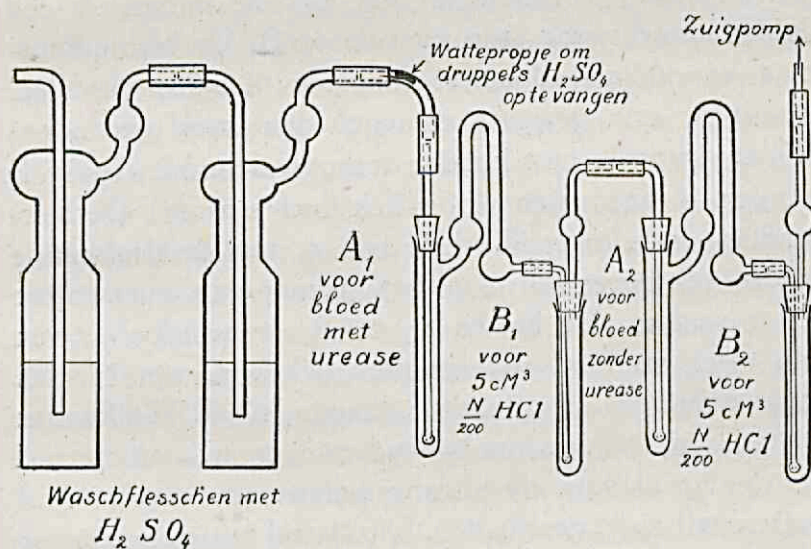


Fig. 3. Toestel voor micro-ureumbepaling

Bij de constructie van een toestel voor micro-ureumbepaling was het mijn doel, het ook bruikbaar te maken voor het micro-onderzoek van bloed; bij de beschrijving

¹⁾ Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde, 1916, II, blz. 1457.

spreek ik dan ook telkens van bloed. Het toestel bestaat uit twee paar glazen buizen, die aangeduid zullen worden met A_1 , B_1 en A_2 , B_2 en volgens fig. 3 met elkander zijn verbonden. De buizen A_1 en A_2 , voor het bloed bestemd, zijn 17 cM. lang en hebben een buitendoorsnede van 1,9 cM. met een lumendiameter van 1,3 cM. Het glas is dus vrij dik om de kans van breken te verminderen. Zij vertoonen een aanhangsel met twee bolvormige verwijdingen, waarvan de eene als spatbolletje, de andere als opvanger van druppels dient. Eerst gebruikte ik ook op de buizen A een dubbel doorboorde stop evenals op B. De verbindingsbuis van A met B moest daardoor te nauw uitvallen, waardoor erin gespatte en tegen den wand gecondenseerde druppels niet konden terugvloeien, maar naar B werden meegenomen door den luchtstroom. De verbinding „side to end” stelde mij in staat de doelmatige wijidte te kiezen en zoo het gevaar van overspatten uit te sluiten. De buizen B_1 en B_2 , waarin 5 cM.³ van een sterk verdund zuur worden gebracht, zijn 14 cM. lang, overigens van dezelfde afmeting als A. Zij kunnen korter zijn, omdat hun inhoud minder schuimt, terwijl overbodige lengte de titratie belemmert, die in deze buizen zelf moet geschieden. Dit viertal buizen is zóó aan een statief met klemmen bevestigd, dat A_1 en A_2 naast elkaar in een beerglass duiken, waarin water van 35° gedurende de proef wordt gebracht. Met kokend water wordt de temperatuur zooveel mogelijk gelijk gehouden. Het toestel is eenerzijds geschakeld aan eene zuigpomp, aan den anderen kant aan twee waschflesschen, die het ammoniak der laboratorium-lucht moeten tegenhouden en waarin zich daartoe zwavelzuur bevindt. Wordt nu

de pomp, wier zuigkracht met een klemkraan geregeld wordt, in werking gezet, dan stroomt de lucht uit de waschflesschen door de nauwe buis, die tot op den bodem van A_1 reikt, door de gaatjes van het bolvormige uiteinde en passeert de vloeistof. Met ammoniak beladen gaat de luchtstroom tot den bodem van B_1 , waar het zuur het ammoniak aan zich bindt en zoo gezuiverd is hij in staat het ammoniak van de vloeistof in A_2 over te brengen naar het zuur in B_2 .

Voor het uitvoeren van een bepaling moet natuurlijk het toestel zorgvuldig gereinigd zijn. In A_1 en A_2 worden, als wij met bloed werken, 3—4 druppels 1% kaliumoxalaat-oplossing gebracht om de stolling te voorkomen. In elke buis A wordt een pipet van 0,2 cM.³ geledigd. Men moet er voor zorgen de vloeistof onmiddellijk op den bodem der buis te brengen, hoogerop klevende druppels zouden aan den invloed van het enzym en c.q. het oxalaat worden onttrokken. De pipetten worden eenmaal nagespoeld met ongeveer 0,2 cM.³ 0,6% primair-kaliumphosphaat-oplossing en deze hoeveelheid bij de vloeistof in A gebracht. In A_1 komen twee druppels urease-oplossing. De stoppen op A_1 en A_2 worden gesloten en het waterbad op temperatuur gebracht. In 20 minuten is de omzetting van het ureum afgelopen. Gedurende dien tijd worden in B_1 en B_2 5 cM.³ van een ongeveer $\frac{N}{200}$ -zoutzuur-oplossing gebracht en 6 druppels amylalcohol tegen het schuimen. De titer van het zuur behoeft niet precies bekend te zijn, maar wel moet men nauwkeurig dezelfde hoeveelheid in B_1 en B_2 afpipetteeren. Immers alleen het verschil tusschen het overgebleven zuur in B_1 en

B_2 moeten wij kennen en bij gelijke hoeveelheden ureum zijn dat aequivalente hoeveelheden zuur, als wij in eenige proeven den titer zouden laten wisselen. Begrijpelijker wijze moet de sterkte van de thiosulfaat-oplossing, waarmee ten slotte de met deze hoeveelheid zuur aequivalente hoeveelheid jodium wordt getitreerd, wel nauwkeurig bekend zijn. Genoemde hoeveelheid, n.l. 5 cM^3 , is voldoende voor een ureumgehalte van 3,5 per duizend. Als de 20 minuten verstreken zijn, worden in A_1 en A_2 20 druppels eener verzadigde soda-oplossing (pro analysi) gebracht en 5 druppels caprylalcohol; bij het sterk schuimende bloed is amylalcohol niet voldoende. Al die kleine beetjes vormen in A een vloeistofkolom van ongeveer $2,5 \text{ cM}$. hoogte. De stoppen worden goed gesloten en het doorzuigen van lucht begint; gedurende 45 minuten moet men zoo krachtig mogelijk zuigen en gedurende dien tijd het waterbad op temperatuur houden, waardoor het uitdrijven van ammoniak wordt bevorderd. Het staken van het doorzuigen moet geschieden door de stoppen in bepaalde volgorde los te maken, eerst de tweede waschflesch, dan A_1 , B_1 , A_2 en B_2 ; daarna wordt de pomp gesloten.

Voor het bepalen van het overgebleven zuur in B_1 en B_2 gebruikte ik de jodometrische titratie. Eerst bracht ik het zuur uit B in een bekersglas over en spoelde B en inliggende luchtbus driemaal met gedestilleerd water na. Bij dit overbrengen ging zuur verloren en het bleek, dat het verlies afhankelijk was van de gebruikte hoeveelheid gedestilleerd water. Om deze bron van fouten te vermijden, besloot ik onmiddellijk in de buizen B te titreeren met de zich daarin bevindende toevoerende luchtbus als roerstaaf. De afvoerende luchtbus wordt

uit de stop getrokken en de stop 180° gedraaid. Zoo komt er ruimte voor titratie. In B worden nu 2 druppels 3 % kaliumjodaat-oplossing gebracht en 1 cM.³ 5 % kaliumjodide-oplossing. Volgens de reactie $6 \text{ HCl} + \text{KJO}_3 + 5 \text{ KJ} \rightarrow 6 \text{ J} + 6 \text{ KCl} + 3 \text{ H}_2\text{O}$ wordt door het aanwezige zuur een aequivalente hoeveelheid jodium vrijgemaakt. Met dezelfde $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oplossing, die bij de suikerbepaling gebruikt wordt, wordt uit een microburet na 5 minuten getitreerd. Als de gele kleur van het jodium bijna verdwenen is, wordt één druppel 1 % amylum-oplossing toegevoegd; volgens Maclean krijgt men zoo den scherpsten omslag. Het verschil der bij de titratie gevonden waarden voor B_1 en B_2 wordt omgerekend tot cM.³ $\frac{N}{200}$ -natriumthiosulfaat,

overeenkomend met hetzelfde volumen $\frac{N}{200}$ -zoutzuur, dat door het ammoniak uit het ureum afkomstig, is geneutraliseerd of met hetzelfde volumen eene $\frac{1}{400}$ -moleculaire ureum-oplossing. Het moleculairgewicht van ureum is 60; 1 cM.³ van eene $\frac{1}{400}$ -moleculaire oplossing bevat dus 0,15 mgr. Het genoemde verschil uitgedrukt in cM.³ $\frac{N}{200}$,

vermenigvuldigd met 0,15, geeft dus aan, hoeveel mgr. ureum 0,2 cM.³ van de onderzochte vloeistof bevat. Het bedrag per L. is hieruit gemakkelijk te berekenen.

Met deze methode heb ik proeven genomen met waterige ureumoplossingen (Tabel 1) en geklopt paardenbloed, waaraan ureum was toegevoegd (Tabel 2). Bij de bloedmengsels en de meeste oplossingen was mij de nauwkeurig afgewogen hoeveelheid vóór de analyse onbekend. Door het oorspronkelijke en het kunstmatig

verhoogde ureumgehalte te bepalen berekende ik de aan het bloed toegevoegde hoeveelheid. Sommige bepalingen zijn eenigszins afwijkend met de beschrijving gedaan. Zoo had ik in het begin geen caprylalcohol en moest uitsluitend met amylalcohol werken. Bij de ureumoplossingen ging dat heel goed. In plaats van met $0,2 \text{ cM.}^3$ primair-kaliumphosfaat heb ik wel eens de pipet met ongeveer $0,8 \text{ cM.}^3$ gedestilleerd water uitgespoeld en daarmee de gebruikte $0,2 \text{ cM.}^3$ ureumoplossing verdund; dat gaf weinig verschil. Verdunt men echter te sterk met water, phosphaatoplossing en sodaoplossing, dan vallen de gevonden waarden te laag uit, ook als men langer dan een uur doorzuigt; deze uitkomsten worden niet vermeld. In de opmerkingen bij de tabellen heb ik aangeduid, welke bepalingen geheel volgens de beschrijving zijn afgewerkt. Het ureum werd steeds uit den exsiccator afgewogen.

Tabel 1. Ureumoplossingen. Zij bevatten op 100 cM.^3 :

Gr. ureum: volgens be- reiding.	Volgens bepaling.	Opmerkingen.
0,0968. . .	0,0953	35 minuten doorgezogen } Geheel volgens beschrijving. } Geen phosphaat gebruikt.
0,1396. . . {	0,134	
	0,1283	
0,2235. . . {	0,2093	
	0,2183	} Geen phosphaat gebruikt. Geheel volgens beschrijving. " " "
0,2512. . . {	0,223	
	0,248	
	0,236	
	0,2497	
0,0502. . .	0,0476	

Tabel 2. Aan 20 cM.³ geklopt paarden- of runderbloed was:

Toegevoegd (Gr. ureum)	Terugge- vonden (Gr)	Opmerkingen.
0,0770	0,0625	7 cM. ³ $\frac{N}{200}$ HCl gebruikt } niet krachtig doorgezogen.
0,0599 {	0,0499	
	0,0548	50 minuten doorgezogen.
0,0214	0,0216	55 minuten doorgezogen.
0,0317	0,0304	Geheel volgens beschrijving.
0,0123	0,0112	" " "
0,0172	0,0156	" " "

Deze micro-ureasemethode geeft, zooals uit de tabellen blijkt, zeer fraaie uitkomsten. Zij is echter tijdroovend; met het schoonmaken der buizen enz. inbegrepen, moet men er ongeveer 2 uur voor rekenen. Hoe ik bij menschen het bloed opvang en welke getallen ik daarbij gevonden heb, staat in een reeds verschenen publicatie ¹⁾ van deze methode.

¹⁾ Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde, 1920, I, blz. 473.

HOOFDSTUK II.

VERSLAG DER PROEVEN EN BESCHOUWING DER UITKOMSTEN.

Eerste proefreeks (I).

De doorstromings-vloeistof bevat natriumhydrokarbonaat en hare reactie wordt verschoven door koolzuur in wisselende hoeveelheden er in op te lossen. De proeven van deze reeks wil ik verdeelen in 2 groepen: I A en I B. De doorstromings-vloeistof van de eerste groep bevatte veel natriumhydrokarbonaat en had die samenstelling, die volgens Hamburger en Brinkman de optimale is voor de doorstroming der kikvorschenier. Althans hierbij is de verkregen urine alkalisch en glucosevrij, wat met den physiologischen toestand bij den kikvorsch overeen zou komen. Ook de doorstromings-vloeistof van groep I B is volgens genoemde onderzoekers bereid, zij bevat echter minder natriumhydrokarbonaat. Daarbij kwam suiker in de urine, maar een aanzienlijke retentie was toch nog aanwezig.

I A. Samenstelling der doorstromings-vloeistof:

NaCl	0,5 ‰
KCl	0,01 ‰
CaCl ₂ (anhydr.)	0,02 ‰
NaHCO ₃	0,285 ‰
glucose	0,06 ‰ (proef 22 en 23) en 0,05 ‰ (in de overige).

Het NaHCO₃ wordt, opgelost in water, het laatst

toegevoegd. Na het mengen wordt de vloeistof langzaam troebel en vormt zich een neerslag op den bodem, waardoor de vloeistof weer helder wordt. Dit neerslaan van CaCO_3 was geen bezwaar. Het gehalte aan Cationen, waarom het te doen is, is volgens Rona en Takahashi¹⁾ afhankelijk van de concentratie der H- en HCO_3 -ionen en daardoor bepaald. Deze vloeistof werd de eerste maal bereid met gedestilleerd water,

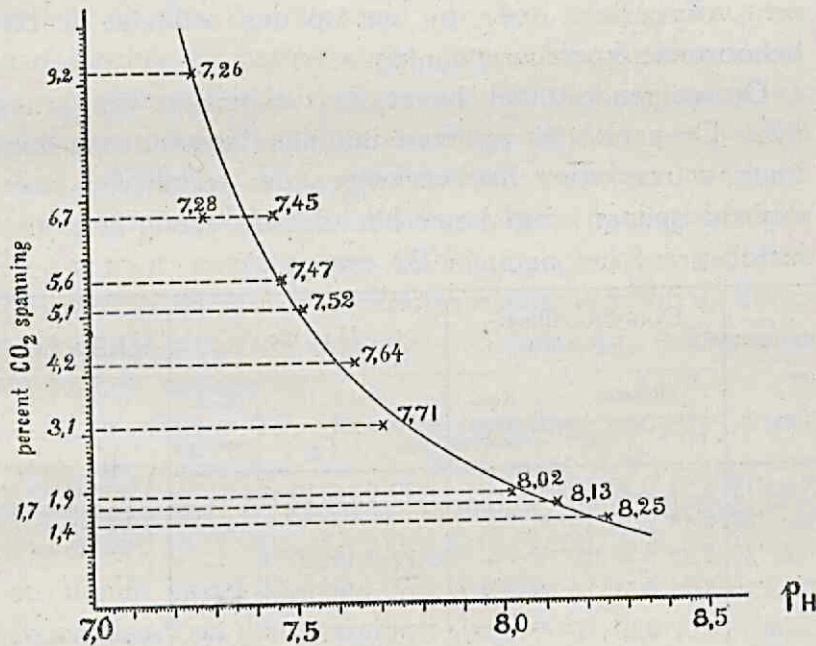


Fig. 4. Samenhang tusschen p_H en de koolzuurspanning van de doorstroomings-vloeistof in I A.

dat nog eens uitgekookt was om alle koolzuur te verdrijven en zij werd bewaard in een flesch afgesloten door een stop met natronkalkbuis. De eerste twee vermelde proeven zijn hiermee gedaan; de koolzuurspan-

¹⁾ Gecit. uit R. Brinkman, Biochem. Zeitschr., Bd. 95, S. 101, (1919).

ningen werden hierbij nog niet gemeten; bij deze vloeistoffen zal het verwaarlozen van deze toch ongetwijfeld geringe koolzuurspanningen geen invloed van beteekenis gehad hebben op de bepaling van de actueele reacties. De andere oplossingen zijn met versch gedestilleerd water bereid. In figuur 4 heb ik graphisch de uitkomsten van de metingen der reactie van de doorstromingsvloeistof voorgesteld; op de abscis is de reactie uitgezet, voorgesteld door p_H en op den ordinaat de bijbehorende koolzuurspanning.

De volgende tabel bevat de uitkomsten van groep I A. De eerste 21 proeven uit mijn laboratorium-dagboek waren voor het verkrijgen der technische vaardigheid gedaan; zoo komt het, dat de eerste hier vermelde proef het nummer 22 draagt.

Proefnummer met datum.	Doorstromingsvloeistof:			Urine:			Opmerkingen.
	Reactie.		Koolzuurspanning	Reactie.		Koolzuurspanning	
	pH	C _H		pH	C _H		
22) 17 Nov. '19	8,52	0,30 · 10 ⁻⁸	—	7,79	0,16 · 10 ⁻⁷	—	{ urine glucosevrij, reducerend vermogen van de doorstromingsvl. (12 Nov.) 0,059 % en (20 Dec.) 0,057 %.
23) 10 Jan. '20	8,44	0,36 · 10 ⁻⁸	—	—	—	—	
11 Jan. '20	8,55	0,28 · 10 ⁻⁸	—	7,72	0,19 · 10 ⁻⁷	—	
24) 15 Jan. '20	8,25	0,57 · 10 ⁻⁸	1,4 ^o / _o	6,70	0,20 · 10 ⁻⁶	3,7 ^o / _o	
25a) 16 Jan.	8,02	0,97 · 10 ⁻⁸	1,9 ^o / _o	7,25	0,57 · 10 ⁻⁷	2,4 ^o / _o	{ electrode met urine onregelmatig. vulling der electrode mislukt
25b) 17 Jan.	—	—	1,9 ^o / _o	—	—	2,3 ^o / _o	
26) 20 Jan.	8,13	0,74 · 10 ⁻⁸	±1,7 ^o / _o	7,53	0,30 · 10 ⁻⁷	3,1 ^o / _o	{ electroden met lucht gedroogd, er treden nog geen stoornissen op.
27) 22 Jan.	7,72	0,19 · 10 ⁻⁷	3,1 ^o / _o	7,62	0,24 · 10 ⁻⁷	2,7 ^o / _o	
28) 23 Jan.	7,47	0,34 · 10 ⁻⁷	5,6 ^o / _o	6,96	1,08 · 10 ⁻⁷	4,8 ^o / _o	
29) 24 Jan.	7,52	0,29 · 10 ⁻⁷	5,1 ^o / _o	7,38	0,42 · 10 ⁻⁷	5,7 ^o / _o	
30) 28 Jan.	7,64	0,23 · 10 ⁻⁷	4,2 ^o / _o	7,37	0,43 · 10 ⁻⁷	3,9 ^o / _o	{ electroden met waterstof gedroogd, nadat een meting bij een niet ingeschreven proef mislukt was.
31) 29 Jan.	7,45	0,36 · 10 ⁻⁷	6,7 ^o / _o	7,39	0,40 · 10 ⁻⁷	6,7 ^o / _o	
32) 2 Febr.	7,26	0,55 · 10 ⁻⁷	9,2 ^o / _o	7,03	0,86 · 10 ⁻⁷	7,6 ^o / _o	
33) 4 Febr.	7,28	0,53 · 10 ⁻⁷	6,7 ^o / _o	7,27	0,54 · 10 ⁻⁷	5,9 ^o / _o	

Proef 28 was ernstig gestoord, doordat de doorstrooming gedurende een kwartier heeft stilgestaan; de aorta was namelijk tegen de wervelkolom dicht gedrukt. De zwak zure reactie van de urine zal hiervan wel het gevolg zijn. Voor de afwijkende reactie en koolzuurspanning van de urine in proef 24 kan ik geen verklaring geven; bijzonderheden heb ik niet waargenomen.

De twee laatste kikvorschen (34 en 35) van deze groep werden doorstroomd om het gehalte der urine aan glucose en ureum na te gaan. Aan de doorstromings-vloeistof was daarom een uit den exsiccator afgewogen hoeveelheid ureum toegevoegd tot een gehalte van 0,0200 $\%$. Het reduceerend vermogen van de doorstromings-vloeistof kwam volgens de methode van Maclean overeen met 0,0505 $\%$ glucose. Bij deze proeven werd alleen de koolzuurspanning van de doorstromings-vloeistof bepaald; volgens fig. 4 kan men de reactie benaderen.

34) 6 Febr. '20. Koolzuurspanning van de doorstromings-vloeistof 3,6 $\%$. Met urine van rechts twee bepalingen van Maclean mogelijk: de titratiegetallen zijn 3,965 en 3,970 cM.³ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,007396 N. Voor de blinde proef (3 Febr.) is noodig 3,952 cM.³ van denzelfden titer. Dit verschil is dus kleiner dan 1 druppel, terwijl voor de blinde proef minder $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ noodig is dan voor de urine-titratie. Volgens deze dubbelbepaling is de urine dus glucosevrij.

Met urine van links één bepaling van het gehalte aan ureum gedaan, die in 1 cM.³ 0,238 mG. ureum aanwijst.

35) 7 Febr. '20. Koolzuurspanning van de doorstromings-vloeistof 9,4 $\%$. Beide venae portae renales

met klemmetjes afgesloten. In proef 34 was alleen rechts deze vena afgesloten. Met urine van rechts 2 glucose-bepalingen mogelijk: de gevonden titratiewaarden zijn 3,950 en 3,970 cM.³ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,007396 N. Ook deze urine moet als glucosevrij beschouwd worden.

Met urine van links één ureumbepaling gedaan, die in 1 cM.³ 0,227 mG. ureum aanwijst. In aanmerking nemend de nauwkeurigheid der methode van onderzoek, is het ureumgehalte van de urine in 34 en 35 even hoog. Op de ureumafscheiding heeft dus bij deze doorstromingsproeven het dichtklemmen van de vena portae renalis geen invloed, ten minste wanneer de afscheiding van ureum onafhankelijk is van het gehalte aan koolzuur en dus van de reactie.

Wat de impermeabiliteit voor glucose betreft, bij deze doelmatige vloeistof blijkt zelfs een zeer hoog koolzuurgehalte geen kwaad te doen. Hamburger en zijne leerlingen vermijden zelfs bij de bereiding hunner doorstromings-vloeistoffen het koolzuur van de lucht ¹⁾; deze voorzorgen hoeven dus niet bij een zoo alkalirijke doorstromings-vloeistof in acht te worden genomen.

I B. Samenstelling der doorstromings-vloeistof:

NaCl	0,6 ‰
KCl	0,01 ‰
CaCl_2 (anh)	0,013 ‰
NaHCO_3	0,09 ‰
glucose	0,05 ‰
ureum	0,02 ‰

Bij alle kikvorschten van deze groep heb ik de venae portae renales met klemmetjes afgesloten; bij de reactie-

¹⁾ Zie: Biochem. Zeitschr., Bd. 88, S. 105, (1918).

bepalingen in de eerste groep had ik dit, vertrouwend op de uitspraak van Hamburger, nooit gedaan. De beide eerste proeven zijn gedaan met eene doorstromings-vloeistof op 9 Febr. '20 bereid; voor de volgende is op 12 Febr. '20 2 L. doorstromings-vloeistof bereid.

De volgende tabel bevat de uitkomsten van de proeven van deze groep:

Proefnummer met datum.	Doorstromings- vloeistof:			Urine:				Opmerkingen.
	Reactie.		Kool- zuur- spanning	Reactie.		Kool- zuur- spanning	Reduceerend vermogen.	
	p _H	C _H		p _H	C _H			
36a) 11 Febr. '20	7,48	0,33.10 ⁻⁷	1,6 ‰	6,15	0,71.10 ⁻⁶	1,6 ‰	$\left\{ \begin{array}{l} 0,018 \text{ ‰} \\ \text{en} \\ \pm 0,009 \text{ ‰} \end{array} \right.$	1 1/4 uur doorstroomd
36b) 12 Febr.	—	—	1,1 ‰	—	—	—	$\left\{ \begin{array}{l} 0,0205 \text{ ‰} \\ \text{en} \\ 0,0195 \text{ ‰} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Ureumgehalte van de} \\ \text{urine } 0,0148 \text{ ‰.} \end{array} \right.$
37a) 13 Febr.	7,05	0,89.10 ⁻⁷	5,5 ‰	6,45	0,35.10 ⁻⁶	5,5 ‰		
37b) 14 Febr.	—	—	—	—	—	—	0,022 ‰	Zeer weinig urine ver- kregen.
38) 18 Febr.	7,17	0,67.10 ⁻⁷	3,2 ‰	6,01	0,98.10 ⁻⁶	2,6 ‰	—	Ruime diurese. 3/4 uur doorstroomd.
39a) 2 Maart	6,84	0,15.10 ⁻⁶	8,1 ‰	6,59	0,26.10 ⁻⁶	4,7 ‰	—	Geringe urinevorming. 1 1/4 uur doorstroomd.
	Reduceerend vermogen							
39b) 3 Maart	0,0475 ‰		8,2 ‰	—	—	—	$\left\{ \begin{array}{l} 0,0215 \text{ ‰} \\ \text{en} \\ \pm 0,011 \text{ ‰} \end{array} \right.$	Geringe urinevorming. 1 1/2 uur doorstroomd.

Met deze doorstromings-vloeistof vind ik ook evenals Hamburger eene aanzienlijke retentie voor glucose; veel invloed schijnt het koolzuur op de permeabiliteit voor glucose ook hier niet te hebben. Wel kreeg ik den indruk, dat hier een hoge koolzuurspanning de urinevorming belemmerde. Verder zien wij, dat de

„urine” bij deze proeven steeds sterk zuur was, in tegenstelling met de vorige groep, waar zij, in verreweg de meeste gevallen alkalisch reageerde.

Tweede proefreeks (II).

In de proeven dezer reeks wordt, zooals reeds in het eerste hoofdstuk gezegd is, de reactie der doorstroomings-vloeistof gewijzigd door in verschillende verhoudingen primair- en secundair-natriumphosphaat er aan toe te voegen. Ook deze reeks kan in 2 groepen verdeeld worden. In het begin bevatte de vloeistof op 1 L. 2 Gr. phosphaten zonder kristalwater berekend; deze proeven vormen de eerste groep, II A. Om de reactie alkalischer te kunnen maken en vooral om de reactie beter standvastig te kunnen houden, bracht ik dit getal op 3 Gr. per L., groep II B omvat deze proeven. Met 2 Gr. liet namelijk de standvastigheid der reactie te wenschen over, zooals uit de 4 eerste metingen blijkt; daarom moest ik wel het fosphaatgehalte op deze wel zeer overdreven hoogte brengen. De koolzuurspanning van de doorstroomings-vloeistof achtte ik zoo gering, dat ik haar verwaarloosd heb.

II A. Samenstelling der doorstroomings-vloeistof in proef 40 en 41.

NaCl	0,6 ‰
KCl	0,01 ‰
CaCl ₂ anh.	0,013 ‰
glucose	0,05 ‰
ureum	0,02 ‰
NaH ₂ PO ₄ anh.	0,04 ‰
Na ₂ HPO ₄ + 12 aq.	0,392 ‰

In deze vloeistof was de verhouding van het opgeloste aantal moleculen secundair- : primair-phosphaat = 3,5 en de vriespuntsdaling bedroeg $-0,461^{\circ}$. Na proef 41 was deze vloeistof zoo troebel geworden, dat zij voor verdere doorstromingen niet meer gebruikt kon worden. Bij de proeven 42 en 43 werd de samenstelling van de doorstromings-vloeistof in zooverre gewijzigd, dat de verhouding in moleculen van het secundaire- tot het primaire-phosphaat nu op 5 gebracht werd en bovendien het keukenzout slechts tot 0,5 % werd toegevoegd, de vriespuntsdaling bedroeg nu $-0,408^{\circ}$. Deze beide vloeistoffen hebben dus een vriespunt, dat met de gevonden waarde voor kikvorschenbloed overeenkomt. ¹⁾ De volgende tabel geeft de uitkomsten der proeven 40—43.

Proefnummer met datum.	Doorstroo- mings-vloeistof:		Urine:				Opmerkingen:
	P _H	C _H	P _H	C _H	Kool- zuur- spanning	Reduceerend vermogen.	
40) 6 Maart '20	7,15	$0,72 \cdot 10^{-7}$	6,09	$0,81 \cdot 10^{-6}$	0,6 %	—	Venae portae r. niet afgesloten.
41) 8 Maart	6,87	$0,14 \cdot 10^{-6}$	6,76	$0,17 \cdot 10^{-6}$	0,5 %	—	Venae afgesloten.
42) 9 Maart	7,42	$0,38 \cdot 10^{-7}$	6,63	$0,24 \cdot 10^{-6}$	0,2 %	$\left\{ \begin{array}{l} 0,0215 \% \\ \text{en} \\ 0,022 \% \end{array} \right.$	Venae niet afgesloten.
43) 10 Maart	7,16	$0,70 \cdot 10^{-7}$	6,59	$0,26 \cdot 10^{-6}$	0,0 %	—	Venae afgesloten.

Het was mijne bedoeling in deze twee paar proeven den invloed van het afsluiten van de venae portae renales op de reactieverschillen tusschen de doorstroo-

¹⁾ Deze vriespuntbepalingen zijn verricht door H. W. G. De kuyzen, arts, in het physiologisch laboratorium der Veeartsenijkundige Hoogeschool.

mings-vloeistof en de urine na te gaan. De weinig stabiele reactie van de doorstromings-vloeistof maakt de beoordeeling vrij moeilijk; wij zien toch, dat de p_H zoowel bij de proeven 40 en 41 als bij de proeven 42 en 43 wisselingen vertoonen van ongeveer 0,3. In de proeven 42 en 43, waar de urine praktisch dezelfde reactie heeft, loopen de reactieverschillen tusschen urine en doorstromings-vloeistof weinig uit elkaar en zou dus niet veel invloed van het afsluiten te bespeuren zijn, maar de doorstromings-vloeistoffen verschillen 0,26 in de p_H . Op grond van verschillende overwegingen, (zie hierover blz. 76) werd het afsluiten niet noodzakelijk geacht en daarom in het vervolg achterwege gelaten, om de proeven niet noodeloos ingewikkelder te maken. De vena portae renalis ligt namelijk op zenuwen, die bij het afsluiten aangeraakt worden en daardoor de pooten doen bewegen; de geheele kikker beweegt dan en de proef kan mislukken.

Daar de urine niet glucosevrij is, wordt getracht door de vloeistof alkalischer te maken, de retentie voor glucose te verhoogen. Daarom wordt eerst in de volgende 3 proeven 44, 45a en 45b de verhouding der opgeloste moleculen secundair- en primair-phosphaat op 6 gebracht; in de proeven 46a, 46b en 47 wordt alleen 2 Gr. Na_2HPO_4 (anh.) opgelost, hoewel de vloeistof hoe langer hoe troebeler wordt, naarmate de reactie alkalischer wordt. Onder anderen moest daarom voor 47 de doorstromings-vloeistof versch bereid worden. Het bleek verder, dat het reduceerend vermogen van deze doorstromings-vloeistoffen snel verloren ging. In dit alkalische milieu schijnt de zuurstof misschien onder invloed der phosphaten dit te veroorzaken; althans het

reducerend vermogen in karbonaatoplossingen van even sterk alkalische reactie vond ik veel minder veranderlijk. In 46b werd ik namelijk verrast door een suikervrije urine, maar ook de doorstromings-vloeistof bleek bij onderzoek volgens Maclean geen suiker meer te bevatten! In het vervolg werd dan ook de doorstromings-vloeistof onmiddellijk na de bereiding gebruikt en van tijd tot tijd voor alle zekerheid het reducerend vermogen tegelijk met dat van de urine bepaald. De volgende tabel bevat de laatste proeven van deze groep:

Proefnummer met datum.	Doorstromings-vloeistof :			Urine :				Opmerkingen:
	P _H	C _H	$\frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} =$	p _H	C _H	Kool- zuur- spanning	Reduceerend vermogen.	
44) 12 Maart '20	—	—	} = 6	—	—	—	0,031 %	{ Ureumgehalte urine 0,0141 %.
45a) 12 Maart	7,38	$0,42 \cdot 10^{-7}$		6,38	$0,44 \cdot 10^{-6}$	0,0 %	{ 0,019 % en 0,017 %	
45b) 13 Maart	—	—		—	—	—	—	
46a) 16 Maart	7,64	$0,23 \cdot 10^{-7}$	} = ∞	6,17	$0,68 \cdot 10^{-6}$	—	—	{ Ureumgehalte urine 0,0191 %
46b) 17 Maart	—	—		—	—	0,0 %	{ zie tekst	
	Reduceerend vermogen			Zeer geringe urine- vorming.				
47) 18 Maart	0,043 %						0,020 %	1 1/4 uur doorstroomd

Wij zien dus hier, ofschoon de doorstromings-vloeistoffen bijna steeds alkalisch en soms zelfs vrij sterk alkalisch waren, de urines steeds zuur en veelal sterk zuur. Glucose wordt slechts voor een gedeelte tegen gehouden.

II B. Samenstelling der doorstromings-vloeistof in proef 48:

NaCl	0,5 ‰
KCl	0,01 ‰
CaCl ₂ anh.	0,013 ‰
glucose	0,05 ‰
ureum	0,02 ‰
NaH ₂ PO ₄ anh.	0,0286 ‰
Na ₂ HPO ₄ + 12 aq.	0,684 ‰

In deze vloeistof is de verhouding van het opgeloste aantal moleculen secundair- : primair-phosphaat = 8. Het vriespunt moet, naar de samenstelling te oordeelen, wel liggen tusschen de waarden bij de vloeistoffen van II A gevonden. Deze vloeistof is sterk troebel; gedurende de doorstroming vormt zich een neerslag, zoodat filtratie door een watje noodig is, om de bloedvaten van de nier niet te verstoppen. Voor proef 49 had ik aan de doorstromings-vloeistof alleen 3 Gr. Na₂HPO₄ (anh.) toegevoegd; hoewel ik daar om het dikke neerslag te vermijden het CaCl₂-gehalte tot 0,0065 ‰ verlaagd had, was ook deze vloeistof sterk troebel en filtratie door een watje gedurende de proef noodig. Om eene poging te wagen glucosevrije urine met een phosphaathoudende doorstromings-vloeistof te krijgen wilde ik haar sterk alkalisch maken en ik voegde aan een vloeistof, die overigens dezelfde samenstelling had als in 49 op 1 L. 16 cM.³ 0,25 norm. natriumhydroxyde toe. Dit leidde tot eene mislukking; de vloeistof liep zeer slecht door het vaatstelsel, waarschijnlijk door zwelling van de vaten, want zij bleek veel te sterk alkalisch te zijn, en ik kreeg dan ook zeer weinig urine en kon geen reductiebepaling doen (proef 50). Daarom

voegde ik in de volgende proef 51 aan 1 L. doorstroo-
mingsvloeistof van gelijke samenstelling als in proef 49
4 cM.³ 0,25 norm. NaOH toe. Deze vloeistof was ook
sterk opalesceerend en onder de proef vormde zich een
neerslag, zoodat filtratie door een watje noodzakelijk
was, dat eenige malen vernieuwd moest worden. De
volgende tabel bevat de uitkomsten der vier eerste
proeven dezer groep:

Proefnummer met datum.	Doorstroomings- vloeistof:		Urine:			Opmerkingen.
	P _H	C _H	P _H	C _H	Reduceerend vermogen.	
48) 22 Maart '20	7,43	0,38.10 ⁻⁷	6,81	0,16.10 ⁻⁶	$\left\{ \begin{array}{l} 0,040 \% \\ \text{en} \\ 0,039 \% \end{array} \right.$	Koolzuurspanning urine 0.0 %
49) 23 Maart	7,77	0,17.10 ⁻⁷	6,47	0,34.10 ⁻⁶	*) 0,021 %	
50) 24 Maart	10,53	0,29.10 ⁻¹⁰	6,89	1,29.10 ⁻⁷	—	
51) 26 Maart	Reduceerend vermogen		—	—	$\left\{ \begin{array}{l} 0,016 \% \\ \text{en} \\ \pm 0,01 \% \end{array} \right.$	De koolzuurspanning van de urine wordt in het ver- volg niet meer gemeten, daar zij volgens de vier laatste bepalingen niet meer aantoonbaar is.
	0,032 %					

*) Reduceerend vermogen van de doorstrooings-vloeistof 0,0575 %.

De poging om met een alkalische fosphaat-oplossing
een glucosevrije urine te krijgen gaf ik nu op. Immers
om de nier voor glucose te „dichten” zijn Ca-ionen
noodig. Zelfs de geringe hoeveelheid CaCl_2 , die aan
de doorstrooings-vloeistof van proef 49, 50 en 51 is
toegevoegd, blijft niet in oplossing, maar geeft aanlei-
ding tot een vlokkig neerslag van calciumfosphaat.
Het komt mij voor, dat bij aanwezigheid van fosphaten

en bij de hier bruikbare reacties de concentratie der Ca-ionen niet op een zoodanige hoogte kan worden gehouden, als noodig is voor het tegenhouden van glucose. Voor karbonaathoudende oplossingen hebben Rona en Takahashi, zooals boven gezegd (blz. 63), aangetoond, dat de concentratie der calcium-ionen slechts afhankelijk is van die der H-ionen en der HCO_3 -ionen, ten minste als de vloeistof verzadigd is aan calciumcarbonaat. In dit geval toch is de concentratie der CaCO_3 -moleculen standvastig en dus gebruik makende van de reeds herhaaldelijk gebruikte schrijfwijze:

$$[\text{Ca}] [\text{CO}_3] = K [\text{CaCO}_3] = K_1, \text{ maar ook is}$$

$$[\text{H}] [\text{CO}_3] = K_2 [\text{HCO}_3] \text{ en dus } [\text{CO}_3] = K_2 \frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{H}]}$$

$$\text{en dus ook: } [\text{Ca}] = K_3 \frac{[\text{H}]}{[\text{HCO}_3]}.$$

Op analoge wijze kan men afleiden, dat in fosphaat-oplossingen de concentratie der calcium-ionen afhankelijk is van die der H-ionen en der fosphaat-ionen, als de oplossingen verzadigd zijn aan calciumfosphaat. Bij de in ons geval in aanmerking komende reacties zijn de vloeistoffen ongetwijfeld, bij overmaat van calciumzout, wel steeds verzadigd aan het secundaire calciumfosphaat en, vooral als de reactie wat alkalisch begint te worden, zeker ook aan het tertiaire calciumfosphaat. Daarbij is dan dus: $[\text{Ca}] [\text{HPO}_4] = K [\text{CaHPO}_4] = K_1$ en $[\text{Ca}]^3 [\text{PO}_4]^2 = K_2 [\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2] = K_3$.

Verder is:

$$K_4 [\text{H}_2\text{PO}_4] = [\text{H}] [\text{HPO}_4] \text{ en } K_5 [\text{HPO}_4] = [\text{H}] [\text{PO}_4]$$

$$\text{en dus: } [\text{Ca}] = K_6 \frac{[\text{H}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} \text{ en } [\text{Ca}]^3 = K_7 \frac{[\text{H}]^2}{[\text{HPO}_4]^2}$$

Wanneer men dus een voldoende hoeveelheid kalk-

zout heeft toegevoegd, om verzadiging aan de kalkphosphaten te bereiken, moeten de gegeven betrekkingen vervuld zijn, en is dus de concentratie der Ca-ionen, evenals bij aanwezigheid van karbonaat door de H- en HCO_3^- -ionen, geregeld door die der H-ionen en der H_2PO_4^- en HPO_4^- -ionen. Ongetwijfeld is echter de concentratie der Ca-ionen bij aanwezigheid van phosphaten, bij dezelfde reactie veel geringer dan bij aanwezigheid van karbonaten, dit hangt samen met de uiterst geringe oplosbaarheid dezer calciumphosphaten.

De laatste proeven geschieden met een zure doorstromings-vloeistof, waarbij volledigheidshalve het reduceerend vermogen van de urine nog bepaald werd. Het reduceerend vermogen van de urine was hierbij hoog, de glucose wordt nagenoeg geheel doorgelaten. In proef 53 werd nog getracht met de dubbele hoeveelheid chloorcalcium het glucosegehalte van de urine iets te verlagen. Dit had, zooals wel te verwachten was in verband met de boven gegeven beschouwingen, geen succes, trouwens de doorstromings-vloeistof werd dadelijk na het toevoegen van het chloorcalcium onder flink roeren troebel en onder de proef vormde zich een vlokkig neerslag, dat met wattepropjes moest tegengehouden worden. Ik laat hier de samenstelling der doorstromings-vloeistof dezer proeven volgen:

NaCl	0,5 ‰
KCl	0,01 ‰
CaCl_2 anh.	0,013‰ (bij proef 53 0,026 ‰)
glucose	0,05 ‰
ureum	0,02 ‰

NaH_2PO_4 (anh.)	0,1375‰	} proef 52		0,109 ‰	} proef 53		0,188 ‰	} proef 54a en 54b
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ aq.}$	0,409 ‰			0,482 ‰			0,281 ‰	

De verhouding tusschen de opgeloste hoeveelheden secundair- en primair-phosphaat was zóó gekozen, dat in proef 52 $\frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} = 1$, in proef 53 gelijk aan 1,5 en in 54a en b gelijk aan 0,5 was.

De uitkomsten van deze laatste proeven vermeldt de volgende tabel:

Proefnummer met datum.	Doorstroombings- vloeistof :		Urine:			Opmerkingen:
	P _H	C _H	P _H	C _H	Reduceerend vermogen.	
52) 29 Maart '20	6,75	0,18.10 ⁻⁶	6,07	0,85.10 ⁻⁶	$\left\{ \begin{array}{l} 0,034\% \\ \text{en} \\ 0,034\% \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Afscheiding van urine scheen} \\ \text{normaal te gaan, in 1 uur aan} \\ \text{elke zijde ongeveer } 0,4 \text{ cM}^3. \\ \text{urine verkregen. Geen zwelling} \\ \text{van de organen kon worden} \\ \text{waargenomen.} \end{array} \right.$
53) 30 Maart '20	6,88	0,13.10 ⁻⁶	6,36	0,43.10 ⁻⁶	0,035%	$\left\{ \begin{array}{l} \text{In } \frac{3}{4} \text{ uur aan elke zijde onge-} \\ \text{veer } 0,3 \text{ cM}^3. \text{ urine verkregen.} \end{array} \right.$
54a) 31 Maart	6,45	0,35.10 ⁻⁶	5,79	0,16.10 ⁻⁵	0,031%	$\left\{ \begin{array}{l} \text{In } \frac{3}{4} \text{ uur aan elke zijde onge-} \\ \text{veer } 0,3 \text{ cM}^3. \text{ urine verkregen.} \end{array} \right.$
54b) 1 April	—	—	ureumgehalte : 0,0167 %			

BESCHOUWING DER VERKREGEN UITKOMSTEN.

Bij de bespreking der verkregen uitkomsten wil ik in de eerste plaats er op wijzen, dat de „urines” die ik bij mijn proeven verkreeg, naar mijn meening, vrijwel geheel als glomeruli-producten zijn te beschouwen. Hamburger en zijn leerlingen konden geen invloed

bespeuren bij hunne proeven van het afbinden der vena portae renalis op het glucose-gehalte der urine. Ik zelf kon dit bevestigen en vond verder, dat deze afbinding ook aan het ureum-gehalte niets verandert (proeven 34 en 35). Bij de door Hamburger en zijn leerlingen en ook door mij gevolgde methode van doorstroming worden de tubuli dus zeer waarschijnlijk niet of nauwelijks doorstroomd; de doorstromings-vloeistof bereikt de venae portae renales ternauwernood bij deze wijze van werken.

Gaan wij nu over tot een nadere bespreking van de uitkomsten. Ik deed dus proeven met kikkernieren met twee reeksen van doorstromings-vloeistoffen. Deze bevatten steeds 0,01 percent kaliumchloride, verder natriumchloride en wel 0,5 of 0,6 percent al naar dit voor het bereiken van den gewenschten osmotischen druk vereischt werd. Verder bevatten de vloeistoffen wisselende hoeveelheden calciumchloride, d.w.z. deze waren toegevoegd, maar door het ter vastlegging van de reactie opgeloste hydrokarbonaat, resp. fosphaat vond steeds een omzetting plaats en ontstond na langeren of korteren tijd een neerslag, zoodat de vloeistoffen wel steeds verzadigd konden worden geacht aan calciumkarbonaat, resp. calciumfosphaat. De reacties van de doorstromings-vloeistoffen werden nu voor elke proef vastgelegd en wel in de eerste reeks door telkens wisselende hoeveelheden koolzuur op te lossen naast een bepaalde hoeveelheid natriumhydrokarbonaat en wel in groep IA 0,285 percent, dat is dus 0,034 molec. NaHCO_3 per liter, in groep IB 0,09 percent, of 0,011 mol. p. liter. In de tweede reeks werd de reactie in de verschillende doorstromings-vloeistoffen bepaald door telkens wisse-

lende verhoudingen van primair- en secundair-natriumphosphaat op te lossen. In groep IIA totaal 2 gram per liter, in groep IIB 3 gram. De moleculaire concentratie kan hierbij op ongeveer 0,015 resp. 0,023 gesteld worden. Het ware zeker meer in overeenstemming met den natuurlijken toestand geweest, wanneer ik in één doorstroombings-vloeistof hydrokarbonaat en fosphaat samen had gebruikt, en dan van het laatste een veel kleinere concentratie, maar aangezien het mij niet mogelijk was, een nadere analyse van de urine te maken, aangaande het gehalte aan karbonaat en fosphaat heb ik deze twee soorten van bufferstoffen afzonderlijk gehouden.

Ik behoef hier er wel niet aan te herinneren, dat deze wijze van doorstroomben allermintst physiologisch is, een dergelijke vloeistof zonder eiwit en zonder de talloze andere stoffen die in het bloed voorkomen, heeft ongetwijfeld een geheel anderen invloed op de nieren dan het natuurlijke bloed. Deze omstandigheid, alsmede de bovengenoemde, dat bij mijn proeven alleen de glomeruli in aanmerking komen, moet dus ter dege in het oog worden gehouden bij de beoordeeling, evenals het feit, dat ik slechts met kikvorschen werkte. Er komt echter nog iets bij. Om de werking der nieren goed te beoordeelen, is het ook noodig, de snelheid van afscheiding te weten en deze kon ik slechts bij benadering vaststellen. Bij de kleine volumina, waarmede ik te maken had, was dit niet nauwkeurig te doen. Zeker bestonden er groote verschillen in de diurese, zoo vond ik bij groep IB veelal een geringe diurese.

Ten einde mij omtrent de werking der nieren nog een zoo goed mogelijk denkbeeld te vormen, voegde ik aan de doorstroombings-vloeistoffen nog een weinig

glucose (meestal 0,05 percent) en ureum (0,02 percent) toe en bepaalde het gehalte der urine aan deze stoffen in die gevallen, waarbij mij dat mogelijk was. Ik meende de werking der nieren vooral dan als „normaal” te kunnen beschouwen, wanneer suiker werd tegengehouden, ureum afgescheiden. Daar wij evenwel weten, dat het vermogen der nieren ter afscheiding van verschillende stoffen volstrekt niet voor al deze gelijkelijk gestoord behoeft te zijn, maar dat integendeel deze functies van de nieren meer of minder onafhankelijk van elkaar zijn, is het zeer goed mogelijk, dat nieren, die suiker meer of minder doorlieten, toch voor mijn doel nog als normaal werkend konden worden beschouwd en omgekeerd.

Zooals in de inleiding gezegd, had mijn onderzoek ten doel, stelselmatig na te gaan den invloed van wijzigingen van de reactie van de doorstromings-vloeistof op die van de urine. Ik hoopte daardoor dan eenig inzicht te krijgen in de beteekenis van de werkelijke (actueele) reactie der urine onder normale en vooral pathologische omstandigheden. Omtrent deze beteekenis toch is ons tot dusver nog niet veel bekend. Uit het zoeven gezegde is den lezer wel duidelijk, dat mijn proeven slechts een voorloopige, kleine, bescheiden bijdrage kunnen geven tot de kennis omtrent het genoemde verband.

Ik veronderstelde aanvankelijk de mogelijkheid, dat kleine veranderingen in de reactie der doorstromings-vloeistof, wellicht, althans in sommige gevallen, gepaard zouden gaan met groote veranderingen in die van de urine, wij weten immers hoe klein de reactie-veranderingen van het bloed zijn, en hoe groot die van de urine kunnen zijn. Evenwel, bij mijn proeven vond ik dit niet, en om dan ook een zoo goed mogelijk beeld te

verkrijgen, heb ik het gewaagd, de reactie van de doorstroomings-vloeistof veel sterker te laten wisselen, dan dit ooit in het normale lichaam kan voorkomen. Natuurlijk maakt ook deze omstandigheid, dat wij de uitkomsten zeer voorzichtig moeten beoordeelen. Ik behoef er hier wel niet op te wijzen, dat in het lichaam van mensch of dier, wanneer daar onder pathologische omstandigheden eens duidelijke veranderingen tot stand komen in de reactie van het bloed, dit wel steeds gepaard gaat met het overgaan in het bloed van een aantal stoffen, organische zuren bijv., die normaal niet, of althans in veel kleinere hoeveelheden daarin worden aangetroffen. Dit gebeurde natuurlijk bij mijn proeven niet, en toch is het heel goed mogelijk en zelfs wel waarschijnlijk, dat juist door deze stoffen in vele gevallen een invloed op de reactie van de urine wordt geoeffend. Intusschen meen ik toch, dat de uitkomsten van mijn proeven, die dan toch in alle geval dit voordeel hebben, dat zich de samenstelling van de doorstroomings-vloeistof goed laat overzien, al wel de vermelding waard zijn.

Wanneer wij het tegenhouden van suiker en afscheiden van ureum, althans niet tegenhouden hiervan, als een kenteeken van eenigermate normale werking der nieren mogen beschouwen, dan blijkt, dat in een goed deel der proeven deze werking „normaal” of althans meer of minder normaal is geweest. Dit was dan geheel het geval in de groote groep IA (gehalte der doorstroomings-vloeistof aan NaHCO_3 0,285 percent of 0,034 mol. p. liter). Hoewel hier de koolzuurspanning zeer sterk wisselde, van zeer laag in proef 22, tot 3,6 percent in proef 34 en zelfs tot 9,4 percent in proef 35 en de reactie daarbij begrijpelijkerwijze eveneens

zeer sterk veranderde en wel van $C_H = 0,30 \cdot 10^{-8}$ tot $0,55 \cdot 10^{-7}$ en dus van vrij sterk alkalisch tot bijna neutraal, bleef de „urine” suikervrij en werd het ureum steeds ongehinderd doorgelaten. Dit is op zich zelf zeker wel eigenaardig en ik verwachtte het aanvankelijk niet. Men is geneigd, voor dit tegenhouden van stoffen door de nier een grooten invloed toe te schrijven naast de reactie, aan de verhouding van de verschillende kationen. Men denkt daarbij dan dus aan de verhouding van vooral de Na-, K- en Ca-ionen. Door het toenemen nu van het gehalte aan koolzuur veranderen de concentraties der Na- en K-ionen zeker praktisch niet. Maar niet alzoo die der Ca-ionen. Zooals wij boven zagen, hebben wij in deze doorstromings-vloeistoffen, die verzadigd aan CaCO_3 kunnen worden verondersteld, de betrekking: $[\text{Ca}] = K \frac{[\text{H}]}{[\text{HCO}_3]}$.

De $[\text{HCO}_3]$ wordt bepaald door de concentratie van het natriumhydrokarbonaat, en deze ondergaat bij wisseling van het koolzuurgehalte slechts onbeduidende verandering. Maar de $[\text{H}]$ wisselt van $0,30 \cdot 10^{-8}$ tot $0,55 \cdot 10^{-7}$ en zoo moet dus het gehalte aan calcium-ionen eveneens, in deze proefreeks, ruim 18 maal grooter worden. En toch wordt de glucose steeds tegengehouden.

In groep IB met 0,09 percent NaHCO_3 of 0,011 mol. p. liter, wordt van de suiker steeds nog een aanzienlijk gedeelte tegengehouden, zeker meer dan de helft, maar het ureum wordt misschien niet geheel doorgelaten (proef 36b). Ook in deze groep schijnt de retentie der glucose vrijwel onafhankelijk van de reactie, die hier wisselt van $0,33 \cdot 10^{-7}$ tot $0,15 \cdot 10^{-6}$. In deze groep is, door de kleinere con-

concentratie der HCO_3 -ionen, over 't algemeen de concentratie der calcium-ionen zeker wel grooter dan in groep IA. De anionen spelen ongetwijfeld bij dit proces van tegenhouden of doorlaten ook een groote rol.

In de groepen IIA en IIB wordt de glucose eveneens niet geheel tegengehouden, maar in de meeste gevallen toch nog wel voor ongeveer de helft. Zooals boven besproken, vond ik, dat de suiker, althans het reduceerend vermogen, in de met zuurstof verzadigde fosphaatoplossingen, vooral in de alkalische, vrij snel verdwijnt. Men zou kunnen veronderstellen, dat dit proces, dat in vitro reeds zoo gemakkelijk plaats vindt, bij het doorstroomen der nieren met dergelijke fosphaatoplossingen in de cellen nog sneller plaats vindt en dat dus het slechts ten deele terugvinden van de suiker in de urine berust op omzetting, niet op terughouden. Was dit niet het geval, dan zou men den indruk krijgen, dat bij deze proefreeksen de reactie wel van invloed is op het doorlaten van suiker. Immers in proef 51, met een zeker vrij sterk alkalische reactie van de doorstromingsvloeistof is het reduceerend vermogen der urine slechts 0,01 tot 0,016 percent, terwijl in proeven 52-54, met een zure doorstromings-vloeistof dit ruim 0,03 percent bedraagt. Dit zou dan beteekenen, dat een laag gehalte aan calciumionen voor de ondoorgankelijkheid voor suiker gunstig is, althans niet nadeelig, want zooals boven afgeleid, ook in de fosphaatoplossingen is de concentratie der Ca-ionen afhankelijk van de reactie; zij is hier over 't algemeen echter veel lager dan in de karbonaatoplossingen en in de alkalische oplossingen zeker uiterst klein. Het ureum wordt ook bij de fosphaatoplossingen nergens duidelijk tegengehouden, hoewel

in een paar gevallen een aanduiding daarvoor werd gevonden. Dit dus wat betreft de boven door mij gestelde criteria voor een meer of minder normale werking der nieren.

Beschouwen wij dan nu eens de met de verschillende doorstroomings-vloeistoffen verkregen glomeruli-„urines” nader, dan treft ons wel in de eerste plaats, dat steeds de urine een grootere concentratie der waterstofionen heeft, dan de vloeistof, die haar heeft te voorschijn geroepen. Dit is, zooals gezegd, steeds het geval, ook bij de alkalische vloeistoffen. Dit is wel niet, zooals ik verwacht had. Men is geneigd te meenen, dat de nier zoo doelmatig mogelijk de doorstroomings-vloeistof, wat haar reactie betreft, zou regelen. Men zou dus bij een alkalische vloeistof een nog sterker alkalische urine verwacht hebben, evenals bij de zure vloeistof een nog sterker zure urine, doch alleen het laatste bleek het geval te zijn. Dit maakt dan ook, dat om een duidelijke alkalische urine te krijgen, de doorstroomings-vloeistof vrij sterk alkalisch moet zijn, ofschoon wij weten, dat bij den mensch en de hoogere dieren het door het gebruik van alkaliën, waardoor ongetwijfeld de actuëele reactie van het bloed toch nog slechts zeer zwak alkalisch wordt, gemakkelijk gelukt, de urine duidelijk alkalisch te krijgen. In dit opzicht zijn de proeven met een aan hydrokarbonaat arme doorstroomings-vloeistof eigenaardig. In proef 36a bijv. is de doorstroomings-vloeistof duidelijk alkalisch, $p_H = 7,48$, de urine echter sterk zuur, $p_H = 6,15$. De koolzuurspanning is in de urine onveranderd gebleven en dus ook het gehalte aan H_2CO_3 . Hier missen wij nu wel een nadere analyse van de samenstelling van de urine en eveneens een

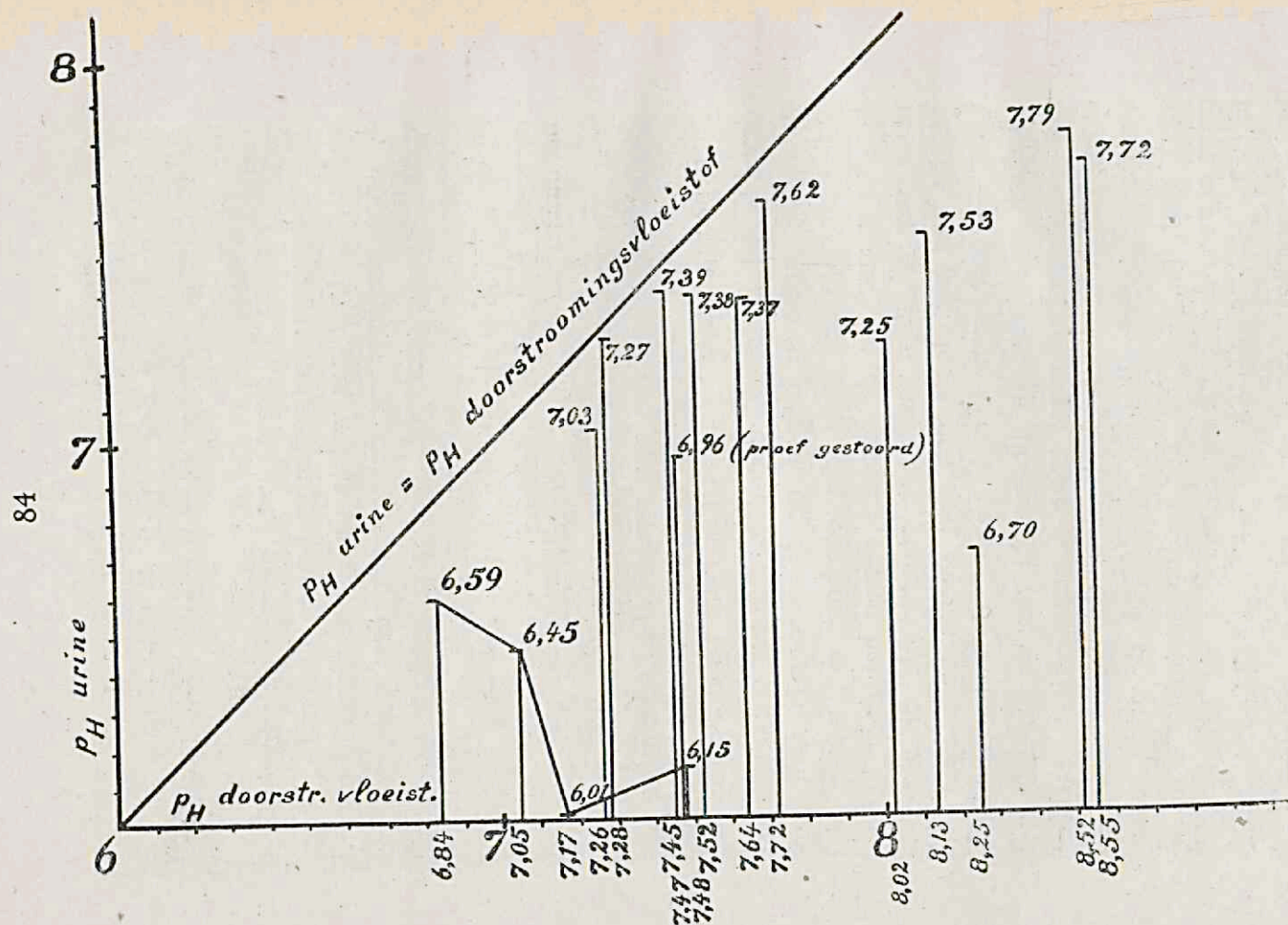


Fig. 5. Reeks I graphisch voorgesteld. De punten van groep I B zijn door een lijn verbonden.

nader inzicht in de reactie en de samenstelling van de vloeistof, nadat deze de nieren heeft gepasseerd. Maar wij kunnen ons toch wel niet anders voorstellen, dan dat hier de reactie van de doorstroomings-vloeistof door de werking der glomeruli nog meer alkalisch is geworden.

In de tweede plaats treft ons bij onze uitkomsten, dat met kleine veranderingen van de reactie der doorstroomings-vloeistof over 't algemeen geen groote veranderingen in die van de urine gepaard gaan, ook niet waar men die nog het meest zou verwachten, namelijk wanneer de vloeistof kleine veranderingen ondergaat in de buurt van de natuurlijke, dus bijna neutrale reactie. Evenals wel steeds bij proeven met organismen hebben wij ook hier te doen met onregelmatigheden door den verschillenden aard en toestand der proefdieren. Maar niettegenstaande de moeilijkheden, die door deze onregelmatigheden worden veroorzaakt, meen ik toch wel gerechtigd te zijn tot de genoemde meening. Maar voor den gang van zaken in het normale ongeschonden dier, en vooral voor dien bij den mensch en de hogere dieren kan men in dit opzicht uit mijn uitkomsten natuurlijk niet veel besluiten.

Om een gemakkelijk overzicht van mijne uitkomsten te krijgen heb ik deze in twee figuren graphisch voorgesteld. Figuur 5 geeft die van de reeks I, figuur 6 die van de reeks II. Hier is op de abscis afgezet de reactie (p_H) van de doorstroomings-vloeistof, op den ordinaat die van de daarbij behorende urine. Wanneer deze reacties steeds gelijk waren, zouden wij een rechte lijn krijgen, door den oorsprong gaande. Deze lijn is in de figuren geteekend en men kan daardoor

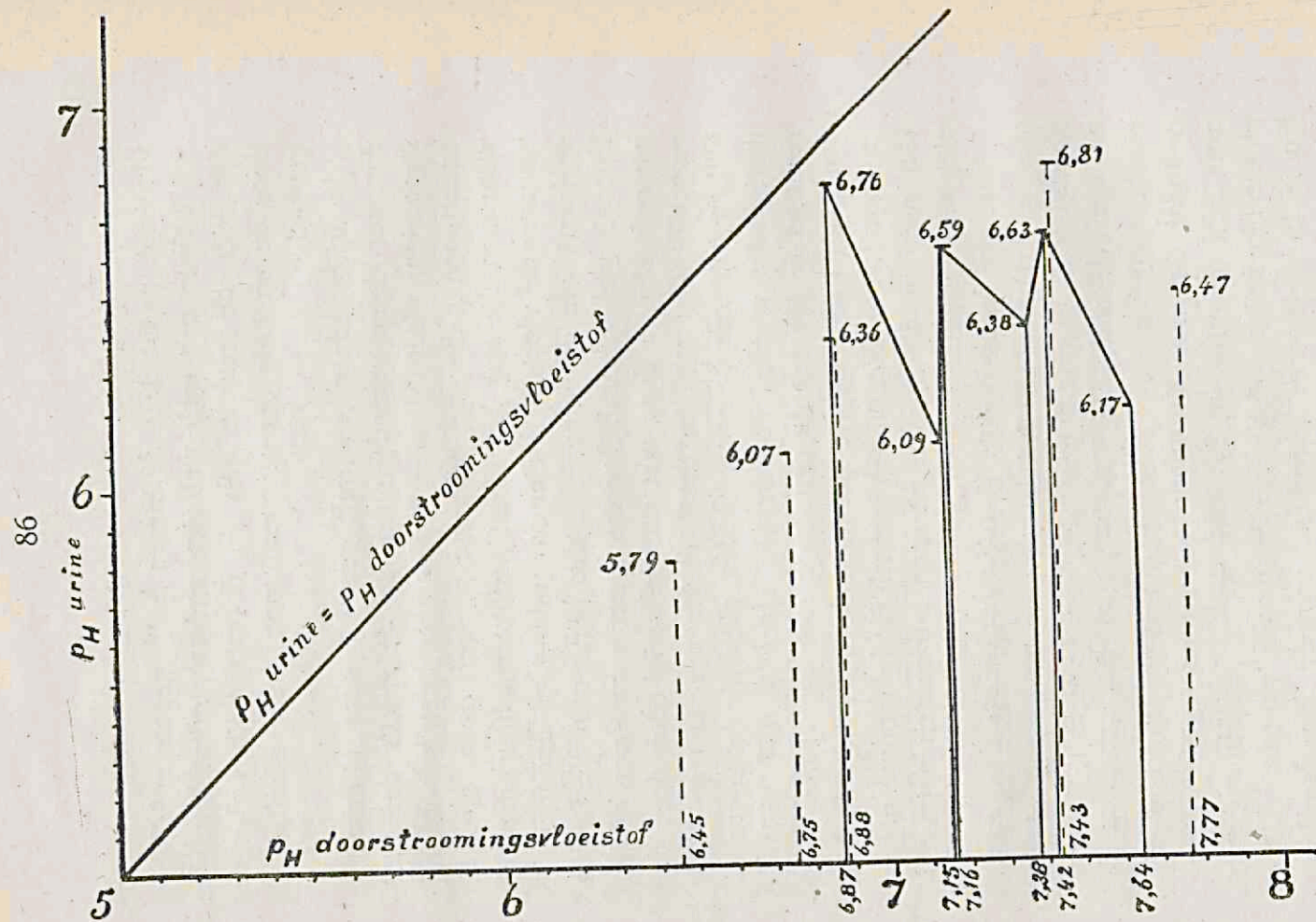


Fig. 6. Reeks II graphisch voorgesteld. De punten van groep II A zijn door een lijn verbonden; hun absciscijfers staan onder de as vermeld, die van II B er boven.

met één oogopslag zien, in hoever de reacties van doorstromings-vloeistoffen en bijbehorende urines uiteenloopen. Zoo zien wij onmiddellijk, dat alle urines zuurder zijn, dan de bijbehorende doorstromings-vloeistoffen.

Ik zeide boven reeds, dat de reactie van een min of meer sterk alkalische doorstromings-vloeistof door de werking der nieren, van de glomeruli althans, niet naar de normale, bijna neutrale, schijnt verschoven te worden. Maar beter ongetwijfeld slaagt de nier er in een zure reactie naar de normale te verschuiven. In dit opzicht kan de nier zeer krachtig werkzaam zijn en zelfs bij zeer zure doorstromings-vloeistoffen is de urine soms nog aanmerkelijk sterker zuur. Zeer duidelijk is dit wel bij de proeven met fosphaatoplossingen; in proef 54 bijv. slaagt de glomerulus er in bij de sterk zure reactie van de vloeistof, $pH = 6,45$, een nog veel sterker zure urine, $pH = 5,79$, af te scheiden. Het blijkt dus wel zeer duidelijk, hoezeer de glomeruli van de (kikvorsch)nieren er op zijn ingericht, zure stoffen af te scheiden. Bij deze beschouwing richten wij als vanzelf onze aandacht op het koolzuurgehalte van de urine. Bij de functie der nier-cellen wordt koolzuur gevormd en men zou zich kunnen voorstellen, dat de grootere concentratie der urine aan H-ionen zou moeten worden toegeschreven geheel of althans voor een deel aan dit koolzuur. Ongetwijfeld heeft dit aldus gevormde koolzuur wel eenigen invloed, maar de koolzuurspanning van de urines in de proefreeks II, dus met fosphaten, is uiterst gering, zoo zelfs, dat ik dezelve grootte veelal niet kon bepalen. Hierdoor wordt het dus wel waarschijnlijk, dat de hoogere zuurgraad van de urine voor 't grootste deel moet

worden toegeschreven aan de afscheiding uit de doorstroomings-vloeistof van stoffen met zure eigenschappen.

In de figuren 5 en 6 zijn de reacties der urines van groep IB en van IIA door een lijn vereenigd. Deze lijnen zijn vrij grillig gevormd. De loop van de lijn van IB is al zeer zonderling; hier zou bij het zuurder worden van de doorstroomings-vloeistof de urine minder zuur worden. Het is wel waarschijnlijk, dat hier onregelmatigheden door den toestand der proefdieren in het spel zijn, maar het is ook mogelijk, dat bij dit lager gehalte aan hydrokarbonaat en hoog koolzuurgehalte de nier meer en meer abnormaal gaat werken, zoodat de urine in samenstelling begint te naderen tot die van de vloeistof. Hier zou misschien weer tegen pleiten, dat in proef 39a de koolzuurspanning van de urine aanmerkelijk lager is dan die van de doorstroomings-vloeistof. In alle geval is aan het beloop van deze lijn van IB niet veel te hechten. Het grillige beloop van de lijn van IIA is zeker wel voor een goed deel toe te schrijven aan het niet goed gefixeerd zijn van de reactie van de doorstroomings-vloeistoffen bij het betrekkelijk lage gehalte aan phosphaten (2 Gr. per liter). Beschouwen wij den gang der reacties in IA, dan neigen wij er toe, aan te nemen, dat ook hier, bij het grooter worden van de koolzuurspanning, de reacties van urine en doorstroomings-vloeistof tot elkaar naderen. Maar zeer duidelijk is dit verschijnsel niet en in IIB is dit laatste zeker wel niet het geval bij het zuurder worden van de doorstroomings-vloeistof, hoewel toch ook hier de afwijkingen niet grooter worden, wat wij aanvankelijk hadden verwacht.

Wij zien, dat de zuurste reactie van de urine werd

gevonden in proef 54a (phosphaat-proef) en de meest alkalische in proef 22 (karbonaat-proef). Deze uiterste reacties waren: $p_H = 5,79$ of $C_H = 0,16 \cdot 10^{-5}$ en $p_H = 7,79$ of $0,16 \cdot 10^{-7}$; deze schijnen nog volstrekt niet „onphysiologisch” te zijn, bij den mensch althans vond Ringer waarden van zelfs $0,1 \cdot 10^{-4}$ en wat de alkalische reacties betreft ook waarden, die niet veel verschillen van de hier gevondene, n.l. $0,29 \cdot 10^{-7}$.

Zooals gezegd, kon ik van de „urines” geen nader onderzoek naar de samenstelling verrichten. Evenwel kunnen wij met behulp van de in de inleiding vermelde beschouwingen toch nog eenig nader inzicht krijgen omtrent de afscheiding door de glomeruli van de de reactie bepalende stoffen, in de eerste reeks zijn dit natriumhydrokarbonaat en koolzuur, in de tweede primair- en secundair-phosphaat. Er komen daarbij nog wel bijzonderheden aan den dag, die de moeite der vermelding waard zijn. Beschouwen wij eerst eens groep IA, de groep met $0,034$ mol. NaHCO_3 per liter in de doorstroomings-vloeistof. Wij zien dan, dat vooral in de buurt van de natuurlijke reactie de verschillen tusschen deze vloeistof en de afgescheiden urines over 't algemeen niet zeer groot zijn, wat de reactie betreft. Bij sterker alkalische reacties worden deze verschillen groter, het schijnt, dat de graad van alkaliteit van de urine moeilijk boven een zekere grens kan komen. Vergelijken wij nu daarmee eens proef 36a van IB, met een doorstroomings-vloeistof van slechts $0,011$ mol. NaCHO_3 per liter, dan zien wij zeer belangwekkende verschillen. In deze proef toch, waar deze vloeistof eveneens een tamelijk normale reactie had, was deze bij de urine zeer sterk verschillend.

	reactie doorstroom.vl.	reactie urine
proef 28 (IA)	$p_H = 7,47 \quad C_H = 0,34 \cdot 10^{-7}$	$p_H = 6,96 \quad C_H = 1,08 \cdot 10^{-7}$
„ 36a (IB)	„ 7,48 „ $0,33 \cdot 10^{-7}$	„ 6,15 „ $0,71 \cdot 10^{-6}$

En berekenen wij met behulp van de vergelijking:

$$\frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = \frac{K}{[\text{H}]} \text{ waarin dus } [\text{HCO}_3] \text{ de concentratie}$$

der hydrokarbonaationen, dus van het natriumhydrokarbonaat, en $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ die van het koolzuur voorstelt, terwijl K de dissociatie-constante volgens de laatste opgave $4,4 \cdot 10^{-7}$, is, deze verhouding voor doorstromings-vloeistof en urine, dan vinden wij:

	$\frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$
	doorstroom.vl. urine
proef 28	13 4,1
„ 36a	13,3 0,62

De koolzuurspanningen in proef 28 van vloeistof en urine zijn 5,6 en 4,8 percent, in proef 36a zijn zij gelijk en wel 1,6 percent. Zien wij van het toch ook betrekkelijk geringe verschil in proef 28 af, dan zien wij, dat hier de concentratie in de urine aan natriumhydrokarbonaat ruim 3 maal kleiner is dan in de doorstromings-vloeistof, maar in proef 36a is de urine bijna 22 maal armer aan karbonaat dan de doorstromings-vloeistof. Hier blijkt dus wel zeer duidelijk, hoe de glomeruli er naar streven, om bij een gering gehalte aan alkali, (natriumhydrokarbonaat) dit zooveel mogelijk tegen te houden. Wanneer de doorstromings-vloeistof drie maal armer wordt aan hydrokarbonaat, dan wordt de „urine” ongeveer 21 maal armer daar aan. Het is wel duidelijk, dat wanneer men het verband tusschen reacties van doorstromings-vloeistof en urine wil onder-

zoeken, men moet zorgen, dat het gehalte aan voor de reactie van beteekenis zijnde anionen standvastig blijft. Men kan geen proeven van IA en IB in dit opzicht samenvoegen. Ik laat hier voor nog een paar proeven met karbonaatoplossingen de genoemde verhoudingen volgen:

	$\frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$		koolzuurspann. percent.	
	doorstr.vl.	urine	doorstr.vl.	urine
proef 22	147,0	28,0	zeer laag	geschat op 2
„ 30	19,1	10,2	4,2	3,9
„ 33	8,3	8,1	6,7	5,9

Wij zien hier nog eens weer het verschijnsel, dat reeds besproken is, dat ook bij de sterker alkalische doorstroomings-vloeistoffen de nier het alkali schijnt terug te houden en wij zien hier ook, dat bij omstreeks normale reactie merkwaardiger wijze dit verschijnsel afneemt. In alle geval blijkt dus, dat in onze proeven de glomeruli van de kikvorsch-nier over 't algemeen het alkali (NaHCO_3) tegenhouden, vooral wanneer het gehalte aan NaHCO_3 laag is; door de in mijn proeven daarbij veelal gevonden geringe diurese wordt dan de afscheiding van dit alkali nog meer beperkt.

Beschouwen wij ten slotte de uitkomsten der fosfaat-proeven van dit gezichtspunt, dan vinden wij die in IIA wel wat onregelmatiger dan in IIB, een verschijnsel, dat ik reeds besprak, maar over 't geheel vind ik niet zulke groote verschillen in deze uitkomsten der groepen IIA en IIB als ik die vond bij de groepen IA en IB. Nu verschillen de concentraties der fosphaten in de groepen IIA en IIB ook betrekkelijk slechts weinig. Evenwel krijg ik toch ook hier den indruk,

dat bij gelijke reactie van doorstroomings-vloeistof, die met het kleinste gehalte aan phosphaten de zuurste urine geeft (afgezien van proef 41). Wanneer ik ook hier eens de verhouding bereken tusschen de concentraties van het alkalisch en zuur gedeelte van het buffermengsel, hier dus het secundaire en het primaire phosphaat, of de ionen HPO_4 en H_2PO_4 , met behulp van de in de inleiding vermelde vergelijking:

$$\frac{[\text{HPO}_4]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} = \frac{K}{[\text{H}]}$$
 waarin nu K de dissociatie-constante van het ion H_2PO_4 , die $0,83 \times 10^{-7}$ is, dan vinden wij:

	$\frac{[\text{HPO}_4]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} =$	
	doorstroom.vl.	urine
proef 48	2,19	0,52
„ 53	0,64	0,20
„ 54a	0,24	0,052

En wij zien hier dan zeer duidelijk, hoezeer de glomerulus het zure ion H_2PO_4 gemakkelijker afscheidt dan het ion HPO_4 . Daar ik de totale concentratie in de urine niet ken, kan ik ook niet nagaan, hoe het staat met de werkelijk afgescheiden hoeveelheden. Wel meen ik, dat het vermogen, het ion H_2PO_4 af te scheiden en dus een veel zuurdere urine te leveren dan de doorstroomingsvloeistof, nog meer ontwikkeld is, dan om uit de karbonaatoplossingen een sterker zure vloeistof af te scheiden. Ook in proef 54a is de urine veel sterker zuur dan de doorstroomings-vloeistof, terwijl in proef 39a het verschil veel kleiner is, hoewel daar de reactie nog lang niet zoo zuur is, als in proef 54a.

Ook de kikkorsch-glomerulus zou dus in het bijzonder in staat zijn een „zuurder” worden van het bloed te

voorkomen door afscheiding van fosphaat, het zout dat ook bij den mensch bij voorkeur daarvoor wordt gebruikt, hoewel de concentratie daarvan in het bloed zeer klein is.

Met inachtneming van alles, wat omtrent de betekenis van mijn uitkomsten boven is uiteengezet, is het dus gebleken, dat de glomeruli van de kikvorsch-nier slechts in staat zijn reguleerend voor de reactie van het „bloed” te werken, wanneer deszelfs reactie naar den zuren kant is verschoven. Daarbij is niet gebleken, dat een kleine verhooging der concentratie der H-ionen aanleiding geeft tot een veel grootere verhooging in de urine, m.a.w. geen snel intreden van de reguleering, zoodra de reactie van het bloed een weinig in genoemden zin is veranderd. Wel is gebleken, dat de glomeruli van de buffer-mengsels het „alkalisch gedeelte”, het hydrokarbonaat en het secundaire fosphaat veel minder gemakkelijk doorlaten dan het zure gedeelte, het koolzuur of het primaire fosphaat. Dit verschil komt sterk aan den dag, wanneer de concentratie van het buffer-mengsel klein wordt. Alsdan schijnt de glomerulus het alkalisch gedeelte hardnekkig tegen te houden.

Tot mijn spijt ontbreekt mij den tijd en de gelegenheid, deze onderzoekingen verder voort te zetten, hoewel de uitkomsten daartoe wel zeer uitlokken. Door voortgezet onderzoek, komt ongetwijfeld het nu nog eenigszins eigenaardige gedrag van de kikvorsch-nier in een helderder licht.

STELLINGEN.

1. Het is niet waarschijnlijk, dat schommelingen van de waterstofionenconcentratie van het bloed in de eerste plaats verantwoordelijk moeten worden gesteld voor de groote wisselingen in de actueele reactie der urine.

2. Micromethoden om van het bloed het reduceerend vermogen en het ureumgehalté te bepalen, kunnen voor klinische doeleinden voldoende nauwkeurig zijn.

3. Bij collaps geve men geen adrenaline.

4. Het voorschrijven van zouteloos diët ter voorkoming van habitueelen abortus is voorbarig.

5. De anaphylactische shock wordt veroorzaakt door een verandering in den physischen toestand van colloïdale stoffen, die in het bloed voorkomen.

6. Bij spondylitis tuberculosa verdient de operatie van Albee aanbeveling.

7. Voor de dystrophia adiposo-genitalis heeft een laesie van centra in de omgeving van den derden ventrikel groote beteekenis.

8. Op de thyreoïdea hebben zenuwen een secretorische functie.

9. De opvatting van Birch-Hirschfeld, dat de intermitteerende exophthalmus door een belemmerde veneuze afvoer ontstaat, is niet aannemelijk.

10. De spekstolsels in het hart zijn agonale producten.

11. Bij zuigelingen kan koorts een alimentairen oorsprong hebben.

12. De meniscus van het kniegewricht is niet als een uitbreiding van een gewrichtsoppervlakte te beschouwen.

... of the ...
... of the ...
... of the ...

... of the ...
... of the ...
... of the ...

... of the ...
... of the ...
... of the ...

... of the ...
... of the ...
... of the ...

... of the ...
... of the ...
... of the ...

A