



Bloedsporen in de ontlasting

<https://hdl.handle.net/1874/313867>

A. qu. 192, 1933

Bloedsporen in de Ontlasting.

L. A. Hulst.

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT



BLOEDSPOREN IN DE ONTLASTING.

Bloedsporen in de Ontlasting.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT
TE UTRECHT OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNI-
FICUS Dr. C. G. N. DE VOOYS, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVER-
SITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACUL-
TEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP
DINSdag 20 JUNI 1933, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR
DOOR

LAMBERT ANTHONIE HULST

ARTS

GEBOREN TE UTRECHT.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3812 1178

KEMINK EN ZOON N.V. — OVER DEN DOM — UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN OUDERS

VOORWOORD.

De voltooiing van dit proefschrift, dat de formeele afsluiting brengt van mijn studietijd, biedt mij de gelegenheid U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en Docenten der Geneeskundige en Philosophische Faculteit der Utrechtsche Universiteit, te danken voor het van U genoten onderwijs.

Dat ik dit proefschrift onder Uwe leiding heb mogen bewerken, Hooggeleerde *Hijmans van den Bergh*, Hooggeachte Promotor, is niet de eenige reden van het gevoel van groote achting en dankbaarheid, dat ik jegens U koester. Gij hebt mij door Uwe beschouwing der geneeskunde met de liefde er voor bezielde. Gij hebt mij de betrekkelijke waarde van positieve uitspraken doen inzien. Gij hebt steeds, ondanks Uw zeer bezetten werkkring, op een bewonderenswaardige wijze de belangen van ons allen voorgestaan, waarvoor ik U op deze plaats recht hartelijk dank.

Ook U, Hooggeleerden *Van den Broek*, dank ik voor den tijd, dien ik bij U werkzaam mocht zijn na mijn candidaats-examen.

Gij, Zeergeleerde *Muller* en ook Gij, Zeergeleerde *Grotepass*, hebt mij bij het bewerken van dit proefschrift door Uw groote kennis en bereidwilligheid niet alleen veel werk uit handen genomen, doch tevens aanwijzingen gegeven, die voor mij van groote waarde geweest zijn. Ik ben U daarvoor zeer dankbaar.

Gij, Zeerervaren *Brester* en Gij, Zeergeleerde *Revers*, hebt door Uw persoonlijk voorbeeld veel tot mijn vorming bijgedragen. Ook U betuig ik daarvoor mijn groote erkentelijkheid.

U, Mejuffrouw *Van Ommen*, dank ik voor de nauwgezette wijze, waarop gij mij behulpzaam waart bij het uitvoeren der proeven.

Niet het minst komt een woord van dank toe aan mijne mede-assistenten van vroeger en heden en aan de verpleegsters, die mij steeds met groote hulpvaardigheid hebben terzijde gestaan.

Waarde *Verhoef*, mijn oprechten dank voor de technische hulp en de vervaardiging van de teekeningen.

INHOUD

HOOFDSTUK I	
Algemeene opmerkingen over het aantoonen van bloedsporen in de ontlasting	1
HOOFDSTUK II	
De kleurreacties	4
HOOFDSTUK III	
Beschouwingen over de ijzerhoudende bloedafbraakproducten	11
HOOFDSTUK IV	
Beschouwingen over de ijzervrije bloedafbraakproducten	17
a. Porphyrinen in het algemeen	17
b. Coproporphyrine	19
c. Protoporphyrine	25
d. Copratoporphyrine	30
HOOFDSTUK V	
IJzerhoudende en ijzervrije plantaardige afbraakproducten	35
HOOFDSTUK VI	
Algemeene opmerkingen over het aantoonen van bloedafbraakproducten in de faeces langs spectroscopischen weg	38
HOOFDSTUK VII	
Bespreking der door ons gebezigde methode	41
HOOFDSTUK VIII	
Onderzoek naar occult haemoglobine	57
HOOFDSTUK IX	
Korte samenvatting der spectroscopische methode	61
HOOFDSTUK X	
Bespreking der verkregen uitkomsten	64
SAMENVATTING	76
SUMMARY	79
LIJST VAN AANGEHAALDE LITERATUUR	82

HOOFDSTUK I.

Algemeene opmerkingen over het aantoonen van bloedsporen in de ontlasting.

Voor het aantoonen van bloed in de faeces bestaan verschillende methoden. Dat men door uitwendige bezichtiging alleen geen voldoende gegevens krijgt over het al of niet aanwezig zijn van bloed, is reeds lang bekend. Bloed, dat met het ongewapend oog alleen en dus niet zonder chemisch onderzoek herkend kan worden, wordt op voorslag van *Boas* (1) *occult* genoemd. Het is aanvankelijk vooral deze laatste geweest, die zich met het vraagstuk der occulte bloeding heeft bezig gehouden, nadat tevoren reeds *van Deen* en *Weber* (2) belangrijk pionierswerk hadden verricht.

De methoden, die ons ten dienste staan, laten zich in drie groepen verdeelen:

1. Kleurreacties,
2. Spectroscopische reacties,
3. Micro-chemische reacties.

De laatste groep wordt hier slechts volledigheidshalve even genoemd; zal echter verder niet besproken worden, daar zij in de Kliniek niet meer gebruikt wordt. Bedoeld zijn de methoden van *Teichmann* en van *Nencki-Robert*, die het bloed aantoonen in den vorm van haeminekristallen, of als acetonhaemine. Vermeld zij slechts, dat beide reacties zeer weinig gevoelig zijn.

Voordat de kleurreacties en de spectroscopische reacties afzonderlijk besproken worden, willen wij eerst enkele opmerkingen vooraf maken.

Alle methoden tot het aantoonen van occult bloed in de ontlasting, zullen moeten beantwoorden aan den eisch, dat zij specifiek en voldoende gevoelig zijn. Waarde voor de klinische diagnostiek verkrijgt de methode eerst, wanneer men op

grond van een positieven uitslag met zekerheid kan besluiten tot de aanwezigheid van ziekelijke veranderingen in de maag of het verdere darmkanaal. Om aan bovengestelden eisch zoo-veel mogelijk te voldoen, dienen verschillende voorzorgsmaatregelen genomen te worden.

Allereerst zal een nauwkeurige inspectie van mond-, neus- en keelholte noodig zijn. Het is soms niet eenvoudig de moeilijkheden, die een slecht, gemakkelijk bloedend gebit met zich meebrengen, te vermijden. Bloedende haemorrhoiden deelen aan de faeces in den regel geen *occult* bloed mede. Het is van belang ingrepen, die op eenigerlei wijze het slijmvlies van de maag en van de darmen kunnen schaden, na te laten, zooals het invoeren van een maagslang, het geven van een clyisma, het verrichten van röntgenologisch onderzoek van de buik, vooral wanneer daarbij joodhoudende contrastmiddelen gebruikt worden, zooals bij de galblaasdiagnostiek geschiedt. Wij waren meerdere malen in de gelegenheid sterk positieve „bloed”reacties in de faeces waar te nemen na gebruik van bovengenoemde contrastmiddelen. Dit bezwaar ondervonden wij niet van barium- en bismuthpap, ofschoon ook deze storend zouden kunnen werken. Bij de verdere bespreking der kleurreacties zal hier nog in 't kort nader op teruggekomen worden.

Over het algemeen zal het wenschelijk zijn den patiënt geen geneesmiddelen toe te dienen, zoolang het onderzoek naar occult bloed gaande is. Zoo vonden wij, evenals andere onderzoekers, joodkali als zeer storend. Van het ferrum reductum ondervonden wij nooit onaangenaamheden, hetgeen zeker niet van alle ijzerpraeparaten gezegd kan worden. Is een laxans gewenscht, dan maken wij in het algemeen gebruik van magnesiumsulfaat.

Totzooover heerscht er ten opzichte van het nemen van voorzorgsmaatregelen voor het onderzoek naar bloed in de faeces nogal eenstemmigheid. Moeilijker wordt het daarentegen, wanneer men zich afvraagt, welk voedsel de patiënt mag gebruiken, of beter gezegd, welke voedingsmiddelen hij niet mag gebruiken. Daar de beantwoording dezer vraag ten nauwste samenhangt met het chemische principe, waarop de kleur-

reacties berusten, is het noodzakelijk de bespreking der te nemen maatregelen tot later uit te stellen.

Hier zij alvast nog vermeld, dat uit den aard der zaak algemeen als zeer storend gelden: vleesch, visch en voedingswaren daaruit bereid, daar deze bloedkleurstof of derivaten daarvan bevatten.

Boas meent, dat men intelligente patiënten, mits voorzien van goede voorschriften, wel gebruik kan laten maken van het z.g. „hämoglobinfreie Fleisch”. Dat is wit vleesch of vischvleesch, behandeld met een overmaat van waterstofsperoxyde, waarna dit laatste met water uitgewasschen wordt. Wij zelf hebben hiervan geen ervaring.

Dat voor alle reacties gebruik gemaakt moet worden van betrouwbaar glas- en aardewerk, behoeft wel geen nader beoog. Toch is het dringend noodig er telkens weer de aandacht op te vestigen, omdat in dit opzicht in de praktijk ongetwijfeld nu en dan fouten worden gemaakt.

Het beste is, het vaatwerk van te voren met een der kleurreacties te onderzoeken. Oude mortieren, waarvan aan den binnenkant het glazuur wat af is b.v., geven bijna alle een positieve benzidine reactie, ook na grondige reiniging.

HOOFDSTUK II.

De Kleurreacties.

Thans mogen enkele opmerkingen volgen over de kleurreacties. Over deze bestaat een zeer omvangrijke literatuur. Het ligt buiten de bedoeling van dit werkje een ook maar eenigszins volledig overzicht hiervan te geven. Wij verwijzen naar de volgende samenvattende overzichten, waarin uitgebreide gegevens, benevens talrijke literatuuropgaven zijn te vinden.

Schumm, O.: Die Untersuchung der Fäzes auf Blut. Jena 1906.

Boas, I.: Die Lehre von den okkulten Blutungen. Leipzig. G. Thieme 1914.

Gregersen, J. P.: Untersuchungen über okkulte Blutungen. Boas Archiv. Bd. XXV S. 169. 1919.

Vándorfy, J.: Klinische Untersuchungen über den okkulten Blutnachweis in den Fäzes. Boas Archiv Bd. XXXII S. 133. 1924.

Snapper, I., und van Creveld, S.: Ueber okkulte Blutungen. Ergebnisse d. Inneren Medizin und Kinderheilkunde Bd. 32 S. 1. 1927.

Door deze talrijke onderzoekingen zijn zeer belangrijke feiten aan het licht gekomen, maar desniettemin staat er ten aanzien van verschillende punten nog allerminst eensgezindheid.

De kleurreacties voor het aantoonen van occult bloed berusten in wezen alle op de oxydatie van bepaalde stoffen, met vorming eener hoogere geoxydeerde verbinding met een karakteristieke kleur, welke oxydatie slechts tot stand komt in tegenwoordigheid van een zuurstofoverdrager (peroxydase). Deze splitst actieve zuurstof af van een andere stof (waterstofsperoxyde, terpentijn, bariumperoxyde, trimethylaminoxid). Zoo

komen wij vanzelf tot een definitie van een peroxydase, welke te beschouwen is als een ferment, dat het vermogen heeft zuurstof (van b.v. waterstofsuperoxyde) over te dragen op een oxydable stof. De peroxydase staat dus in zekeren zin tegenover de katalase, welke laatste wel de zuurstof afsplitst, doch haar inactief maakt.

Samenvattende kunnen wij zeggen, dat met bedoelde kleurreacties de aanwezigheid van een peroxydase wordt aangetoond.

Nu is het een feit, dat niet alleen haemoglobinen of daarvan afgeleide ijzerhoudende producten een peroxydase bevatten, of als peroxydase werken, doch dat peroxydasen in het heele planten- en dierenrijk voorkomen. Kan men zich, wat betreft de voeding, vrij gemakkelijk onttrekken aan dierlijke peroxydasen — denkt aan zuivelproducten en eieren — onmogelijk wordt het tevens ook alle plantaardige voedingsmiddelen te verbieden, waarin peroxydasen voorkomen. Onderzoekt men plantaardige etenswaren, dan blijken deze, waarop zooeven reeds werd gezinspeeld, bijna alle in rauwen toestand peroxydatische werking te hebben. Het aantal methoden om deze werking aan te toonen, is groot, daar zeer vele stoffen na oxydatie een kleurstofomslag geven — pyrogallol, guajacol, guajachars, aloïne, leucomalachiet, phenolphthaleïne, benzidine, pyramidon en nog vele andere. In de Kliniek wordt tegenwoordig wel het meest gebruik gemaakt van de benzidinereactie in een of andere wijziging. Wij toonden de peroxydase-werking van verschillende voedingsmiddelen in navolging van Boas (3) op de volgende wijze aan:

Wij namen een stukje rauwe aardappel en overgoten dit met een mengsel van benzidine, ijsazijn en waterstofsuperoxyde. Er trad toen, naast katalase-werking, waarneembaar aan bruisen tengevolge van zuurstofontwikkeling, een groenblauwe tot blauwe kleur op. Deze kleur veranderde snel, vooral, wanneer overmaat ijsazijn aanwezig was, daar het oxydatieproduct van benzidine in een overmaat van ijsazijn onbestendig is.

Nu is het verloop dezer reacties in het algemeen sterk afhankelijk van allerlei factoren. Laat men, voordat men de reactie uitvoert, ijsazijn een half uur op den aardappel inwerken, dan is daarna geen peroxydatische werking meer aan te toonen.

Het blijkt, dat de hoeveelheid ijsazijn, de duur van inwerking, ook de concentratie van het gebruikte zuur, van groot gewicht zijn; kleine hoeveelheden zuur versnellen in het algemeen de reactie, terwijl groote hoeveelheden haar remmen. Het verrichten van peroxydase-reacties in alcalisch midden schijnt volkomen onbetrouwbare uitkomsten te geven, al speelt de aard en de hoeveelheid van de te oxydeeren stof hierbij een groote rol. (*Kikkayi en Neuberg* (4).)

Opvallend is, dat de peroxydase-werking der verschillende plantaardige stoffen niet even gevoelig is voor ijsazijn. Was voor de tomaat de aanraking met ijsazijn gedurende een paar minuten reeds voldoende om de peroxydase-werking volkomen teniet te doen, bij witte boonen bleek ijsazijn hiertoe in het geheel niet in staat, hoe lang men hem ook liet inwerken. Een zelfden invloed heeft het koken van de te onderzoeken stoffen. Geven gekookte aardappelen een volkomen negatieve benzidine reactie, gekookte witte boonen blijven een zeer duidelijke positieve reactie geven, zelfs na lang verhitten met ijsazijn. Tevens blijkt, wanneer men boonen met ijsazijn verwrijft en daarna filtreert, dat in den ijsazijn een deel der peroxydase is overgegaan, dat daar ook inblijft, wanneer aan den ijsazijn aether wordt toegevoegd. Uit dit eenvoudige proefje blijkt, dat de mededeeling van *Weber*, als zouden plantaardige peroxydase niet in een mengsel van ijsazijn-aether overgaan, zeker niet in alle gevallen juist kan zijn en dus niet als voordeel voor zijn methode tot het aantoonen van occult bloed genoemd mag worden.

Hetzelfde geldt voor de methode om door middel van koken de plantaardige peroxydase te vernietigen, een werkwijze, zooals die oorspronkelijk door *Schlesinger* en *Holst* werd aangegeven, doch door hen zelf reeds weder verlaten werd. Daarbij komt dan nog, dat de peroxydase-werking der haematinen door verhitten niet onbelangrijk afneemt, zooals uit de onderzoekingen van *Rassers* (5) is gebleken, al kan het wel verschil uitmaken of men, zooals *Rassers* verhit tot een temperatuur van 180° C., dan wel of men bij plm. 100° C. kookt.

Uit dit alles moge blijken, dat de methoden, aanbevolen om de in de faeces eventueel voorkomende plantaardige peroxydase te vernietigen, zonder ook daarbij die van het bloed te scha-

den, in 't algemeen niet geheel voldoen. Komen echter in de faeces andere, dan van bloed afkomstige peroxydase voor, dan staat ons, naar wij meenen, geen volkomen betrouwbare methode ten dienste, deze uit elkaar te houden door middel van de kleurreacties. Een oxydabele stof toch, die alleen kleuromslag geeft in tegenwoordigheid van een peroxydase, afkomstig van bloed, is niet bekend. Dat een dergelijke stof zou bestaan, is zeker denkbaar, daar bepaalde fermenten zeer gevoelig zijn voor bepaalde reagentia. Een voorbeeld daarvan geeft *Rassers* (6). Verwrijft men een aardappel met water en filtreert daarna, dan is de guajacreactie in 't filtraat positief, terwijl de benzidine resp. phenolphthaleïne-proeven negatief uitvallen.

De geheele vraag, of de plantaardige peroxydase op het onderzoek naar occult bloed in de faeces door middel van kleurstoffen, storend inwerken, wordt beheerscht door deze andere: of zij al of niet in het darmkanaal vernietigd worden.

In 't algemeen mag men zeggen, dat de meeste van de bedoelde peroxydase in die omstandigheden vernietigd worden, deels bij de bereiding van het voedsel, deels bij zijn passage door het spijsverteringskanaal. Uitzonderingen schijnen voor te komen. *Kuttner* en *Gutmann* (7) vonden in de faeces van twee gezonde proefpersonen onverteerde peulen, die na openen nog een positieve benzidine-reactie gaven. Bovendien zagen zij positieve bloedreacties na gebruik van spinazie. Vermoedelijk zal deze spinazie dan rauw gegeten zijn, want wij konden verscheidene malen vaststellen, dat gekookte spinazie als zoodanig geen positieve benzidine-reactie geeft, laat staan na passage door het spijsverteringskanaal. (*Kuttner* en *Gutmann* maakten bij dit onderzoek ook gebruik van de benzidine reactie). In dit verband willen wij even de vraag ter sprake brengen of het chlorophyl, dat voorkomt in vele voedingsmiddelen, storend werkt bij de peroxydase-reacties. Wijzelf ondervonden daarvan nooit moeilijkheden en sluiten ons, wat dat betreft, aan bij de opvattingen van *Gregersen*, *Adler*, *Boas*, *Snapper* en *Van Creveld*, *Czepai* en *Ernst*, terwijl *Michaud*, *Klopstock-Kowarski*, *Sahli*, *Peiper*, *Lorisch*, v. *Soos* (8) uitdrukkelijk er voor waarschuwen. Wat de oorzaak is van deze uiteenlopende meeningen, is ons niet gebleken. Daar echter

naast de kleurreacties door ons vaak gebruik gemaakt wordt van de spectroscopische methoden en hierbij het chlorophyl storend werkt, zooals later zal blijken, schrappen wij het niet-temin toch uit het diëet, dat dient als voorbereiding voor 't onderzoek naar occult bloed in de faeces.

Boas vond in hondenfaeces één keer een onverteerd stuk wortel, dat nog een positieve benzidine-reactie gaf. Laatstgenoemde schrijver heeft op grootere schaal faeces van gezonde en zieke menschen onderzocht op de aanwezigheid van plantaardige peroxydassen. In geen der onderzochte gevallen vond hij positieve reacties, tenzij bloed aanwezig was. Het lijkt *Boas* in twijfelachtige gevallen voldoende faeces eenigen tijd (30—40 minuten) onder het 50 % azijnzuur te laten staan, om eventueel aanwezige plantaardige peroxydassen geheel te vernietigen. Volgens ons zal dit volstrekt niet altijd voldoende zijn, hetgeen zeer duidelijk blijkt uit het reeds eerder vermelde proefje, waarbij witte boonen zelfs na koken met ijsazijn nog een positieve reactie gaven.

Evenwel heeft de ervaring ons geleerd, dat het voorkomen van werkzame plantaardige peroxydassen in de faeces een groote zeldzaamheid moet zijn, wanneer tenminste het voedsel behoorlijk bereid en gekauwd wordt. Zelfs in de ontlasting van personen, die gevoed werden met aan plantaardige peroxydaserijke voedingsmiddelen (boonen, bananen), konden wij nooit een positieve benzidine-reactie vaststellen.

Beperkt men zich, wat betreft de diagnostiek van occult bloed, tot de kleurreacties, dan is het voorschrijven van een bloedloos diëet voldoende.

Wij vermeldden reeds, dat het verloop der peroxydase-reacties sterk afhankelijk is van allerlei factoren. In 't algemeen kan men zeggen, dat het milieu een groote rol speelt.

Gaat men de gevoeligheid, respectievelijk de intensiteit der kleurreacties na, die plaatsvinden in oplossingen van haematine in pyridine of in een ander oplosmiddel (phenol, loog, enz.), dan komen duidelijke verschillen aan het licht. Hetzelfde geldt voor „oplossingen” van haematine in faeces. Voegt men aan bekende gelijke hoeveelheden ontlasting, afkomstig van verschillende personen, gelijke hoeveelheden haematine toe, dan valt de

benzidine-reactie, mits steeds in denzelfden vorm uitgevoerd, niet altijd even sterk uit; ja, soms zelfs geheel negatief. Dit laatste zou men vooral kunnen waarnemen, wanneer men de faeces, vermengd met haematine, eenigen tijd laat staan.

Men schrijft deze verschillen wel toe aan de aanwezigheid van z.g. antikatalytische stoffen, waarop o.a. gewezen is door *Messerschmidt* (9), *Boas* (10) en *Rusnyák* en *Vándorfy* (11).

Althans voor een deel zou deze remmende werking verklaard kunnen worden door reduceerende stoffen, die in de faeces bevat zijn en het oxydatieproces beletten of belemmeren.

Van enkele stoffen is deze remmende werking door de onderzoeken van *Rusnyák* en *Vándorfy* bekend geworden. Zij noemen carboanimalis, caoline en bismuth-zouten, waarvan vooral het eerste storend werkt, deels door adsorptie, deels door werkelijk remmende werking.

Uit dit alles moge blijken, dat het beoordeelen van de hoeveelheid bloed in de faeces naar de intensiteit der kleurreacties — natuurlijk alweer steeds op dezelfde wijze uitgevoerd, — al bijzonder onnauwkeurig is. Meerdere malen waren wij dan ook in de gelegenheid zeer duidelijke spectroscopische reacties waar te nemen, volgens de methode van *Snapper* (12) uitgevoerd, terwijl de benzidinereactie in de modificatie, zooals wij hierna zullen vermelden, weinig sterk uitviel. De vraag, die zich steeds weer opdringt is: hoe groot moet de gevoeligheid der reactie zijn? Was het bezwaar aanvankelijk, dat de reacties te weinig gevoelig waren, later uitgewerkte methoden gingen wel eens mank aan te groote gevoeligheid. De onderzoeken van *Grundmann* (13) en *Gregersen* (14) hebben het bestaan van een psysiologisch bloedgehalte der faeces aangetoond. Dit zou volgens laatstgenoemden onderzoeker 1/30—1/200 % bedragen.

Wij konden deze bevindingen geheel bevestigen. Verscheidene malen waren wij in de gelegenheid bij 't verwerken van een groote hoeveelheid faeces (200 gr. nat) van gezonde proefpersonen, die behoorlijk voorbereid waren, zoowel door middel der benzidinereactie, als langs spectroscopischen weg, bloed aan te toonen. De faeces werden daartoe geëxtraheerd met

aceton en vervolgens uitgetrokken met ijsazijn en aether. De ijsazijn werd met water uitgewasschen en de resteerende aether ingedampt. Deze rest werd nu aan de benzidine-reactie en het spectroscopisch onderzoek onderworpen.

Moge uit deze proeven de wenschelijkheid blijken van een niet te groote gevoeligheid, het is toch ook van belang kleine hoeveelheden bloed in de faeces te kunnen aantoonen. De grens tusschen het physiologische en het pathologische is nimmer scherp, zoodat het aannemen van een bepaalde gewenschte gevoeligheid steeds willekeurig zal zijn.

Wij willen hier niet nader ingaan op de verschillende kleur-reacties, doch vermelden slechts, dat het vooral door de onderzoekingen van *Gregersen* mogelijk geworden is de gevoeligheid der benzidine-reactie een weinig te regelen. Hij toonde aan, dat deze stijgt met het toenemen van de concentratie der benzidine oplossing. Hij beveelt daarom een oplossing van $\frac{1}{2}$ % sterkte aan. Om deze gemakkelijk te kunnen krijgen, wordt een poeder van de volgende samenstelling: Benzidine 0.025; Bariumsuperoxyde 0.1, in 5 cc. 50 % azijnzuur opgelost.

Het op deze wijze bereide reagens, dat niet langer dan een half uur bruikbaar is, wordt gedruppeld op een dun laagje faeces, dat uitgestreken is op een voorwerpglas. Is de reactie positief, dan treedt binnen een minuut een kleuromslag op (groen-blauw tot blauw).

Van een nog eenvoudiger reactie, die ons zeer goed bevalt, wordt gewoonlijk in ons laboratorium gebruik gemaakt. Met een speciaal voor dit doel aanwezig schepje wordt plm. 100 mgr. benzidine genomen en opgelost in 8 cc. ijsazijn, waarbij 2 cc. waterstofsuperoxyde wordt gevoegd. Even wordt gewacht, of er reeds vóór de toevoeging der faeces geen verkleuring optreedt, daarna wordt met een glasstaaf, die van te voren even in de oplossing gestaan heeft, een klein stukje faeces uit het binnenste der massa genomen en flink met de benzidineoplossing vermengd. Treedt een groen-blauwe tot blauwe verkleuring op, dan is de reactie positief, tenminste wanneer zij binnen een minuut optreedt.

HOOFDSTUK III.

Beschouwingen over de ijzerhoudende bloedafbraakproducten.

Het groote voordeel van de spectroscopische methode voor het aantoonen van occult bloed in de faeces is, dat wij er ook die afbraakproducten mee kunnen aantoonen, die ons bij gebruik van de peroxydase-reacties ontgaan. Verliest het bloedafbraakproduct zijn ijzer, dan vallen de kleurreacties negatief uit. Stoffen, die dan ontstaan, noemen wij porphyrinen. Ter verduidelijking van een en ander, lijkt het ons gewenscht, eenige opmerkingen betreffende bloed en bloedafbraak vooraf te doen gaan.

Spreekt men van het aantoonen van bloed in de faeces, dan wordt daarmee bedoeld het aantoonen van bloedkleurstof of van zijn afbraakproducten, terwijl er geen acht geslagen wordt op de andere bestanddeelen van het bloed, die daarmee tegelijkertijd in de darmen worden uitgestort, zooals water, eiwitten, fermenten, enz.

Het haemoglobine nu bestaat uit een kleurstofcomponent, die ijzerhoudend is (prosthetische groep) en een eiwitcomponent, die globine genoemd wordt. De gewichtsverhouding van dezen Fe houdenden kleurstofcomponent tot den eiwitcomponent, het globine, is 1 : 26. De scheiding tusschen beide deelen kan men tot stand brengen door bij haemoglobine verdunde zuren of alcaliën te voegen. Op deze wijze wordt de kleurstofcomponent verkregen in een vorm, die algemeen haematine werd genaamd.

In alcalisch milieu kan haematine door reduceerende middelen omgezet worden in een verbinding, die haemochromogeen genoemd wordt. De opvatting was vroeger algemeen, dat het op deze wijze verkregen haematine of haemochromogeen eiwitvrij was. De onderzoekingen van *Anson* en *Mirsky* (15) hebben de onjuistheid daarvan aangetoond. Weliswaar waren

de producten eiwitarmer geworden, doch een gedeelte van het globine was nog aanwezig.

Dat het mogelijk is door bepaalde ingrepen slechts een deel van den eiwitcomponent van het haemoglobine af te splitsen, was reeds lang bekend. Werkt alcohol in op oxyhaemoglobine, dan ontstaat een stof kathaemoglobine genaamd, die een complexverbinding zou zijn van gedenatureerd globine en haematine (*v. Klaveren*) (16).

Ook latere onderzoekers hebben zich met dit vraagstuk bezig gehouden. Zoo zag *Haurowitz* (17), dat bij samenbrengen van pancreastrypsine en bloedkleurstof een verbinding ontstaat, haemine-proteose genaamd, van niet steeds dezelfde samenstelling. Voorloopig schijnen deze stoffen echter niet van belang te zijn voor de diagnostiek van occult bloed.

Theoretisch ware verder nog denkbaar, dat uit bloedkleurstof methaemoglobine en sulfhaemoglobine in den darm zouden ontstaan. Deze stoffen kunnen hier echter buiten bespreking blijven.

De vraag of haemoglobine ook onveranderd in de faeces kan voorkomen, zal elders nog nader onder oogen worden gezien. Eerst willen wij ons echter bezig houden met de bespreking van het z.g. haematine.

Als vaststaand mag beschouwd worden, dat het grootste deel van de bloedkleurstof in het maagdarmkanaal afgebroken wordt tot haematine, gewoonlijk α -haematine genaamd, of „von Zeijneks Verdauungshämatin”, daar het ontstaat, wanneer men pepsinezoutzuur op oxyhaemoglobine laat inwerken. De naam verradt reeds, dat er blijkbaar nog een ander haematine is met eenigszins afwijkende eigenschappen. Zoo is het β -haematine bekend, een stof, die langs anderen weg wordt verkregen. Behandelt men bloed in tegenwoordigheid van NaCl met ijsazijn, dan ontstaat een chloorhoudend kristallijn product, haemine genaamd, dat bij juiste bereiding zeker eiwitvrij is. Wordt hierin, zooals later duidelijk zal worden, het Cl vervangen door OH, dan ontstaat het β -haematine. Een verschil dezer beide haematinen is o.a., dat β -haematine niet altijd tot haemine teruggebracht kan worden, wat wel het geval is met α -haematine (*Küster, W.*) (18).

Het geeft dus niet altijd de kristallen van *Teichmann*. De oorzaak van dit verschil is wel vrij zeker daarin gelegen, dat het α -haematine niet geheel eiwitvrij is.

Anson en *Mirsky* (19) hebben nu voorgesteld den naam „haem” te gebruiken voor den werkelijk eiwitvrijen component. Haem is echter ook al weer een verzamelnaam, daar hij al die kleurstoffen aanduidt, die gevormd worden door verbinding van ijzer met de verschillende porphyrinen.

Wordt haem behandeld met HCl, dan ontstaat haemine; wordt haem gereduceerd, dan ontstaat gereduceerd haem, een stof, die zich zeer gemakkelijk verbindt met verschillende stikstofhoudende stoffen, zooals eiwitten, aminozuren, aminen, ammoniak, hydrazinehydraat, pyridine, nicotine, pyrrol en zoo verschillende haemochromogenen vormt. Bekend zijn ammonium-haemochromogeen, bestaande uit 1 molecuul haemochromogeen en 1 molecuul ammoniak (*v. Zeynek*) (20) en pyridinehaemochromogeen, bestaande uit 1 molecuul haemochromogeen en 2 moleculen pyridine (*v. Zeynek*) (21).

Deze stoffen hebben alleen dit gemeen, dat zij ook nog in zeer groote verdunning een scherp spectrum geven, dat twee banden bevat. De ligging van de strepen der bekende haemochromogenen verschilt niet veel: $557.5 \mu\mu$ — $555 \mu\mu$, terwijl de zwakkere streep ongeveer $30 \mu\mu$ meer naar het violet ligt.

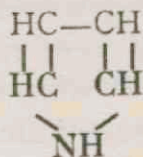
Over het ontstaan van haematinen en haemochromogenen anders dan uit bloed, zal later nog gesproken worden.

Tot zoover over de scheiding tusschen eiwit en kleurstof-deel. De vraag, hoe eiwit en kleurstof aan elkaar gebonden zijn, zal hier onbesproken blijven. De afbraak van haemoglobine in den darm gaat echter vaak verder. Ter verkrijging van een juist begrip hiervan, zal het echter wenschelijk zijn enkele hoofdzaken over den chemischen bouw van de prosthethische groep te vermelden.

De nauwkeurige onderzoekingen van *Hoppe Seyler*, *Nencky*, *Piloty*, *Küster*, *Willstätter* en *Hans Fischer*, hebben ons veel, ja misschien wel alles geleerd over den bouw van het haemine; volgens de nomenclatuur van *Anson* en *Mirsky* dus het hydrochloride van haem.

Hans Fischer en zijn medewerkers hebben hun bewonde-

renswaardig werk bekroond gezien door de geslaagde haemine synthese. Gegevens over den bouw van het haemine kregen zij door het in verschillende deelen uiteen te leggen. Alle verkregen producten bleken derivaten van pyrrol te zijn:



Sommige derivaten waren zuur, sommige alcalisch. Alle konden synthetisch bereid worden, zoodat de structuur volkomen bekend werd. Vermoedens over de structuur van het haemine werden reeds lang geuit en vastgelegd in de formules van *Küster*, *Willstätter* en *Fischer*, die onderling kleine verschillen vertoonden. Deze verschillen blijken reeds uit de brutoformule, welke van *Küster* C₃₄ H₃₂ O₄ N₄ Fe Cl is, van *Willstätter* samen met

M. Fisscher

C₃₃ H₃₂ O₄ N₄ Fe Cl

en voor *H. Fischer*

C₃₄ H₃₀ O₄ N₄ Fe Cl.

Wij zeiden reeds, dat de afbraakproducten van het haemine pyrrolderivaten zijn, deels zuur, deels alcalisch. Het aantal pyrrolringen bedraagt 4, van welke er 2 zuur en 2 basisch zijn.

Zoo werd allereerst een ijzervrij product gemaakt, bestaande uit vier pyrrolkernen. Dit synthetisch bereide lichaam had echter geen porphyrine eigenschappen, zoodat nieuwe wegen ingeslagen moesten worden om 4 pyrrolkernen zoo samen te brengen, dat er een porphyrine uit ontstond. Dit gelukte *Fischer* en *Scheyer* (22) in 1924.

Na een moeitevollen arbeid werd een porphyrine gewonnen en wel de modaliteit, die overeenkomt met het protoporphyrine (zie later).

De sluitsteen van de haeminesynthese was het invoeren van ijzer in het porphyrine molecuul, hetgeen in 1929 *Fischer* en *Zeile* (23) gelukte.

Zoo is *Fischer's* formule voor haemine thans als aangegeven in figuur I.

Tot zoover over het haemine.

Van de eigenschappen der bloedkleurstofderivaten gemak-

kelijk op te lossen in ijsazijn, pyridine, azijnzure aether, enz. wordt gebruik gemaakt om ze uit de faeces te extraheeren.

HAEMINE.

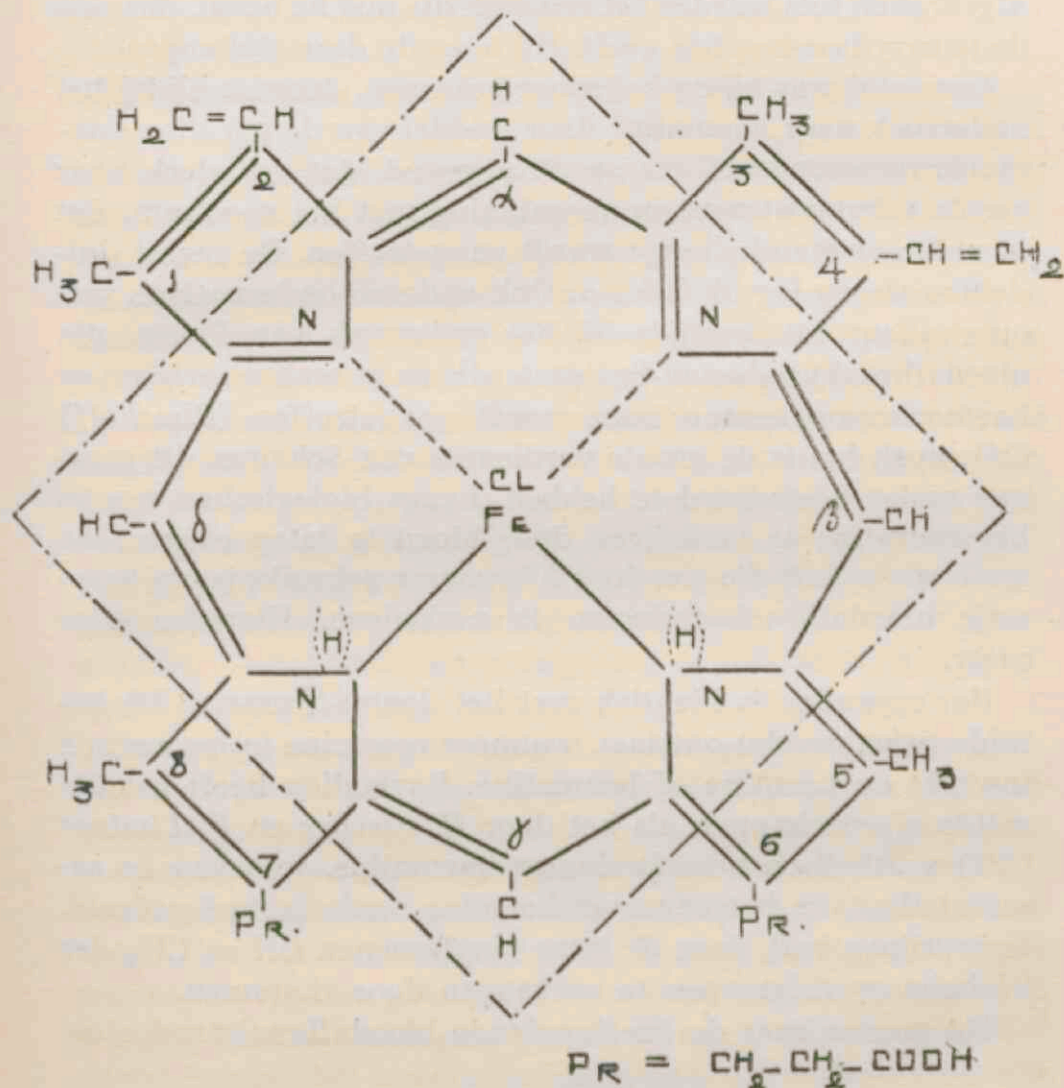


Fig. 1.

N.B. Ter vereenvoudiging der verder afgebeelde structuurformules, is alles, wat zich binnen de streepstippellijn bevindt, niet meer aangegeven, omdat de verschillen alleen in de zijketenen tot uiting komen.

In neutralen alcohol, aether en aceton zijn ze practisch niet oplosbaar, zoodat deze vloeistoffen gebruikt worden om de

faeces te ontdoen van allerlei zelfstandigheden, die het onderzoek bemoeilijken.

Een belangrijk onderzoek danken wij aan *Schumm* (25), die aangetoond heeft, dat een gedeelte of soms alle haematine afgebroken kan worden tot een stof, die nog Fe bevat, dus ook de peroxydase-reacties geeft. Hij noemde deze stof copratine.

Deze stof was hij op het spoor gekomen, doordat hij bij het onderzoek naar haematine door middel van de pyridine-haemochromogeenproef een spectrum vond, dat vrij sterk naar rechts verplaatst was, in vergelijking met het spectrum, dat in zulke omstandigheden wordt aangetroffen. De meest duidelijke streep lag bij $545 \mu\mu$. Ook anderen onderzoekers was opgevallen, dat somtijds bij het onderzoek van faeces, die bloedafbraakproducten bevatten, dit naar rechts verschoven haemochromogeenspectrum wordt aangetroffen (*Bisschoff*) (24), doch het is de groote verdienste van *Schumm* dit gegeven nader bestudeerd te hebben. Langs biologischen weg is het copratine te verkrijgen door bloed te laten rotten, een methode, zooals die o.a. door *Kämmerer* gebruikt is om ijzer-vrije bloedafbraakproducten te verkrijgen. Hierover later meer.

Het copratine is identiek met het door *Schumm* (130) bereide pyratine, dat ontstaat, wanneer resorcine in de warmte inwerkt op haemine of haematine. Bovendien heeft het dezelfde eigenschappen als het door *H. Fischer* en *F. Lindner* (131) synthetisch bereide deuterohaematine, waarvan de samenstelling, na hetgeen over haemine reeds is medegedeeld, te begrijpen valt, door de twee vinylgroepen $\text{CH} = \text{CH}_2$ der basische pyrrolgroepen te vervangen door H.atomen.

Tot zoover over de ijzerhoudende bloedafbraakproducten.

HOOFDSTUK IV.

Beschouwingen over de ijzervrije bloedafbraakproducten.

Gaat de afbraak van het haemoglobine nu verder dan tot haematine of copratine, dan ontstaan ijzervrije afbraakproducten, in dit verband porphyrinen genaamd. Zonder hier op de bijzondere beteekenis der verschillende porphyrinen in te gaan, willen wij iets mededeelen over de chemie daarvan, tenminste, voor zoover ons dat hier van belang schijnt.

Volgens den tegenwoordigen stand van zaken moet worden aangenomen, dat het drie porphyrinen zijn, die, afgezien van de gevallen van porphyrie, in de faeces voorkomen en wel:

C o p r o p o r p h y r i n e ;

P r o t o p o r p h y r i n e. Andere namen hiervoor zijn: haematerinezuur — haematoporphyroïdine — *Snapper's* porphyrine — *Papendieck's* porphyrine — *Kämmerer's* porphyrine — Oöporphyrine.

C o p r a t o p o r p h y r i n e, welk porphyrine dezelfde eigenschappen heeft als het deuteroporphyrine en pyroporphyrine.

Genoemde porphyrinen worden door *Fischer* samengevat onder den naam van „natuurlijke porphyrinen”, in tegenstelling tot de niet natuurlijke, dat zijn die, welke niet in 't levend organisme worden gevonden, doch door chemische ingrepen kunnen worden verkregen. Van de laatste is misschien wel het meest bekend het haematoporphyrine van *Nencki* (26), dat deze laatste verkreeg door inwerking van ijsazijn, broomwaterstof en alcali op haemine.

a. Porphyrinen in het algemeen.

Reeds *G. J. Mulder* in 1844 en *Hoppe Seyler* (27) in 1871, hebben porphyrine gemaakt uit het bloed, door het te behandelen met geconcentreerde minerale zuren. Het is *Nencki* en

Sieber gelukt het haematoporphyrine als natriumzout kristallijn te verkrijgen, terwijl *Willstätter* en *M. Fischer* het als zoodanig zuiver bereidden. Wordt het in het dierlijk organisme gebracht, dan maakt het dit overgevoelig voor licht (*Hausmann*, W. (28) en *Meyer-Betz*, F. D. (29)). Doet deze werking sterk denken aan de verschijnselen, die optreden bij de congenitale porphyrinurie, toch is het haematoporphyrine van *Nencki* nooit in het menschelijk of dierlijk organisme aangetroffen (*Fischer*, *Schumm*).

De natuurlijke porphyrinen nu worden door *Fischer* in primaire en secundaire verdeeld. De primaire zijn die, welke als zoodanig in de natuur worden aangetroffen, zooals coproporphyrine, uroporphyrine, conchoporphyrine en oöporphyrine. De secundaire zijn die, welke langs biologischen weg kunstmatig gemaakt kunnen worden. Dit zijn volgens *Fischer* protoporphyrine, waarvan reeds eerder de andere benamingen werden vermeld, en het copratoporphyrine.

Deze indeeling kan thans niet meer staande gehouden worden, daar protoporphyrine wel degelijk als zoodanig in het menschelijk (dierlijk) organisme voorkomt. Prof. Dr. A. A. *Hymans van den Bergh* en *A. J. Hyman* (30) toonden aan, dat in het bloed van gezonde menschen steeds porphyrine voorkomt. Voortgezette onderzoeken toonden aan, dat dit protoporphyrine bleek te zijn (*Hymans v. d. Bergh*, *Grotepass* en *Revers* (31)). Misschien ware het beter te spreken van kunstmatige en niet-kunstmatige porphyrinen. Tot de laatste zouden dan behooren het coproporphyrine, het protoporphyrine, het copratoporphyrine, het conchoporphyrine en het uroporphyrine.

De eerste drie komen, althans kunnen voorkomen in de faeces. Het protoporphyrine komt vooral voor in de eierschaal van vogels, in bijzonder groote hoeveelheid in gevlekte eierschalen en is chemisch identiek met *Kämmerer's* porphyrine, doch wordt in dit verband in den regel oöporphyrine genoemd (*H. Fischer* und *F. Kögl* (32)).

Alle porphyrinen zijn af te leiden van een z.g. aetioporphyrine, een stof, die zoowel uit chlorophyl als uit haemine is verkregen. Het eerst door *Willstätter*, die daardoor het on-

omstootelijk bewijs heeft geleverd van het verband, dat er bestaat tusschen bloed en bloedkleurstof. Aetioporphyrine bestaat uit een ring van vier pyrrolkernen, waaraan vier methyl- en vier aethylgroepen zijn gebonden. Door den wisselenden

4 ISOMEREN VAN AETIO-PORPHYRINE.

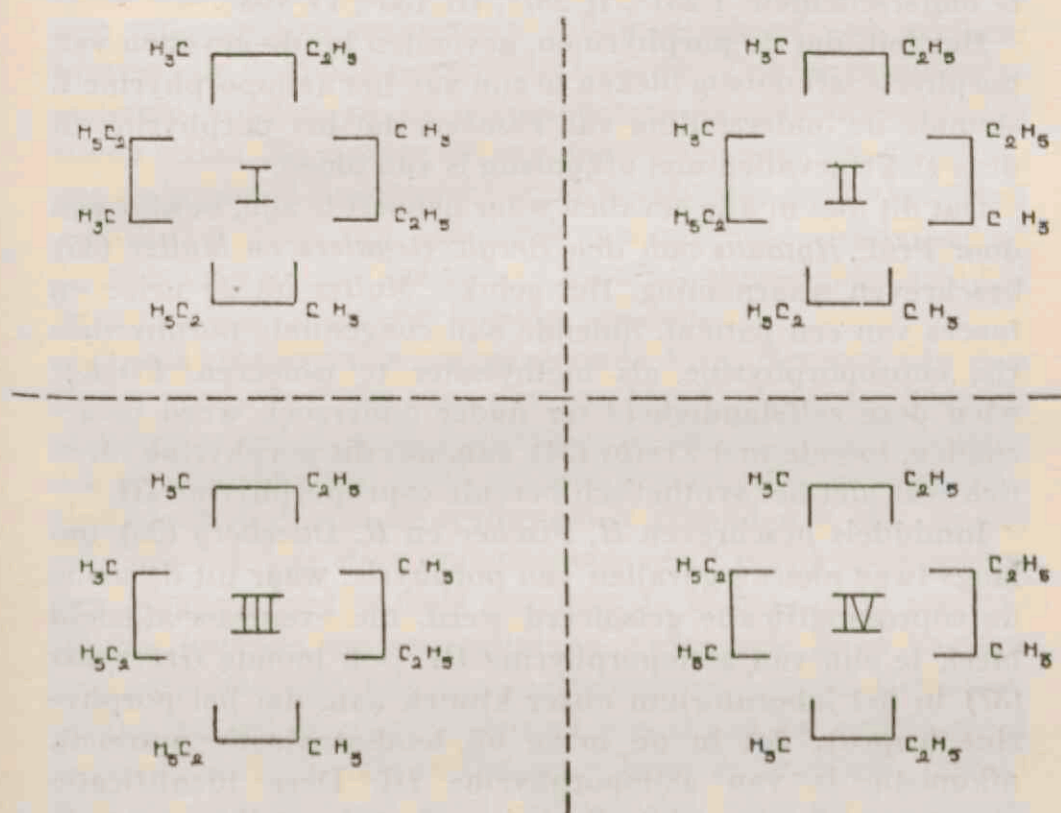


Fig II.

stand dezer methyl- en aethylgroepen zijn er vier isomeren denkbaar. Het aetioporphyrine I, II, III, IV. Al deze stoffen zijn langs synthetischen weg door *H. Fischer* (33) en zijn medewerkers verkregen, waarvan de structuurformules weergegeven zijn in figuur II.

b. Coproporphyrine.

Het coproporphyrine is af te leiden van het aetioporphyrine door van ieder der aethylgroepen een H.atoom te vervangen

door een carboxylgroep. Hieruit volgt, dat er theoretisch vier isomere coproporphyrinen kunnen zijn. Volgens *Fischer* zijn de porphyrinen, die de bouwsteen of afbraakproducten zijn van het haemoglobine, alle afgeleid van het aetioporphyrine III. Deze porphyrinen hebben alle een zelfde spectrum. Hunne esters zijn echter door hun smeltpunt gemakkelijk van elkaar te onderscheiden: I 251°, II 287°, III 135°, IV 168°.

Het feit, dat de porphyrinen, gevonden bij de gevallen van porphyrie, afkomstig bleken te zijn van het aetioporphyrine I, steunde de onderstelling van *Fischer*, dat het porphyrine in deze ziektegevallen niet afkomstig is van bloed.

Dat dit niet in alle gevallen waar behoeft te zijn, bewijst een door Prof. *Hymans van den Bergh*, *Regniers* en *Muller* (35) beschreven waarneming. Het gelukte *Muller* uit de urine en faeces van een patiënt, lijdende aan congenitale porphyrinurie, coproporphyrine als methylester te isoleeren. *Fischer* wien deze zelfstandigheid ter nader onderzoek werd toegezonden, toonde met *Treibs* (34) aan, dat dit porphyrine identiek was met het synthetisch bereide coproporphyrine III.

Inmiddels beschreven *H. Fischer* en *R. Duesberg* (36) onlangs twee nieuwe gevallen van porphyrie, waar uit de urine de copromodificatie geïsoleerd werd, die eveneens afgeleid bleek te zijn van aetioporphyrine III. Ook toonde *Grotepass* (37) in het laboratorium onzer kliniek aan, dat het porphyrine (copro), dat in de urine bij loodintoxicatie optreedt, afkomstig is van aetioporphyrine III. Deze identificatie was mogelijk, doordat *Grotepass* het kristallijn wist te verkrijgen uit de urine van een patiënt, lijdende aan loodvergiftiging. Is dus in deze gevallen vastgesteld van welken aetiokern de genoemde porphyrinen afgeleid zijn, geheel anders is het gesteld met de porphyrinen, die wij bij menschen zonder porphyrie vinden in bloed, urine en faeces, hetzij na bloedtoevoer, hetzij tengevolge van een maag- of darmbloeding. Dat deze porphyrinen afkomstig van haemoglobine zijn, is al evenmin bewezen, al is het niet onwaarschijnlijk, daar langs chemischen en biologischen weg zoowel proto- als copratoporphyrine uit bloed gemaakt kunnen worden.

De oorsprong van het coproporphyrine was tot voor kort

geheel duister. Door de onderzoekingen van *Hymans van den Bergh*, *Grotepass* en *Revers* (42) is een schakel gelegd tusschen den schijnbaar niet samenhangenden kringloop van het protoporphyrine en het coproporphyrine. Tot korten tijd geleden was onder normale omstandigheden nooit porphyrine gevonden in het bloed van volwassenen. Wel vonden *Borst* en *Konigsdörffer* (38) in bloed en bloedvormende organen van menselijke embryonen cellen, gelijkende op erythroblasten, die duidelijk porphyrine bevatten. Ook bij pernicieuse anaemie vonden zij in het beenmerg porphyrinehoudende roode cellen. Zij vonden dit een aanwijzing voor de opvatting, dat embryonaal haemoglobine uit porphyrine gesynthetiseerd wordt. Het is n.l. een nog verre van opgeloste strijdvraag of porphyrinen tot den opbouw of tot afbraakproducten van het haemoglobine gerekend moeten worden.

Zooals reeds eerder gezegd, toonde Prof. *Hymans van den Bergh* reeds in 1928 aan, dat het bloed van ieder mensch porphyrine bevat, welk porphyrine in ons laboratorium later als protoporphyrine werd geïdentificeerd. Dit protoporphyrine bleek in of aan de erythrocyten gebonden te zijn. In het serum werd door deze onderzoekers nooit porphyrine gevonden, uitgezonderd in twee gevallen: 1e in het serum van patiënten, lijdende aan congenitale porphyrinurie, 2e in 't serum van patiënten, lijdende aan mechanischen icterus. Het bleek echter, dat het de copromodaliteit was, die in het laatste geval in het serum aanwezig is. Het lag volgens de genoemde onderzoekers voor de hand aan te nemen, dat, waar zij het coproporphyrine ook steeds in de gal hadden gevonden, evenals *Schumm* (39), het porphyrine, voorkomende in het serum daarin als het ware door terugstuwing overgaat. Bovendien zagen zij bij verschillende ziekten (Carcinoom, tuberculose, enz.) een verhooging van het protoporphyrinegehalte der erythrocyten gepaard gaan met een verhooging van het coproporphyrinegehalte der urine. De vermeederling van het coproporphyrinegehalte der urine na vleeschvoeding zou tevens kunnen wijzen op een samenhang (*O. Schumm* (40); *Fischer* en *Hilmer* (41)). Eigenaardig is, dat *Fischer* niet alleen de vermeederling van coproporphyrine in de urine zag na bloed-

toevoer, doch ook, wanneer alleen bloedserum toegediend werd.

Door Prof. *Hymans van den Bergh* (42) en medewerkers werd nu getracht na te gaan, waar deze eventueele omvorming van proto- in coproporphyrine plaats vond. Het bleek, dat, wanneer de overlevende lever doorstroomd werd met bloed, waaraan protoporphyrine was toegevoegd, de door de lever geproduceerde gal groote hoeveelheden coproporphyrine bevatte. Natuurlijk kan gezegd worden, dat het daarom nog geenszins bewezen is, dat het coproporphyrine, voorkomende in gal en faeces, afkomstig is van het protoporphyrine der erythrocyten, maar de waarschijnlijkheid wordt er toch grooter door. Dat steeds coproporphyrine in de faeces gevonden wordt onder normale omstandigheden, kan dus niet verwonderen. Komt dit coproporphyrine echter alleen uit de gal, of wordt het ook nog op andere manieren aan de faeces toegevoegd? Ongetwijfeld ontstaan niet alle porphyrenen, die in de faeces voorkomen, in den darm zelf.

Hier willen wij een eigenschap van porphyrenen noemen, die, hoewel niet specifiek, toch hun aanwezigheid mag doen vermoeden.

Het was *Garrod* (43), die bij de bestudeering van een geval van congenitale porphyrie van de eigenschap der porphyrenen te fluoresceeren in *Wood's* licht (dat is een lichtbron, die veel ultraviolette stralen bevat, en waarvan de zichtbare stralen met behulp van filters worden tegengehouden) gebruik maakte, nadat veel vroeger reeds *Hoppe Seyler* (44) deze fluorescentie van het porphyrine had ontdekt. Ook Prof. *Hymans van den Bergh* bediende zich van deze methode en toonde, evenals *Derrien* en *Dhéré* (136) reeds eerder hadden gedaan, aan, dat in den mond van vrijwel alle personen porphyrine voorkomt. Vooral is dit duidelijk aan tanden, die met tandsteen bedekt zijn en op den tongrug. Hij vond, dat dit coproporphyrine was en achtte het het meest waarschijnlijk, dat het porphyrine van het tandbeslag door de werking van micro-organismen op verschillende spijzen, in het bijzonder brood, ontstaat.

Dat deze porphyrinevorming berusten moet op de werking

van micro-organismen, blijkt wel daaruit, dat brood bebroed moet worden, voordat men er coproporphyrine in kan aantoonen. Dat gist, wanneer zij op bepaalde voedingsbodems geteeld wordt, coproporphyrine vormt, was reeds bekend door de onderzoekingen van *H. Fischer* en *H. Fink* (45). Dit coproporphyrine schijnt niet uit het haematine gemaakt te worden, dat ook steeds in gist aanwezig is, doch primair gesynthetiseerd te worden (*R. M. Mayer*) (46).

Bij de autolyse van gist wordt niet alleen coproporphyrine gevonden, doch ook proto = *Kämmerer's* porphyrine en ook haemine (*H. Fischer* en *H. Hilmer*) (47). Autolyse bij alcalische reactie geeft coproporphyrine, bij zure reactie ontstaat protoporphyrine (*H. Fischer* und *F. Schwerdtel*) (48).

Hans Fischer en ook *Schumm* hebben aangetoond, dat niet in gist alleen, doch in vele plantaardige voedingsmiddelen coproporphyrine voorkomt. Soortgelijke onderzoekingen zijn ook verricht door *Kämmerer* en *Gürsching* (132), die er ook nog eens op wezen, dat voedingsmiddelen, waarin versch geen porphyrine was aan te toonen, groote hoeveelheden bevatten, nadat ze eenigen tijd bebroed waren. Dergelijke processen zullen zich in den dikken darm ook wel afspelen. In den maaginhoud werden door *Snapper* (49) nooit porphyrinen gevonden. Wij zelf onderzochten verscheidene malen braaksel en konden daarin geen porphyrine aantoonen, ook niet, wanneer daarin haematine spectroscopisch wel werd aangetroffen. Ook zagen wij daarin nooit copratine. Bij enkele patiënten, met een nagenoeg volkomen pylorus stenose, brachten wij 20 cc. bloed in de maag, doch konden desondanks in den uitgehevelden inhoud geen porphyrine vinden. Toch zullen ongetwijfeld kleine hoeveelheden porphyrinen in de maag kunnen voorkomen, n.l. wanneer duodenuminhoud terugloopt. Zeer fraai werd dit door ons in de Kliniek van Prof. *Hymans van den Bergh* (133) aangetoond bij een geval van porphyrie. Op de gewone wijze werd bij genoemden patiënt gefractioneerd maagonderzoek verricht; dat wil zeggen, na verwijdering van een weinig retentievloeistof, die zich in de maag bevond, werd een proefontbijt toegediend, bestaande uit een papje, gemaakt van 1 liter water en 1 eetlepel haver-

mout, ingekookt tot een halven liter; vervolgens werd door een dun slangetje om het kwartier 10 cc. maaginhoud opgezogen. Vaak ziet men dan op een gegeven oogenblik den maaginhoud een gele kleur krijgen, die zeker afhankelijk is van galkleurstoffen en dus de aanwezigheid van duodenuminhoud moet verraden. Zoo ook bij deze proefneming. In de buisjes, waar gal bijgemengd was, was met de fluorescentiemethode duidelijk porphyrine aan te toonen. Tevoren was vastgesteld, dat het vocht, verkregen door duodenumsondage, groote hoeveelheden porphyrine bevatte.

Uit het feit, dat in maaginhoud vrijwel nooit porphyrinen gevonden worden, mag onzes inziens besloten worden, dat hoogst waarschijnlijk niet de porphyrinen uit het voedsel, die daarin voorgevormd aanwezig zijn, doch die, welke later uit of door het voedsel gemaakt worden, van beteekenis zijn voor het aantoonen van occult bloed in de faeces. Het voorkomen van vrij aanzienlijke hoeveelheden coproporphyrine in meconium (*Garrod* (134), *Schumm* (50)) rechtvaardigt de opvatting, dat zeker niet alle coproporphyrine, voorkomende in de faeces, door werking van micro-organismen ontstaat. In dit verband zij tevens vermeld, dat uit meconium steeds duidelijk langs spectroscopischen weg bloed is aan te toonen (*Schumm*; haemochromogeenspectrum). Een spectrum van gereduceerd copratine, zooals *Schumm* (51) een enkele maal in meconium vond, zagen wij nooit. Zijne andere waarnemingen konden wij bevestigen.

Uit dit al moge blijken, dat in nagenoeg iedere normale ontlasting coproporphyrine voorkomt. Reeds in 1915 toonde *H. Fischer* (52) in normale faeces porphyrine aan. Ook andere onderzoekers toonden porphyrine in normale ontlasting aan (*Stokvis* (53) en *Garrod* (54)).

Voor de diagnostiek van occult bloed heeft het vinden van coproporphyrine waarschijnlijk geen waarde, want het moet ieder, die de faeces onderzoekt van normale proefpersonen op de aanwezigheid van porphyrinen, opgevallen zijn, hoezeer het coproporphyrinegehalte, ook bij het verwerken van gelijke hoeveelheden gedroogde faeces, wisselt. Waar quantitatieve bepalingen echter nog vrijwel niet verricht werden, mogen uit

deze waarneming geen zekere conclusies worden getrokken. *Haurowitz* (55) onderzocht het lot van menschelijk bloed in den menschelijken darm en deed daarbij quantitative bepalingen, ofschoon, zooals hij zelf zegt, het niet meer was dan een „halb quantitative Schätzung“. Op grond van deze onderzoeken komt hij tot de conclusie, dat het coproporphyrinegehalte door bloedtoevoer in de faeces niet werd beïnvloed. Weliswaar zijn de verschillen niet groot, als men de cijfers beschouwt, die *Haurowitz* in bovengenoemde publicatie geeft. Toch kan niet ontkend worden, dat b.v. den tweeden dag na 't bloedgebruik 0.11 mgr. coproporphyrine aangetoond werd, terwijl den 8en dag 0.28 mgr. aanwezig was; voor biologische verhoudingen een groot verschil.

Uit deze proeven nu zonder meer te besluiten, dat het coproporphyrinegehalte der faeces geen veranderingen ondergaat, wanneer bloed in den darm wordt uitgestort, lijkt ons niet gerechtvaardigd. Waar immers reeds bij blanco proeven verschillen worden gevonden en de verhoudingen door de aanwezigheid van andere porphyrinen zeker ingewikkelder worden, waarbij dan komt, dat de quantitative bepalingen altijd nog verre van volmaakt zijn, lijkt ons groote voorzichtigheid bij de beoordeeling der verkregen resultaten geboden.

c. Vatten wij thans het protoporphyrine in het oog.

Voordat *Snapper* (56) zijn onderzoeken over het voorkomen van porphyrinen in de faeces bekend maakte, had men, afgezien van de gevallen van congenitale porphyrie, weinig aandacht besteed aan bedoelde ijzervrije afbraakproducten in de ontlasting. Nadien hebben vele onderzoekers zich met dit onderwerp bezig gehouden. Het feit, dat *Snapper* de porphyrinen in vermeerderde hoeveelheid zag optreden na vleeschgebruik of darmbloeding, mocht reeds doen vermoeden, dat in die omstandigheden naast het normaal voorkomende porphyrine (het coproporphyrine was ten tijde der onderzoeken van *Snapper* nog niet bekend in dit verband) nog andere porphyrinen aanwezig moesten zijn. Trouwens, de spectroscopische waarden, die *Snapper* van zijn porphyrinen opgaf, wijken af van die van het coproporphyrine.

Al heel spoedig na *Snapper's* publicatie, werden zijn bevindingen bevestigd. Slechts *H. Günther* (57) meende nagenoeg alle waarde aan *Snapper's* werk te moeten ontzeggen, op grond van zijn ondervinding, dat gewoonlijk geen vermeerderde porphyrineuitscheiding in faeces en urine na maag- of darmbloedingen was vast te stellen. Het is thans overbodig, deze bewering nog eens te weerleggen. Belangrijk daarentegen is een onderzoek van *Papendieck* (58), die de porphyrinehoeveelheid bepaalde, die optrad of vermeerderde, nadat er bloed in den darm kwam; wij willen hierbij even stilstaan.

Papendieck ging uit van 120 gr. ontlasting van een normaal proefpersoon, die 12 dagen bloedloos en chlorophylvrij diët gehad had en verwerkte die op de wijze, zooals door *Snapper* was aangegeven (methodiek zie later). De daarin aanwezige porphyrinen werden op die wijze in een klein volumen 25 % zoutzuur gebracht. Evenwel kon *Papendieck* daarin geen spectrum van een porphyrine ontdekken. Deze bevinding is voor ons, en zeker ook voor vele anderen, volkomen onbegrijpelijk. Ook *H. Fischer* (59) heeft dit in het licht gesteld. *Papendieck* (60) antwoordt hierop, slechts kleine hoeveelheden ontlasting te hebben verwerkt. Wij vinden echter 120 gr. een hoeveelheid, die de aangegeven hoeveelheid van *Snapper* van „einige Gramme” ver overtreft. Bovendien, in een hoeveelheid normale ontlasting van 10 gram is — gelijk *Fischer* (61) doet opmerken — spectroscopisch nagenoeg altijd coproporphyrine te vinden. Deze bevinding konden wij bevestigen.

Doch gaan wij verder. Nadat dus door *Papendieck* in het geheel geen porphyrinen in de faeces van zijn proefpersoon gevonden waren, liet hij dezen dagelijks een half pond weinig gebraden vleesch nuttigen. Hierna werd de benzidinereactie in de faeces begrijpelijkerwijze positief, terwijl spectroscopisch duidelijke porphyrinespectra werden verkregen, waarvan de ligging der strepen goed overeenkwam met de plaats, aangegeven door *Snapper*.

Terecht merkt *Papendieck* op, in overeenstemming met *Snapper*, dat de hoeveelheid uitgescheiden porphyrine sterk afhankelijk is van het vleeschgebruik. Beide onderzoekers

ontkennen dat chlorophyl in den menschelijken darm tot porphyrine afgebroken wordt.

Deze opmerking is van groot belang, omdat uit bladkleurstof langs chemischen weg wel degelijk porphyrinen gemaakt kunnen worden. Reeds *Hoppe Seyler* (62) maakte uit chlorophyl een purperroode kleurstof, die zich als porphyrine gedroeg en waaraan hij den naam van phylloporphyrine gaf.

Gelijk reeds eerder werd medegedeeld, hebben *Willstätter* en *Stoll* uit de bladkleurstof langs chemischen weg een aetioporphyrine bereid, dat met het aetioporphyrine der bloedkleurstof overeenkomt en dus een phyllogenetische verwantschap tusschen chlorophyl en haemine waarschijnlijk maakt. In den menschelijken darm daarentegen, langs biologischen weg dus, zou volgens *Snapper*, evenals volgens *Papendieck*, de afsplitsing van het aetioporphyrine uit de bladkleurstof niet plaats vinden. *Papendieck* heeft nu groote hoeveelheden ontlasting (6—8 dagporties) van menschen, die vleesch gebruikten, onderzocht en vond daarbij, dat het grootste deel der uitgescheiden porphyrinen overeenkwam met het coproporphyrine van *H. Fischer*, doch dat daarnaast nog een porphyrinefractie aanwezig was, die, in tegenstelling met coproporphyrine, uit een oplossing van 25 % HCl gemakkelijk in chloroform overgaat. Zeer voorzichtig liet *Papendieck* in het midden of deze fractie uit een enkele modaliteit van porphyrine bestaat of uit meerdere. Deze voorzichtigheid was zeer gerechtvaardigd, want, zooals uit latere onderzoekingen bleek, is, alhoewel in mindere mate, ook het copratoporphyrine, ook wel deuteroporphyrine genoemd, uit 25 % HCl met chloroform uit te schudden. Ongeveer terzelfder tijd deelde *H. Kämmerer* (63) een methode mede, om buiten het organisme langs biologischen weg uit haemoglobine porphyrine te maken. Daartoe werden bacteriën gekweekt op een voedingsbodem, bestaande uit een mengsel van bloed en bouillon. Na 4—10 dagen bleek in deze cultuur een porphyrine te zijn gevormd, dat zich in azijnzuur-aetherische oplossing door zijn spectrum onderscheidde van het toen reeds goed bekende coproporphyrine en door *Fischer* als *Kämmerer's porphyrine* werd betiteld.

Het spectrum van dit laatste verschilde zooveel van het coproporphyrine (in aetherische oplossing, waaraan wat azijnzuur was toegevoegd), dat beide porphyrinemodaliteiten, ook als zij naast elkander in een zelfde oplossing aanwezig waren, van elkaar konden worden onderscheiden.

H. Fischer toonde verder aan, dat *Kämmerer's* porphyrine gelijk is aan de vroeger genoemde porphyrinefractie van *Papendieck*, die met chloroform uit 25 % HCl is uit te schudden. Later bleek, dat uit bloed ook door steriele autolyse in ongeveer 14 dagen *Kämmerer's* porphyrine ontstaat. Bovendien toonde voortgezet onderzoek aan, dat *Kämmerer's* porphyrine identiek is met het porphyrine, dat zich in eierschalen van tal van vogels bevindt (*H. Fischer* en *F. Kögl* (64)). De analyse van dit uit de eierschalen bereide oöporphyrine, bracht aan het licht, dat het als haematoporphyrine (*Nencki*) is op te vatten, waarvan twee moleculen water zijn afgesplitst. Terwijl het nu reeds bekend was, dat haematoporphyrine gemakkelijk water kan afsplitsen (*Willstätter* en *Fischer* (65)), toonde daarop *Fischer* met *F. Lindner* (66) aan, dat haematoporphyrine door afsplitsing van water vrij eenvoudig te veranderen is in oöporphyrine. Voor al deze, blijkbaar identieke porphyrinen, eischt *Fischer* (67) — terecht — een gemeenschappelijke naam: dien van protoporphyrine. Daar dit blijkens zijn samenstelling te beschouwen is als haematine, waar het ijzer van afgesplitst is, vindt *Fischer* het billijk, wanneer men er een persoonsnaam aan wil verbinden, het „*Hoppe Seyler's* Porphyrine” te noemen, die toch voor het eerst het ijzer van haemoglobine afsplitste. Geheel juist is dit echter niet, want in 1844 had *G. J. Mulder* (68) reeds ijzervrij haematine beschreven, dat hij kreeg door inwerking van zwavelzuur op haemoglobine. De naam α -haematoporphyrine is van *Schumm* (69).

Het bleek hem dat, wanneer bloed onder bepaalde voorzorgsmaatregelen behandeld wordt met zoutzuur, een afbraakproduct ontstaat — α -haematoporphyröidine, waaruit vrij gemakkelijk een porphyrine gemaakt kan worden. Dit porphyrine werd α -haematoporphyrine genaamd en is identiek met protoporphyrine. De naam haematoporphyröidine is

afkomstig van *C. le Nobel* (70), die hem gaf aan stoffen, die ontstonden, door zink of tin onder bepaalde voorzorgsmaatregelen op haematine te laten inwerken. Ter onderscheiding hiervan gaf *Schumm* nu den naam α -haematoporphyröidine.

Küster had vermoed, dat uit haematine het zoogenaamde haematerine-dicarbonzuur (kortweg haematerinezuur) gemaakt moest kunnen worden. Zoowel door hem als door *R. Willstätter* zijn pogingen daartoe gedaan, doch zonder succes. Het gelukte echter *Fischer*, die het identificeerde met het boven beschreven protoporphyrine. Ook *Papendieck* en *K. Bonath* (71) werkten later een methode uit, om uit haematine protoporphyrine af te splitsen. *Schumm* stelt voor al deze blijkbaar gelijke zelfstandigheden met den naam haematinezuur te betitelen. Ook *I. Snapper* en *S. v. Creveld* (72) doen hetzelfde voorstel. Wij zelf zullen steeds spreken van protoporphyrine, omdat daardoor de herinnering aan de verwantschap dezer verbinding met de andere porphyrinen behouden blijft. Volgens den tegenwoordigen stand der wetenschap is de structuurformule daarvan als volgt (zie figuur III):

PROTO-PORPHYRINE. III

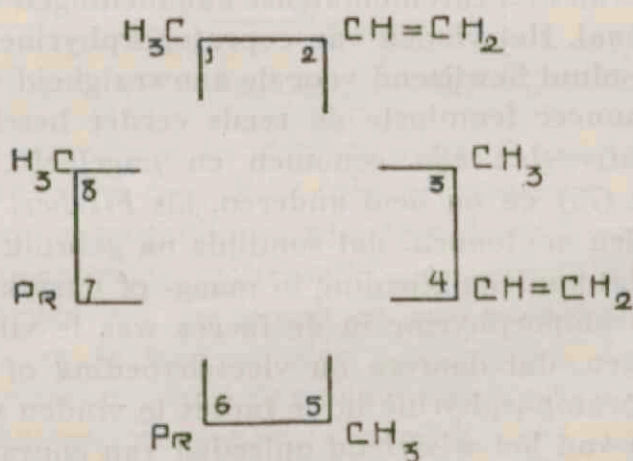


Fig. III.

Welke waarde moet men toekennen aan het vinden van protoporphyrine in de faeces? Vooraf zij gezegd, dat het ab-

soluut noodzakelijk is, voor het onderzoek naar porphyrinen in de ontlasting dezelfde voorzorgsmaatregelen te nemen, welke wij in het vorige hoofdstuk beschreven als noodig voor de benzidinerreacties. Immers, wanneer men aanneemt, dat in het darmkanaal uit bloed porphyrinen kunnen ontstaan, dan is het vanzelfsprekend, dat men voor het zoeken naar bloed, afkomstig van bloedingen, een bloedloos diët moet geven.

d. Copratoporphyrine.

Thans nog enkele opmerkingen over het copratoporphyrine, dat voor het eerst door *O. Schumm* (73) gevonden werd in de faeces van gezonde proefpersonen na gebruik van bloedhoudend voedsel en in de faeces van patiënten, lijdende aan een carcinoom van maag- of darmkanaal. Bovendien bereidde hij het langs biologischen weg uit bloed door bacterieele omzetting.

Recente onderzoekingen van *I. Boas* (74) maken het noodig, het copratoporphyrine verder ter sprake te brengen.

Laatstgenoemde onderzoeker vindt het copratoporphyrine vooral in die faeces, waarin geen of weinig protoporphyrine is aan te toonen. Bovendien speelt het copratoporphyrine volgens *Boas*, en wij konden dit bevestigen, een rol bij de diagnostiek van niet-carcinomateuse aandoeningen van maag- en darmkanaal. Het vinden van copratoporphyrine in de faeces is o.i. absoluut bewijzend voor de aanwezigheid van een bloeding, wanneer tenminste de reeds eerder beschreven voorzorgsmaatregelen zijn genomen en nageleefd, want reeds *Schumm* (75) en na hem anderen, als *Fischer*, *Boas* en ook wij konden aantonen, dat somtijds na gebruik van vleesch, zonder dat van een bloeding in maag- of darmkanaal sprake was, copratoporphyrine in de faeces was te vinden. Dit wil niet zeggen, dat daarom na vleeschvoeding of na bloeding altijd copratoporphyrine in de faeces te vinden zou zijn. Wat de reden van het wisselend optreden van copratoporphyrine na vleeschgebruik is, is ons onbekend. Het meest eenvoudige ware, het zich voor te stellen, dat het copratoporphyrine in den darm uit het copratine ontstaat. Hieruit volgt geenszins, dat men naast het copratoporphyrine steeds copratine in de

faeces zou moeten vinden; immers theoretisch bestaat reeds de mogelijkheid, dat alle copratine tot copratoporphyrine wordt afgebroken, gelijk men zich ook wel voorstelt, dat het uitsluitend voorkomen van protoporphyrine in de ontlasting, bij bloeding of na vleeschgebruik (dus zonder gelijktijdige aanwezigheid van haematine) gevolg zijn zou van een volledige afbraak van het haematine.

De vorming van copratoporphyrine in den darm uit copratine is al evenmin bewezen als die van protoporphyrine uit haematine. Immers eerst dan mogen wij met voldoende ze-

COPRATO - PORPHYRINE. III

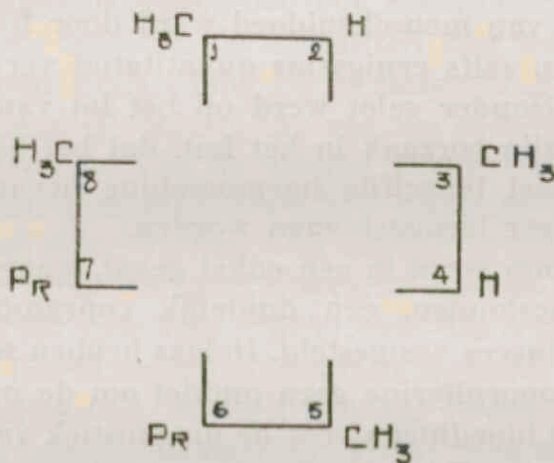


Fig. IV.

kerheid dezen samenhang aannemen, wanneer aangetoond is met welke porphyrine-modaliteit men te doen heeft.

Dit laatste is niet mogelijk, voordat men de ester van het te onderzoeken porphyrine in kristallijnen toestand heeft gebracht en daarvan o.a. smeltpunt en mengsmeltpunt heeft vastgesteld. Waar de hoeveelheden porphyrinen, die in de ontlasting voorkomen — afgezien van patiënten, lijdende aan porphyrie — buitengewoon klein zijn, schijnt het voorloopig een nog vergeefs pogen, dit vraagstuk langs dezen weg nader tot een oplossing te brengen.

Langs bacteriochemischen weg kan uit bloed vrij gemakkelijk copratoporphyrine gemaakt worden. Schumm (76) be-

diende zich hiertoe van de methode om bloed zóó lang te laten rotten tot vrijwel uitsluitend copratine gevormd is. Dit copratine wordt dan met ijsazijn en aether geëxtraheerd en daarna met een der aan te geven methoden ontijzerd.

Herinneren wij ons nog even de formule van copratine, dan laat zich uit deze, die van het copratoporphyrine gemakkelijk afleiden (zie figuur IV).

Ook ontstaat uit bloedhoudende organen soms na rotting copratine, waaruit dan weder het copratoporphyrine kan worden bereid. Enkele malen schijnt bij dit rottingsproces de afbraak over het copratine tot copratoporphyrine voort te gaan.

Het ontstaan van copratoporphyrinen in het darmkanaal door gebruik van menschenbloed werd door *Haurowitz* (77) aangetoond en zelfs eenigszins quantitatief vervolgd. Waarom in het bijzonder gelet werd op het lot van menschelijk bloed, vindt zijn oorzaak in het feit, dat het bloed van niet iedere diersoort hetzelfde haemoglobine bevat. Hierop zal later uitvoeriger teruggekomen worden.

Door *Schumm* werd in een enkel geval, waar tandvleeschbloedingen bestonden, een duidelijk copratoporphyrinegehalte van de faeces vastgesteld. Helaas hebben wij dus ook al in het copratoporphyrine geen middel om de moeilijkheden, die deze soort bloedingen voor de diagnostiek van het occulte bloed bieden, te mijden.

Waar wij met *Boas* minder waarde toekennen aan het vinden van protoporphyrine, meenen wij voor de onderscheiding van hoogere darmbloeding en een bloeding in het onderste deel van den tractus intestinalis (*Erich Adler*): haemorrhoiden, fissuren, enz. het copratoporphyrine hier eerder voor in de plaats te kunnen aanbevelen. Nog om een andere reden geven wij aan het onderzoek naar copratoporphyrine de voorkeur boven dat naar protoporphyrine. Immers theoretisch is het denkbaar, dat uit plantaardige porphyratinen protoporphyrine ontstaat. Daarentegen is copratine nooit in het plantenorganisme aangetoond en is het dus zeer onwaarschijnlijk, dat uit plantendeelen in de ingewanden ooit copratoporphyrine zou ontstaan.

Zoo neemt de beteekenis van de aanwezigheid van protoporphyrine in de ontlasting af, die van copratoporphyrine toe. Tot zoover de voordeelen.

Thans de nadeelen.

Het allergrootste is, dat de methodiek van het onderzoek op copratoporphyrine ingewikkelder is en hoogere eischen stelt aan onderzoeker en apparatuur. Copro- en protoporphyrine zijn in een eenvoudigen spectroscop nog te onderscheiden, hetgeen echter zeker niet gezegd kan worden van coprato- en coproporphyrine. Wil men deze onderkennen, dan moet men ze op een der daarvoor nog nader te bespreken werkwijzen van elkaar scheiden. Waar de spectroscopische waarden van beide porphyrinen zoo buitengewoon dicht bij elkaar liggen, is het noodzakelijk bovendien nog spectrochemische reacties uit te voeren, teneinde de modaliteit met zekerheid vast te kunnen stellen. Zooals later bij de bespreking der methodiek zal blijken, zijn de wijzen, die ons ten dienste staan om het copratoporphyrine van de andere porphyrinen te scheiden, nog verre van volmaakt, tenminste wanneer men met kleine hoeveelheden moet werken. Ook als men groote hoeveelheden faeces neemt, blijven deze bezwaren bestaan.

Het stond tot voor kort vrijwel vast, dat copratoporphyrine alleen in de faeces werd aangetroffen, wanneer er bloed in den darm was uitgestort. *Watson* (78) zag in een geval van haemolytischen icterus, waarbij de patiënt geen vleesch kreeg en alle bekende voorzorgsmaatregelen waren genomen, flinke hoeveelheden copratoporphyrine in de faeces. Samenhang met deze ziekte moet hier wel hebben bestaan, daar de schrijver vijf weken na verwijdering van de milt het porphyrine niet meer kon aantoonen. Wij waren éénmaal in de gelegenheid eveneens de ontlasting van een patiënt met haemolytischen icterus te onderzoeken, doch konden de bevinding van *Watson* niet bevestigen. Wel konden wij protoporphyrine en coproporphyrine aantoonen.

Of de longtuberculose, waaraan onze patiënt tevens leed, hieraan schuldig is, lijkt ons vooralsnog een te stoute onderstelling.

Recente onderzoekingen van *Hans Fischer* en *Richard*

Duesberg (79) toonden nog een andere wijze van ontstaan van het copratoporphyrine aan; zij vonden in de faeces van chlorophylvrij gevoede konijnen, die vergiftigd werden met sulfonal en lood, geen coproporphyrine, doch copratoporphyrine. In ons Laboratorium werd dit onderzoek door *Grotepass* nagewerkt en ook hij kon in de eerste dagen na de loodtoediening copratoporphyrine in de faeces vinden.

Wij gebruikten steeds de namen copratine en copratoporphyrine, zonder hiervoor bepaalde voorkeur te hebben.

Fischer en *Lindner* (80) bereidden in 1926 uit ossenbloed een nieuw haemine, door het maandenlang te laten rotten of na een korter rottingsproces in tegenwoordigheid van gist, waarvan het haemochromogeenspectrum overeenkwam met dat van copratine. Aan dit nieuwe haemine geven genoemde schrijvers den naam van deuterohaemine. Het porphyrine, daaruit bereid volgens de methode van *Papendieck* en *Bonath* (81), werd deuteroporphyrine genaamd. Dit porphyrine bleek, evenals alle tot nu toe onderzochte porphyrinen, behalve aetioporphyrine en protoporphyrine (*Fischer*, *Schneller* en *Hilmer* (82)), proefdieren (parameciën, witte muizen) overgevoelig te maken voor licht (*Fischer* (83)) en zooals voortgezette onderzoekingen aantoonen, volkomen overeen te komen met copratoporphyrine.

HOOFDSTUK V.

IJzerhoudende en ijzervrije plantaardige afbraakproducten.

Alvorens de beteekenis te bespreken van de aanwezigheid van porphyrinen in de ontlasting ter opsporing van bloedingen in maag of ingewanden, is het gewenscht, in te gaan op de vermelding van eenige ijzerhoudende en ijzervrije plantaardige afbraakproducten. Immers, leek tot vóór eenige jaren de spectroscopische reactie voor het aantoonen van occult bloed bewijzend, thans moet wel degelijk de vraag onder oogen worden gezien, of het vinden van een haemochromogeen spectrum volgens de methode van *Snapper* bewijzend is voor een bloeding. Wij doelen hier op de fraaie onderzoekingen van *D. Keilin* (84). Deze heeft zoowel in plantaardige cellen als in dierlijke een stof ontdekt, die de eigenschap heeft als zuurstofoverdrager dienst te kunnen doen en die, wanneer men haar reduceert, een spectrum geeft, dat veel lijkt op dat van haemochromogeen. Deze stof werd door *Keilin* cytochroom genoemd. Dit cytochroom bevat ook ijzer en schijnt na verwant te zijn aan het door *Mac Munn* (85) ontdekte myohaematine, zooals blijkt uit de spectroscopische waarden. Dit myohaematine, ook wel histohaematine genaamd, werd door laatstgenoemden schrijver gevonden in de spieren en allerlei soort weefsels van verschillende klassen van dieren. Hij was niet in staat het onveranderd te isoleeren, doch toonde aan, dat er een gereduceerde en geoxydeerde vorm van bestaat, waarvan de eerste een absorptiespectrum heeft met vier banden, terwijl de laatste geen absorptie vertoont. Ook maakte hij er lichamen uit, die te vergelijken waren met haematoporphyrine.

Langen tijd zijn deze waarnemingen van *Mac Munn* als onjuist beschouwd, o.a. door *Hoppe Seyler* (86). Ook de onderzoekingen van *G. Gola* (87), die organische ijzerverbindingen

in plantencellen aantoonde, zijn vrijwel onopgemerkt gebleven.

Eerst *Keilin* heeft in 1925 de belangstelling voor deze pigmenten doen herleven, zoodat zijne onderzoekingen door talrijke onderzoekers, van wie wij *H. Fischer* en *O. Schumm* willen noemen, zijn nagewerkt en grootendeels bevestigd.

D. Keilin was van den aanvang af van meening, dat cytochroom een mengsel is van een drietal haemochromogenen, welker eigenschappen nog niet volkomen bekend zijn en die gezamenlijk voor het waargenomen spectrum verantwoordelijk zijn. *Schumm* voert den naam porphyratine in, om hiermede alle stoffen aan te duiden, die, hetzij voorkomend in de natuur, hetzij kunstmatig gevormd, metaalcomplexverbindingen zijn van porphyrinen en in pyridine opgelost, een absorptiespectrum geven, gelijkende op dat van pyridine-haemochromogeen. Deze porphyratinen zouden zich dan verhouden tot cytochroom, als haematine tot bloedkleurstof. Dit moge waar-schijnlijk zijn, bewezen is het niet.

Reeds in 1924 toonden *Fischer* en *Hilger* (88) haemine en haemochromogeen aan in gist en *Anson* en *Mirsky* (89) maakten pyridineëxtracten uit gist. De onderzoekingen van *Schumm* (90) hebben bovendien met zekerheid aangetoond, — wij konden er ons ook meerdere malen van overtuigen — dat uit de porphyratinen zeer gemakkelijk porphyrinen gemaakt kunnen worden.

Voegt men bij een oplossing van ijzerporphyratine in ijsazijn, b.v. uit boonen verkregen, een paar druppels hydrazinehydraat, dan ontstaat reeds in de koude na 5—10 min. een porphyrine, dat, wat betreft zijn eigenschappen, zich als protoporphyrine gedraagt.

Het voorkomen van haematineachtige lichamen in plantendeelen en de mogelijkheid daaruit porphyrinen te maken, noopt rekening te houden met de vraag of deze niet storend kunnen werken bij het aantoonen van occult bloed langs spectroscopischen weg.

Gelijk reeds in het eerste hoofdstuk vermeld werd, huldigen wij, ook op grond van eigen onderzoek, de opvatting, dat plantaardige peroxydassen in het maagdarmkanaal vermoede-

lijk geheel vernietigd worden, wanneer het voedsel behoorlijk toe bereid en gekauwd wordt. Tegelijkertijd met deze proefnemingen lieten wij gezonde personen plantaardig voedsel, waarin veel porphyratinen aanwezig waren, gebruiken, doch konden daarbij in geen enkel geval haemochromogeen-spectra in de faeces vinden. Het porphyratine, dat in planten voorkomt, schijnt weinig bestendig te zijn. Hierbij dient evenwel een opmerking te worden gemaakt.

Reeds eerder vermeldde wij, dat, om haematine aan te toonen, gebruik gemaakt wordt van zijn eigenschap in ijsazijnaether oplosbaar te zijn. Nu schijnt deze ijsazijnaether-methode voor het aantoonen van porphyratinen niet altijd tot een positief resultaat te leiden, daar aether onder bepaalde, misschien oxydeerende omstandigheden, het porphyratine snel afbreekt. *Schumm* (91) beveelt daarom aan ijsazijn en chloroform te gebruiken. Ook *Fischer* vond de onbestendigheid van het gistporphyratine in ijsazijnaether.

De vraag, of uit plantaardige porphyratinen in het darmkanaal protoporphyrine kan ontstaan, dat in aantoonbare hoeveelheid in de faeces terecht komt, willen wij verder op deze plaats voorloopig onbeantwoord laten. In een volgend hoofdstuk zal deze vraag nader ter sprake komen.

HOOFDSTUK VI.

Algemeene opmerkingen over het aantoonen van bloedafbraakproducten in de faeces langs spectroscopischen weg.

Een uitvoerige beschrijving van de gevolgde methodiek lijkt overbodig, daar wij zouden kunnen volstaan met te verwijzen naar het voortreffelijke boek, dat *Schumm* (92) hierover geschreven heeft.

Waar de methodiek ons hier en daar echter aanleiding is geweest tot het maken van enkele opmerkingen, willen wij haar toch in het kort vermelden.

Bespraken wij tot nu toe de bloedafbraakproducten, thans dient de vraag, of wellicht onveranderd haemoglobine in de faeces kan voorkomen, nader onder het oog te worden gezien, temeer daar *Boas* (93) het occulte haemoglobine, dat hij meent aangetoond te hebben, van belang acht voor de differentieele diagnose der maag- en darmaandoeningen. Hij meent, dat bij carcinomen regelmatig occult haemoglobine voorkomt dan bij andere afwijkingen, die bloedingen veroorzaken. Thans doet zich dus niet alleen de vraag voor: is er bloed in de ontlasting, doch ook: hoe wordt het in den darm uitgestorte bloed afgebroken?

Daarna volgt dan vanzelf de vraag: bestaan er verschillen in de wijze, waarop dit geschiedt en zoo ja, zijn uit de verkregen uitkomsten gevolgtrekkingen te maken, welke voor de Kliniek van waarde zijn?

Een tipje op te lichten van den sluier, die dit groote gebied nog aan het oog onttrekt, was mede de bedoeling van dit proefschrift.

Het spreekt vanzelf, dat, wil men een indruk krijgen van de wijze, waarop onder ziekelijke omstandigheden bloed in den darm wordt afgebroken, het aanbeveling verdient, zich ter vergelijking een indruk te verschaffen, hoe zich dit proces

in den normalen darm afspeelt. Bovendien dringt zich terstond de vraag op: verhoudt iedere bloedsoort zich, onder overigens gelijke omstandigheden — een voorwaarde, waaraan niet gemakkelijk voldaan kan worden — wel op dezelfde wijze?

De eerste, die zich ten doel gesteld heeft een indruk te krijgen van de afbraak van het menscheijk bloed in den normalen menschelijken darm, was *Haurowitz* (94).

Dat het menschelijk bloed (haemoglobine) zich onderscheidt van dat van andere gewervelde dieren, was reeds vrij vroeg bekend. Het was *Körber* (135), die reeds in 1866 hierop wees. Hij toonde verschillen aan in het meer of minder groote weerstandsvermogen, dat de onderscheidene haemoglobinen bieden aan zuren en logen van verschillende concentraties. Gelijke waarnemingen zijn later door *Krüger* (95) en *Haurowitz* (96) verricht. Laatstgenoemde schrijft deze verschillen toe aan de globinecomponenten.

Werken deze stoffen in op het haemoglobine, dan ontstaat het reeds eerder vermelde kathaemoglobine. De omzetting tot dit kathaemoglobine geschiedt door middel van natronloog met een voor iedere soort constante snelheid.

Uit een lijstje, dat *Haurowitz* op blz. 83 van genoemde publicatie geeft, blijken zeer groote verschillen aanwezig te zijn, wanneer men achtereenvolgens den ontledingstijd, resp. de gedatureerde fractie bepaalt van het haemoglobine van volwassen mensch, hond, konijn, paard, cavia en rund. Deze verschillen uiteten zich dan ook in den kristalvorm, dien de haemoglobinen der onderscheidene diersoorten bieden, al heeft de wijze, waarop deze kristallen bereid worden, ook invloed op den vorm. (*Reichert* en *Brown* (98)).

Ongetwijfeld bestaan ten opzichte der verschillende haemoglobinen in het dierenrijk nog meerdere interessante waarnemingen, zooals o.a. de onderzoekingen over het zwavelgehalte van het haemoglobine van *Valer* (99) en van *Timar* (100); verder de verschillen in gasbindend vermogen van de haemoglobinen der voorkomende diersoorten, welk vraagstuk onder meer bestudeerd werd door *Macela* en *Sciskar* (101), doch daar het ons slechts te doen is, om te wijzen op het feit, dat er

verschillen zijn, meenen wij met deze enkele opmerkingen te kunnen volstaan.

Een enkele bijzonderheid, waarop *Bingold* (102) gewezen heeft in zijn onderzoekingen over de wijze, waarop en de mate, waarin bloed beschermd wordt voor chemische en biochemische ingrepen, b.v. oxydatieve processen, zij vermeld.

Wordt bij gedefibrineerd menschelijk bloed een gelijke hoeveelheid 3 % waterstofsuperoxyde gevoegd, dan ontwikkelt zich zuurstof, doch ontleding van het oxyhaemoglobine treedt niet op in den zin van ontkleuring. Verwarmt men echter het gedefibrineerde bloed eerst tot 73°, en voegt daar waterstofsuperoxyde aan toe, dan wordt de vloeistof melkwit. Deze bescherming schrijft *Bingold* toe aan de aanwezigheid van een „Schutzkörper”. Voor een gedeelte is deze bescherming volgens *Bingold* door katalase werking te verklaren. In het niet-verwarmde bloed vindt dus een bescherming plaats van het haemoglobine tegen de zuurstof, die bij toevoeging van H_2O_2 daaruit door de bloedkatalase in vrijheid wordt gesteld. De temperatuur, waarbij dit „Schutzkörper” vernietigd wordt, ligt, zooals reeds gezegd werd, bij den mensch onder normale omstandigheden bij 73—74°, terwijl zij voor ratten ligt bij 50—51°, voor runderen bij 65°, voor konijnen bij 57—59°. Het meest opvallende verschil ziet men bij eenden-, ganzen- en duivenbloed. Dit bloed wordt reeds ontleed door waterstofsuperoxyde bij hun lichaamstemperatuur. Bijzondere verwarming is dus niet noodig om de bescherming op te heffen. Terecht uit *Bingold* (103) zich dan ook in dien zin, dat voor iedere diersoort een bepaalde temperatuur bestaat, waarbij haar „Schutzkörper” vernietigd wordt.

Volledigheidshalve zij nog vermeld, dat niet alleen verwarmen dit „Schutzkörper” kan vernietigen, doch ook bacterieele processen (vnl. staphylococcen, doch ook andere) en de inwerking van zuren en alcaliën.

De strekking van dit betoog was, om aan te toonen, hoe volkomen onjuist het kan zijn conclusies te trekken uit proeven over de afbraak van bloed in den menschen darm, wanneer geen menschenbloed gebezigd is.

HOOFDSTUK VII.

Bespreking der door ons gebezigde methode.

Geen boek, dat ons bij deze onderzoekingen grootere diensten bewezen heeft dan de reeds eerder genoemde monographie van *Schumm*: „Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe”. Daarin vindt men op duidelijke wijze alle werkmethoden beschreven. Daar wij bij het verwerken van het materiaal moeilijkheden ondervonden en verschillende bijzonderheden tegenkwamen, willen wij eerst een korte beschrijving geven van de wijze, waarop wij ons onderzoek verricht hebben. Achtereenvolgens zal dan besproken worden, hoe het onderzoek geschiedde naar haematine en copratine en naar de verschillende porphyrinen. Een bespreking van de wijze, waarop door ons naar occult haemoglobine gezocht werd, zal, in verband met de conclusies, die wij daaruit willen trekken, dit hoofdstuk besluiten.

Allereerst werden de faeces aan een uitwendige beschouwing onderworpen om na te gaan of zich wellicht bloed aan den buitenkant bevond. Methoden zijn beschreven om uitwendig zichtbaar bloed van de ontlasting te verwijderen, o.a. afwasschen met water of met een soda-oplossing van 1 %. Dit is natuurlijk alleen mogelijk, wanneer de ontlasting voldoende vast is. Dunne faeces, waarbij bloed zichtbaar gemengd is, zijn voor dit doel volkomen ongeschikt. Het eenvoudigste is het ongetwijfeld in zulke omstandigheden een andere portie af te wachten, die wellicht vaster van hoedanigheid zijn zal of waaraan geen uitwendig zichtbaar bloed vastgekleefd is. In het algemeen gelukt dit wel. Enkele malen zal men zich echter, als er geen gelegenheid bestaat den patiënt voldoende langen tijd onder de voor dit doel gunstigste omstandigheden te observeeren, van deze afwaschmethoden moeten bedienen.

Het nemen van een deel der faeces uit het midden der massa is vaak nog een goed hulpmiddel, doch ongetwijfeld is

de kans op fouten daarbij grooter. Bij voorkeur verwerke men faeces, waaraan uitwendig bloed kleeft, dan ook niet. Heeft men eenige grammen der faeces (wij namen als regel hoeveelheden van 7—10 gr.), dan verdient het aanbeveling te trachten eerst de storende stoffen uit de massa zooveel mogelijk te verwijderen. *Snapper* (104) heeft ons hiervoor een zeer goede methode aan de hand gedaan door voor-extractie met aceton. Het is vooral, dank zij deze voor-extractie, dat bruikbare resultaten werden verkregen, al waren reeds eerder aanzienlijke verbeteringen in de methode aangebracht. Een der eersten, die in deze richting gewerkt heeft, was *H. Weber* (105). Deze zocht naar een methode, om de bloedkleurstof in een zoo helder mogelijk extract te verkrijgen. Gedestilleerd water lost slechts sporen op; zoutoplossingen als borax en cyaankali doen het beter, heel goed alcaliën en ammoniakwater. Het bezwaar is echter, dat deze alcalische oplossingen uiterst langzaam door het filter loopen en het uren duurt, eer men een voldoende hoeveelheid helder extract verzameld heeft. Zuren in waterige oplossing laten zich beter filtreren, doch nemen relatief weinig bloedkleurstof op, zoodat de gevoeligheid der methode lijdt. Organische zuren en voornamelijk azijnzuur bleken voor dit doel het meest geschikt. Men kan de oplosbaarheid nog verhoogen door alcohol bij het azijnzuur te voegen, hetgeen echter het bezwaar heeft, dat andere kleurstoffen, o.a. die uit de gal, medegesleept worden en het spectroscopereen bemoeilijken. Veel beter is het de bloedkleurstof eerst op te lossen in azijnzuur en dit dan uit te schudden met aether. Na enkele minuten scheidt zich een bovenste heldere gekleurde laag af, die soms bruinrood ziet tengevolge van het opgeloste haematine. Soms willen de vloeistoffen niet goed scheiden. Het scheiden kan gemakkelijk bevorderd worden door een paar druppels alcohol toe te voegen. Valt de proef positief uit, dan is het spectrum te zien van zure haematine in aetherische oplossing, dat vier absorptiebanden heeft.

- | | | |
|-----------------|----------------------|--------------------|
| 1 in rood | μ 633— μ 627 | scherp |
| 2 in geel | μ 573— μ 577 | zeer zwak |
| 3 in geelgroen | μ 558— μ 527 | sterk |
| 4 in groenblauw | μ 515— μ 490 | vaak niet te zien. |

In den regel is alleen de streep in het rood zichtbaar. Reeds *Weber* wees er op, hoe dit spectrum te onderscheiden is van dat van chlorophyl. De eenigszins geoefende onderzoeker zal hiermede weinig moeite hebben, daar de streep in het rood van het chlorophyl belangrijk hooger ligt (675—650). Bovendien kan het haematine door behandeling van het zure aether-extract met alcoholische kaliloog en zwavelammonium veranderd worden in gereduceerd haematine = haemochromogeen met een karakteristiek spectrum, dat twee banden bevat:

$$\begin{array}{l} \mu \text{ 577}—\mu \text{ 542} \\ \mu \text{ 528}—\mu \text{ 510.} \end{array}$$

Het spectrum van het chlorophyl wordt door deze handelwijze niet veranderd.

Een bezwaar dezer reactie is voornamelijk daarin gelegen, dat zij niet gevoelig genoeg is. Eerst bij een vrij hoog bloedgehalte der faeces valt zij positief uit. Het was *Z. Donogany* (106), die er op wees, dat het spectrum van haemochromogeen veel intensiever is dan dat van haemoglobine en haematine. Omzetting van het haematine tot haemochromogeen werd daarom aanbevolen. Door een toeval ontdekte *Donogany* (107) de reduceerende eigenschap van het pyridine: hij kon n.l. met behulp van pyridine haemochromogeenkristallen maken.

Uit onze vorige besprekingen moge gebleken zijn, dat de werking van pyridine niet uitsluitend op reductie berust, doch dat er tevens een verbinding ontstaat tusschen pyridine en haemochromogeen. Het aldus ontstaande pyridine-haemochromogeen heeft ongeveer hetzelfde spectrum als het haemochromogeen zonder meer.

Pyridine lost tevens het haematine fraai op, zoodat het gebruikt kan worden om een extract te maken uit de faeces (*O. Leers* (108)). In pyridine gaan echter ook stoffen over, die bij het spectroscopereen storen, zooals chlorophyl. Het is dus wenschelijk, ook bij deze methode van onderzoek den proefpersoon zich van chlorophyl bevattende voedingsmiddelen te doen onthouden.

Aan de extractiemethode van pyridine kleven echter verschillende bezwaren. De reduceerende eigenschap van het

pyridine is niet zeer groot, zoodat men een vrij groote hoeveelheid vloeistof moet gebruiken, hetgeen de gevoeligheid der methode niet ten goede komt. Zoodra echter het haematine met behulp van pyridine eenmaal gereduceerd is, verdwijnt het spectrum snel en komt na toevoegen van een nieuwe hoeveelheid reductiemiddel niet meer terug. Wanneer na extractie der faeces met pyridine het filtreren even ophoudt, wat zoo vaak voorkomt, zal men dus op grond van het niet vinden van een haemochromogeen-spectrum niet mogen besluiten, dat het er niet in aanwezig is geweest. Natuurlijk kan men voor de extractie minder pyridine gebruiken, doch dan is men genoodzaakt, teneinde een voldoende reductie te krijgen, een paar druppels zwavelammonium of een ander reduceerend middel toe te voegen. Daarbij echter gebeurt het soms, dat er een groene verkleuring in de vloeistof optreedt; deze kan het spectrum dermate verduisteren, dat een goede waarneming onmogelijk gemaakt wordt. Dit bezwaar is te ondervangen door een ander reductiemiddel te gebruiken, waarvoor het veel duurdere hydrazinehydraat vooral door *Schumm* wordt aanbevolen.

Overigens kunnen wij op grond van onze waarnemingen mededeelen, dat het spectrum van pyridine-haemochromogeen niet zoo heel snel verdwijnt. Eenmaal waren wij zelfs in de gelegenheid nog na drie uur een duidelijk spectrum daarvan te zien. Zóó lang blijft het spectrum zeker niet bestaan, wanneer men eenmaal zwavelammonium heeft toegevoegd. Dan is het spectrum na een paar minuten zeker verdwenen.

De zeer onaangename lucht van het pyridine is voor velen ongetwijfeld een nadeel.

Nog een andere bijzonderheid betreffende de pyridine-extractie, die ons bij deze proefnemingen opviel, willen wij hier vermelden.

Bij de extractie van faeces, die van de ijzerhoudende bloedpigmenten zoowel haematine als copratine bevatten, zagen wij meerdere malen in het pyridine alleen het spectrum van het gereduceerde copratine verschijnen. Misschien is de reden hiervan, dat copratine gemakkelijker gereduceerd wordt dan haematine. Waarschijnlijker lijkt het ons echter, dat copratine

iets makkelijker in de extractievloeistof overgaat dan haematine; want soms zagen wij na iets langere extractie beide spectra.

Deze laatste bevinding sluit tevens de mogelijkheid uit, dat onze waarneming was toe te schrijven aan een sneller verdwijnen van het spectrum van het pyridine-haemochroom dan van dat van de gereduceerde copratineverbinding = deuterohaemochroom.

Of van deze waarneming wellicht gebruik gemaakt zal kunnen, worden mengsels van copratine en haematine te scheiden, zal voortgezet onderzoek moeten uitmaken. Tot nu toe is hiervoor geen methode bekend. Wel kan men natuurlijk zoowel het haematine als het copratine hun ijzer ontnemen, waardoor een mengsel van protoporphyrine en copratoporphyrine ontstaat. Dit mengsel is vrij goed te scheiden, zoodat men het protoporphyrine en het copratoporphyrine afzonderlijk verkrijgt. In deze porphyrinen kan men dan daarna het ijzer weer invoeren en zoo verkrijgt men langs een omweg haematine en copratine naast elkander.

Ofschoon wij de wijze, waarop deze reacties verricht worden, nog niet beschreven hebben, willen wij nu reeds zeggen, dat het een zeer omslachtige werkwijze is. Een vereenvoudiging der methode zou dus ook zeer toe te juichen zijn. Als extractiemiddel keuren wij het pyridine echter af.

De methode van *Weber*, zooals die door ons reeds eerder beschreven werd, is door de vóórextractie veel verbeterd, eigenlijk eerst bruikbaar geworden. De bedoeling van de vóórextractie is, de faeces zooveel mogelijk te ontdoen van storende stoffen; met andere woorden, de bloedafbraakproducten te concentreren. Vooral storend zijn urobiline en plantenkleurstoffen.

Als voorextractiemiddel wordt door *Fischer* en *Schumm* (109) vooral gebruik gemaakt van alcohol en daarna aether in navolging van *Boas*. Daar bloedafbraakproducten in een neutraal alcohol-aether-mengsel niet oplossen, verdient het aanbeveling, uitgesproken zuur reageerende faeces van te voren met soda te neutraliseeren. Wij hebben bij onze onderzoekingen steeds gebruik gemaakt van aceton als extractie-

middel, hetwelk daartoe voor het eerst door *Snapper* was aanbevolen. Een groot voordeel daarvan is, dat het goedkoop is en gemakkelijk teruggedestilleerd kan worden. Het onttrekt aan de faeces vrijwel alle vocht, zoodat men na behandeling hiermede een zeer gemakkelijk te verwerken droge poeder overhoudt.

Fischer vindt beide methoden even goed. Ons viel op, dat, wanneer het bloedgehalte der faeces aanzienlijk was, in het aceton meerdere malen haemochromogeen-spectra na toevoeging van pyridine en zwavelammonium waren te zien. Dit houdt zeker verband met het vochtgehalte, want, als wij de faeces in een droogpistool droogden (in vacuum bij 65° en 17 mm. druk), daarna verwreven met aceton en filtreerden, was in het filtraat geen haemochromogeen aan te toonen.

Waar haematine niet oplosbaar is in neutraal water en aceton, doet zich de vraag voor, of de fractie die met aceton uit de faeces wordt gehaald, niet haemoglobine is, daar dit wel oplosbaar is in water. Het is slechts een vraag die wij opwerpen. In de aceton hebben wij echter nooit haemoglobine direct kunnen aantonen; wel haemochromogeen na toevoegen van pyridine en zwavelammonium. Dat wij geen haemoglobine-spectrum hebben kunnen aantonen, bewijst nog niet, dat in aceton geen haemoglobine aanwezig is geweest, want de hoeveelheid hiervan zou vrij aanzienlijk moeten zijn, om dit weinig scherpe spectrum zichtbaar te doen zijn, temeer, daar in aceton tevens vele storende stoffen (urobiline) overgaan. Bovendien moet er rekening mede gehouden worden, dat aceton de bloedkleurstof in een haeminderivaat omzet, gelijk door *Haurowitz* (110) werd aangetoond.

Van de voordeelen van het pyridine, dat het uit haematine haemochromogeen doet ontstaan en hiermede tevens een verbinding vormt met zulk een karakteristiek scherp spectrum, werd door *Karoly* (111) gebruik gemaakt bij het toepassen der methode van *Weber*. Hij begint te extraheeren met alcohol en aether. Daarna brengt hij de bloedafbraakproducten in ijsazijn en voegt dan pyridine en zwavelammonium toe. Om geen last te hebben van de, in oude zwavelammoniumoplossingen steeds aanwezige zwavel, die in dit zure milieu niet in op-

lossing kan blijven, moet de zwavelammoniumoplossing steeds versch bereid worden, wat eenigermate een bezwaar is.

Inplaats van met ijsazijn alleen, kan ook uitgetrokken worden met ijsazijn en aether of met ijsazijn en alcohol. Het zure milieu heeft het nadeel, dat het spectrum van haemochroom geen daarin zeer onbestendig is.

Voor dengene, die met het spectroscopereen nog niet vertrouwd is, verdient misschien een door *Snapper* (112) in 1916 aangegeven methode de voorkeur. Daarbij wordt een alcalisch extract gemaakt van kaliloog, pyridine en alcohol. Voegt men nu zwavelammonium (5 druppels) toe, dan blijft het spectrum veel langer bestaan en men heeft bij gebruik van oud zwavelammonium geen last van de daarin aanwezige zwavel, die — gelijk gezegd — in zure omgeving neerslaat.

Deze methode is echter door velen, ook door *Snapper* zelf verlaten, ook al wegens de zeer onaangename lucht bij het werken volgens deze methode.

Een geheel nieuwe phase in de diagnostiek van de occulte bloedingen trad in, toen *Snapper* (113) wees op de aanwezigheid van porphyrinen in de faeces en tevens een eenvoudige methode aangaf, om deze aan te toonen.

Het was hem opgevallen, dat in het ijsazijn-aether-extract somtijds een driebandig spectrum te zien is, verschillend van dat van chlorophyl en van zure haematine.

smalle band in het rood	μ 635
breede band in het geel	μ 590— μ 580
breede band in het groen	μ 550— μ 535,

terwijl het spectrum van het zure haematine als volgt is:

sterke band in rood	μ 645— μ 635
schaduw in geel	μ 585— μ 580
sterke band in groen	μ 570— μ 550.

Niet alleen de plaats, doch ook het karakter der strepen is verschillend.

Een merkwaardigheid van de stof die het eerste spectrum vertoonde, was, dat na toevoegen van zoutzuur het driebandig spectrum overging in een met twee banden, n.l.:

smal μ 605— μ 600
 breed μ 565— μ 550

tusschen beide strepen een zwakke absorptie.

Juist deze laatste eigenaardigheid, het na toevoegen van zoutzuur overgaan van een drie- in een tweebandig spectrum, deed bij *Snapper* de veronderstelling opkomen, dat hij hier met porphyrienen te doen had. Met nadruk wijst *Snapper* er op, dat het onjuist zou zijn deze stof als haematoporphyrine te betitelen, daar dit laatste een zeer bepaald porphyrine is. Hij beveelt daarom den naam porphyrine zonder meer aan. Wij wijzen hierop, omdat men ook nog in de nieuwste literatuur af en toe mededeelingen leest over haematoporphyrine, waar de schrijver, zooals uit zijn verdere mededeelingen valt op te maken, andere, vaak niet-geïdentificeerde porphyrine-modaliteiten op het oog heeft.

Het spectrum van het zure porphyrine was in *Snapper's* proeven weer gemakkelijk over te voeren in dat van het alcalische. Daartoe werd de zoutzuurlaag, die zich gevormd had, zoo noodig na toevoegen van nog wat aether, afgepipetteerd en met ammoniak alcalisch gemaakt. Een voordeel dezer methode is, dat vele storende stoffen verwijderd worden en het spectrum veel helderder wordt. In deze omstandigheden ziet men ook den vierden band van het alcalische porphyrine, welke gelegen is bij μ 520— μ 495.

Bovendien is nog een groot voordeel dezer werkwijze, dat het haematine niet in het zoutzuur overgaat, doch in den aether achterblijft, m.a.w. beide stoffen kunnen langs dezen weg gescheiden worden. Tevens blijft, volgens *Snapper*, in den aether mogelijk aanwezig chlorophyl achter. Dit laatste kunnen wij evenwel niet als een voordeel dezer methode zien, want het chlorophyl-spectrum stoort dat van het haematine, resp. van het copratine en haemochromogeen, terwijl het onderzoek naar die lichamen nog waardevoller gegevens kan verstrekken dan het vinden van porphyrienen. Bovendien blijft het chlorophyl niet altijd geheel in den aether achter: meerdere malen zagen wij het spectrum van chlorophyl ook in de zoutzuurfractie.

Hieruit volgt nog eens weer de wenschelijkheid, bij het on-

derzoek naar occult bloed, chlorophylhoudende voedingsmiddelen uit het voorbereidend diët te schrappen.

Met opzet hebben wij deze onderzoeken van *Snapper* wat uitvoeriger besproken, daar zij den grondslag vormen, waarop verdere onderzoekers voortgebouwd hebben. Zijn methode is, in het kort samengevat, als volgt:

Een hoeveelheid faeces van enkele grammen wordt uitgetrokken met aceton. De overblijvende massa wordt gedroogd tusschen filtreerpapier, daarna geëxtraheerd met een mengsel van één deel ijsazijn en drie deelen aether of aethylacetaat. Soms ziet men daarin dan terstond het haematine-spectrum, andere malen zal men, na toevoegen van pyridine en zwavelammonium het spectrum van het haemochromogeen van haematine, resp. van copratine te zien krijgen. Ook ziet men dikwijls mengspectra. Het spectrum van het haemochromogeen, uit haematine afkomstig, bespraken wij reeds. Dat van het copratine = deuterohaemochromogeen is als volgt:

scherpe streep op μ 545

zwakke streep op μ 516.

Tot zoover, wat betreft de spectroscopische beschouwing van het eerste gedeelte van het filtraat. De rest daarvan wordt nu uitgeschud met zoutzuur (5 %) en onderzocht op de aanwezigheid van het spectrum van porphyrinen.

Vaak is het porphyrine-spectrum, op deze wijze verkregen, niet scherp, daar storende stoffen het vertroebelen. Men kan het dan zuiveren door het alcalisch te maken met ammoniak en daarna met water uit te wasschen; ook het toevoegen van natriumacetaat, tot congorood niet meer blauw wordt, geeft fraaie resultaten. In beide gevallen zal het verkregen spectrum hetzelfde zijn. Want oplossingen van porphyrine in organische zuren, dus ook in azijnzuur, hebben hetzelfde spectrum als alcalische oplossingen. Desgewenscht kan men de azijnzure of alcalische oplossingen met aether uitschudden; men verkrijgt dan het spectrum van porphyrine in aether, dat vier banden heeft en buitengewoon scherp is. Het uitwasschen met water, dat hierboven werd aanbevolen, heeft nog het voordeel, dat hiermede vele storende stoffen worden verwijderd.

In het vorige hoofdstuk vermeldde wij reeds het onderzoek van *Papendieck* (114), die aantoonde, dat bij bloeding in maag of ingewanden naast het in de faeces altijd voorkomende coproporphyrine nog een andere porphyrinemodaliteit gevonden wordt. Het spectrum, zooals *Snapper* dit opgeeft, komt niet overeen met dat van het coproporphyrine; het lijkt wel eenigszins op dat van het uroporphyrine. Doch daar dit laatste niet oplosbaar is in aether, vervalt de mogelijkheid, dat het door *Snapper* aangetroffen porphyrine uroporphyrine zou kunnen zijn.

Het bleek nu aan *Papendieck*, dat uitschudden van de zoutzure porphyrine-oplossing met chloroform een fractie in deze laatste vloeistof deed overgaan. In het 25 % zoutzuur bleef alleen coproporphyrine achter. Het is de fractie, die in de chloroform overgaat, die volgens *Papendieck* de aanwezigheid van een bloeding zou bewijzen. Terwijl *Papendieck* niet nauwkeurig den aard dezer porphyrinemodaliteit wist te bepalen, hebben *Hans Fischer* en *Karl Schneller* (115) het geïdentificeerd met het porphyrine van *Kämmerer*, dat is met protoporphyrine, dat wij reeds eerder bespraken. Het ontstaat, gelijk men zich zal herinneren, door bloed en bouillon te enten met faeces-bacteriën. Bovendien bleek het, dat, wanneer men de oplossingen voldoende zuiverde, spectra van proto- en coproporphyrine gescheiden bleven.

Voor het onderzoek naar de porphyrinen in faeces beveelt *Fischer* op grond van dit alles de volgende methode aan. Vooraf zij er op gewezen, dat de door hem gebruikte hoeveelheden wenschelijk zijn voor den beginner, doch dat de oefende met veel kleinere hoeveelheden kan volstaan, b.v. met 10 gr. Volgens *Fischer* dan beginne men 300—400 gr. faeces te extraheeren met 200 cc. alcohol en 400 cc. aether, of ook met een gelijke hoeveelheid aceton. Het praecipitaat wordt geëxtraheerd met 100 cc. ijsazijn en 300 cc. aether. Vervolgens wordt eenige malen nagewasschen met water, waardoor het azijnzuur en tal van storende begeleidende stoffen verwijderd worden. Daarna wordt de aetherische oplossing uitgeschud met 5 % HCl.

Wil men nog verder zuiveren, dan worden aan de zoutzure

oplossing Na-acetaat en ijsazijn toegevoegd. Aldus gaan de porphyrinen weder in het ijsazijn over, dat vervolgens wederom met aether wordt uitgeschud.

Deze bewerking kan herhaald worden tot men volkomen scherpe spectra krijgt. Het is gewenscht de ligging der absorptiebanden zoowel in de aetherische en zoutzure als eventueel in de alcalische ($1/10$ Na OH) oplossingen te bepalen.

Toen *Schumm* (116), na het copratoporphyrine ontdekt te hebben, aantoonde, dat het soms in de faeces voorkomt en de klinische beteekenis ervan in het licht stelde, werd het noodig naar een nieuwe methode te zoeken om verschillende porphyrinen van elkander te onderscheiden, daar de spectra van copro- en copratoporphyrine zeer met elkander overeenkomen. Inderdaad: beschouwt men het spectrum van het copratoporphyrine in een of ander oplosmiddel, dan valt de groote gelijkenis daarvan met dat van het coproporphyrine op. Het is dan ook zeer begrijpelijk, dat de copratomodaliteit langen tijd onopgemerkt gebleven is.

Wij willen hier allereerst in het kort beschrijven, hoe men zich in het bezit kan stellen van copratoporphyrine.

Het meest eenvoudige is het, uit te gaan van een oplossing van copratine. Het zal niet al te moeilijk zijn deze te verkrijgen, want meerdere malen onderzochten wij faeces, waarin van de ijzerhoudende bloedafbraakproducten slechts het copratine aanwezig was. Zulke faeces worden allereerst met aceton van vele ballaststoffen bevrijd. Dan worden, na goed drogen, ongeveer 10 gr. geëxtraheerd met 50 cc. ijsazijn en 150 cc. aether. Het ijsazijn wordt met water zooveel mogelijk uitgewasschen. De aether bevat nu het copratine en de porphyrinen. Om de porphyrinen te verwijderen, wordt driemaal uitgeschud met telkens 10 cc. 25 % zoutzuur. Is dit gebeurd, dan wast men de aetherische oplossing eenige malen met water na om het zoutzuur grootendeels kwijt te raken. Wij raden aan hiertoe liever herhaalde malen met kleine hoeveelheden water na te wasschen, dan weinige malen met een grootere hoeveelheid, daar, wanneer de oplossing minder zuur wordt, de scheiding tusschen aether en water lang op zich kan laten wachten. Het is noodig zóo lang te wasschen, tot de aether

congorood niet meer blauw kleurt. De nu overblijvende, het copratine bevattende aetherische vloeistof wordt op een warm waterbad in vacuo ingedampt, totdat er ongeveer 10 cc. vloeistof overblijven. Hieraan voegt men 30 cc. ijsazijn en drie druppels hydrazine-hydraat toe. Deze vloeistof wordt gedurende vijf minuten op een kokend waterbad verwarmd; vervolgens laat men haar 20 minuten staan. De afgekoelde vloeistof wordt met ongeveer 100 cc. aether overgoten en eenige malen (4 maal) met water gewasschen. Beschouwt men thans deze vloeistof in *Wood's* licht, dan is het verwonderlijk te zien, hoe de oorspronkelijk groezelige vloeistof thans een schitterend warmrood fluoresceerend licht uitstraalt, veroorzaakt door het aanwezige copratoporphyrine.

De methode, zooals hierboven beschreven, is ingevoerd door *Papendieck* en *Bonath* (117) en schijnt ons de eenvoudigste toe in de reeks methoden, die aangegeven zijn voor het ontijzeren van porphyratinen.

Wij beschreven de geheele werkwijze wat uitvoeriger, omdat wij in het begin van onze proefnemingen moeilijkheden ondervonden bruikbare resultaten te verkrijgen, welke moeilijkheden voortsproten uit het niet juist kiezen der onderlinge hoeveelheden.

Wij zeiden, dat de boven beschreven methode bruikbaar is voor het ontijzeren van porphyratinen. Daarbij hebben wij het oog op de porphyratinen van dierlijken oorsprong. Eenigszins anders zal men handelen bij bewerking van plantaardige porphyratinen. Deze kan men heel eenvoudig verkrijgen uit gist, haverhout, boonen en nog vele andere voedingsmiddelen. Men stampt het materiaal eerst zoo fijn mogelijk of laat het gedurende eenige uren weken in ijsazijn. Vervolgens wordt geëxtraheerd met aether of nog beter met chloroform, daar oude aether soms oxydeerend werkt en dus de porphyratinen niet worden teruggevonden. Deze vloeistof wordt ingedampt, daarna in ijsazijn gebracht. Voegt men thans eenige druppels hydrazine-hydraat toe, dan ontstaat reeds na enkele minuten in de koude protoporphyrine. De plantaardige porphyrinen vallen dus gemakkelijker uiteen dan copratine en haematine. Daarom kan men dan ook voor het opsporen van de uit bloed

gevormde porphyrinen in faeces gerust gebruik maken van ijsazijn en aether. Vervangen van aether door chloroform is hierbij niet noodig.

Dit gemakkelijker uiteenvallen der plantaardige porphyratinen kan misschien onze bevinding verklaren, dat na het gebruik van groote hoeveelheden plantaardig voedsel, waarin veer porphyratinen bevat zijn, nooit haemochromogeen-spectra in de faeces werden gevonden. Zoo gebruikte een proefpersoon 400 gr. gekookte witte boonen per dag. Ofschoon, zooals wij vroeger reeds vermeldde, een extract van gekookte boonen een sterk haemochromogeen-spectrum geeft, werd in de faeces van dezen proefpersoon geen haemochromogeen-spectrum aangetroffen.

Beschreven wij, hoe uit porphyratinen porphyrinen kunnen worden verkregen, omgekeerd kan men uit porphyrinen weder porphyratinen maken, door er volgens de methode van *Zaleski* (118) het ijzer weder in te voeren.

Voert men in het protoporphyrine volgens deze methode ijzer weder in, dan ontstaat een stof, die alle eigenschappen heeft van het haematine. Evenzoo ontstaat door het invoeren van ijzer in het copratoporphyrinemolecuul copratine.

Deze beide porphyratinen zijn de eenige, die bij het onderzoek der faeces in aanmerking komen.

Het spreekt wel vanzelf, dat er nog veel meer ijzerporphyrineverbindingen zijn. Hun aantal is even groot als dat der porphyrinen. Daar, wanneer men in protoporphyrine ijzer invoert, een met haematine overeenkomend lichaam ontstaat, wordt het gewone haematine ook wel proto-oxyhaemine genoemd (*Haurowitz* (119)), of afgekort oxyhaemine (*Hamsik* (120)).

Na deze opmerkingen keeren wij terug tot het copratoporphyrine.

Heeft men een oplossing bereid van copratoporphyrine in aether en beschouwt men deze met het spectroscop, dan valt een groote gelijkenis met het spectrum van coproporphyrine op. Toch zijn er verschillen en wel van dien aard, dat men de beide spectra met zekerheid uit elkaar kan houden, mits men over voldoende oefening en over een goed apparaat beschikt.

In mengsels van copro- en copratoporphyrine zijn echter door bezichtiging van het spectrum beide stoffen onmogelijk uit elkaar te houden. Het was dus noodig een methode uit te werken, die veroorlooft deze porphyrinen te scheiden.

Voor het scheiden van kleine hoeveelheden — bij het onderzoek van faeces heeft men altijd slechts over kleine hoeveelheden de beschikking — wordt het meest gebruik gemaakt van de gefractioneerde methode van *R. Willstätter* en *Mieg* (121).

Wij weten, dat de porphyrinen uit een aetherische oplossing in zoutzuur kunnen worden overgebracht. Neemt men nu zoutzuuroplossingen van verschillende sterkten, dan blijkt voor elke porphyrine een bepaalde zoutzuurconcentratie te bestaan, waarbij de grootste hoeveelheid ($\frac{2}{3}$) dier porphyrinemodaliteit in het zoutzuur overgaat. Elke porphyrinesoort heeft haar eigen zoutzuurgetal, dat samenhangt met haar meer of minder basisch karakter. Schudt men den aether uit met 0.1 % HCl, dan gaat daarin voornamelijk coproporphyrine, in 0.4 % HCl vooral het copratoporphyrine over. Met een sterkere zoutzuuroplossing laat zich het protoporphyrine uitschudden. Zoo kan men de porphyrinen gefractioneerd scheiden.

Uit de zoutzure oplossingen laten zich dan weer gemakkelijk de porphyrinen in aether brengen, waarna men ze spectrometisch uitmeten kan.

Gewoonlijk zal het gewenscht zijn de zoutzure oplossing, alvorens deze met aether uit te trekken, te zuiveren. Daartoe voegt men er natriumacetaat en ijsazijn aan toe, waarna men met aether uitschudt. Deze aetherische oplossing wordt daarop met water nagewasschen, waardoor zij van vele ballaststoffen bevrijd wordt. Kiest men de hoeveelheid aether niet te groot, dan gelukt het in den regel een voldoende geconcentreerde oplossing te verkrijgen, om het spectrum duidelijk te kunnen waarnemen. Er zij met nadruk op gewezen, dat de absorptiebanden in de aetherische oplossing zeer fraai te zien zijn en een meer juistere beoordeeling mogelijk maken dan in zoutzure oplossingen. Om grootere zekerheid te krijgen over de porphyrinemodaliteit, die men voor zich heeft, wordt het

verrichten van spectrochemische reacties aanbevolen, waarvan wij er enkele willen noemen.

Nadat men het spectrum der aetherische oplossing, waarin nog wat ijsazijn is achtergebleven, heeft bepaald, wordt de aether met 25 % zoutzuur uitgeschud; daardoor gaat het uit vier banden bestaande spectrum over in een met twee banden.

Ook kan men de porphyrinen in geconcentreerd zwavelzuur brengen (98 %). Voor het onderscheiden van copro- en copratoporphyrine heeft dit weinig waarde. Terwijl het haematoporphyrine van *Nencki* in oplossing van 25 % HCl een opvallend ander spectrum te zien geeft dan in geconcentreerd zwavelzuur, is dit bij copro- en copratoporphyrine het geval niet. Daarentegen danken wij een voortreffelijk middel om copro- en protoporphyrine van elkander te scheiden in de oplosbaarheid van protoporphyrine in chloroform in tegenstelling tot de onoplosbaarheid van coproporphyrine in deze vloeistof. Een porphyrine, dat uit een oplossing in 25 % HCl overgaat in chloroform, kan geen coproporphyrine zijn, doch zal of proto- of copratoporphyrine moeten zijn. Met de scheiding van proto- en copratoporphyrine ondervonden wij meer moeilijkheden. Bij herhaling bleek ook ons, dat copratoporphyrine, hoewel in mindere mate dan het protoporphyrine, in chloroform overgaat.

Eindelijk willen wij nog de broomreactie noemen. Een groot bezwaar hiervan is, dat volgens *Schumm* de prismaspectrocoop niet geschikt is deze reactie te beoordeelen. Hiervoor is een traliespectrocoop noodig, omdat deze bijzonderheden laat zien in het rechter deel van het spectrum, die zich bij gebruik van een prismaspectrocoop aan het oog onttrekken. Wij voerden de reactie uit op de wijze, zooals deze door *E. Mertens* (122) beschreven werd. Oorspronkelijk is de methode aangegeven door *V. Arnold* (123). *Schumm* (124) heeft haar ingevoerd voor het onderscheiden van verschillende porphyrinen. *E. Mertens* verbeterde de methode door het porphyrine in een alcoholische broomoplossing te brengen, waardoor de reactie langzamer verloopt en dus beter te volgen is; bovendien heeft men daarbij niet zoo spoedig een overmaat van broom.

Gingen wij uit van een oplossing van het porphyrine in

aether, dan werd deze vloeistof ingedampt. Vervolgens werden eenige cc. der versch bereide alcoholische broomoplossing 1/500 toegevoegd en werd gespectroscopieerd. Het spectrum was dan geheel veranderd.

In het geval van coproporphyrine ziet men:

In het rood drie zwakke strepen μ 656, μ 636 en μ 618

Een scherpe streep op de grens

van groen-blauw μ 499.5

Een zwakkere streep in het blauw μ 470

Vrij spoedig komt bij μ 510 nog een streep.

Bij protoporphyrine:

Een scherpe streep bij μ 640 en μ 618.

Een bredere wazige band in het groen-blauw, waarin op ongeveer μ 496 een opheldering ligt. Laat men de oplossing even staan, dan wordt de band op μ 640 minder sterk; die op μ 618 wint aan intensiteit.

Voor copratoporphyrine:

Er bestaat geen onderscheid met protoporphyrine.

De methode heeft dan ook in dit verband alleen waarde voor het onderscheiden van coproporphyrine van de beide andere porphyrinen.

Het laat zich dus begrijpen, dat, wanneer mengsels van porphyrinen aanwezig zijn, zooals in het meerendeel der gevallen, de broomreacties niet scherp verlopen en twijfelachtig resultaat opleveren. Heeft men zuivere oplossingen, dan verlopen de reacties met gefractioneerd extraheeren geheel zooals boven beschreven. Helaas heeft men evenwel zoo zelden volkomen zuivere oplossingen. Meerdere malen zagen wij in de 0.4 % HCl-fractie zoowel copro- als protoporphyrine, eventueel ook nog copratoporphyrine. Wij brachten in den regel zulke mengsels van porphyrinen nog in 25 % HCl, waarna bij uitschudden met chloroform veel protoporphyrine in dit oplosmiddel kon worden gebracht. Dikwijls ziet men dan ook nog copratoporphyrine in zekere hoeveelheid mede in de chloroform gaan. Twijfelt men, of copro- dan wel copratoporphyrine aanwezig is, dan is het uitschudden met CHCl_3 een waardevol hulpmiddel. Coproporphyrine zagen wij hierin nooit overgaan.

HOOFDSTUK VIII.

Onderzoek naar occult haemoglobine.

O. Schumm oppert in zijn boek „Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe” de veronderstelling, dat in faeces onder bepaalde omstandigheden onveranderd haemoglobine zou kunnen optreden (S. 202). „Dasz... eine Durchsetzung der Fäces mit beträchtlichen Mengen unzersetzten Hämoglobin mindestens sehr selten ist, eine Durchsetzung mit Spuren Hämoglobin aber durch dessen unmittelbaren Nachweis nur höchst schwierig einwandfrei festgestellt werden kann”.

Boas (125) heeft dit vraagstuk nader onder oogen gezien en het eerst in zijn artikel „Neue Fortschritte auf dem Gebiete der okkulten Blutungen” hierover zijn bevindingen medegedeeld. Reeds dadelijk dient gezegd te worden, dat hij occult haemoglobine nooit als zoodanig of als oxyhaemoglobine heeft kunnen aantoonen, doch steeds slechts langs indirecten weg, d.w.z. door „haemoglobine” om te zetten in haemochromogeen.

De reden daarvan is duidelijk: immers zoowel haemoglobine als oxyhaemoglobine moeten in vrij hoge concentratie in oplossing zijn, willen zij een voldoende duidelijk spectrum geven. Haemoglobine geeft geen scherpe absorptiebanden, oxyhaemoglobine wel; doch reöxydatie van haemoglobine tot oxyhaemoglobine gelukt bij de door *Boas* beschreven methode niet.

Het was *Boas* opgevallen, dat wanneer faeces langen tijd met neutralen alcohol of aether werden geëxtraheerd, de ben-zidine- resp. guajacreatie in dit filtraat positief uitviel. Ook gelukte het hem spectroscopisch haemochromogeen aan te toonen. Daartoe extraheerde hij een weinig faeces langen tijd met neutralen alcohol, maakte het extract alcalisch met 50 %

kaliloog, voegde vervolgens 2 à 3 druppels pyridine toe en 1 à 2 druppels hydrazinehydraat. Er ontstond dan soms een mooi haemochromogeen-spectrum.

Uit het feit, dat haematine niet oplosbaar is in neutralen alcohol, doch haemoglobine wel, besluit *Boas*, dat in de faeces occult haemoglobine aanwezig moest zijn.

In een latere publicatie beveelt *Boas* (126) aan minder sterken alcohol te gebruiken (25 %). Eerst moeten de faeces zóó lang met volkomen zuiver aceton gewasschen worden, tot de laatste fractie na $\frac{1}{2}$ uur staan nagenoeg kleurloos blijft.

Vervolgens wordt het praecipitaat zoolang in de broedstoof of bij kamertemperatuur gedroogd, tot een massa overblijft, die in een mortier tot een fijn poeder verwreven kan worden. Dit poeder wordt met 25 % alcohol langen tijd geschud of verwreven en vervolgens wordt gefiltreerd. Deze filtratie moet zoo vaak herhaald worden, tot een helder filtraat overblijft. Op dit filtraat kunnen nu kleurreacties verricht worden, terwijl men ook de vloeistof kan spectroscopereen, eventueel na omzetten van het haemoglobine tot pyridine-haemochromogeen.

Op die wijze meent *Boas* herhaalde malen occult haemoglobine in de faeces te hebben kunnen aantoonen.

Indien het haemoglobine in den darm niet afgebroken wordt, moet dit op pathologische stoornissen berusten. Als zoodanig denkt *Boas* aan het ontbreken van maagzuur, versnelde darmpassage, terugvloeien van gal of pancreassap, pathologische samenstelling van gal of pancreassap, afsluiting der galwegen, pathologische stuwings- of gistingstoestanden in dunnen of dikken darm en verder aan talrijke abnormale mechanische of secretorische invloeden. Na een vrij groote reeks van onderzoekingen viel het *Boas* op, dat vooral in de faeces van patiënten, lijdende aan carcinoom van maag, van dunnen of dikken darm, occult haemoglobine het meest en het meest constant voorkwam. Bij bloedingen van niet-carcinomateuzen aard ziet men occult haemoglobine zelden. Wel treedt het een enkele maal in de faeces na een groote bloeding op, doch dan kan van occulte bloeding niet meer gesproken worden en bovendien is het dan zeer spoedig weer verdwenen.

Deze door *Boas* aangegeven werkwijze geeft ons aanleiding tot eenige opmerkingen.

In de eerste plaats de eisch, dat, zoolang met aceton ge-extraheerd moet worden, de laatste fractie na een half uur staan nog nagenoeg kleurloos blijft.

Aan deze opgave kan zeker voldaan worden, doch daartoe zijn zeer groote hoeveelheden aceton noodig. Dat bovendien aanzienlijke hoeveelheden van mogelijk aanwezig haemoglobine hierdoor vernietigd worden, zooals *Haurowitz* aantoonde, vermeldden wij reeds.

Bovendien vonden wij niet vermeld, of de faeces vóór de extractie geneutraliseerd werden. Gebeurde dit niet, dan zal men zeker niet mogen besluiten, dat geen haematine in het filtraat aanwezig is, want het extract is dan vaak niet neutraal meer. De filtratie van faeces, na verwrijven met 25 % alcohol (10—20 cc.), geeft in den regel groote moeilijkheden, ja, is zelfs vaak onmogelijk. Een enkele maal kan men weliswaar enkele cc. filtraat krijgen. Is de vloeistof niet helder, dan kan zij niet gespectroscopieerd worden. Volgens *Boas* moet men dan herhaald filtreren. Wij hebben met vele soorten filters gewerkt, doch het gelukte ons slechts bij uitzondering filtraat te krijgen voldoende helder voor spectroscopisch onderzoek.

Dat men met 25 % alcohol zeker niet alleen haemoglobine extraheert, konden wij bewijzen. Voegden wij bij enkele cc. van zulk een helder filtraat een paar druppels pyridine en hydrazinehydraat, resp. zwavelammonium, dan zagen wij enkele malen het spectrum van deuterio-haemochromogeen. In den alcohol moest dus copratine overgegaan zijn, want een omzetting van haemoglobine in copratine kon op deze wijze onmogelijk tot stand gekomen zijn. Enkele malen echter zagen wij ook het spectrum van pyridine-haemochromogeen. Dit kon afkomstig zijn geweest van haemoglobine. Conclusies te trekken over de aanwezigheid van occult haemoglobine op grond van een positief uitvallen der kleurreacties in een extract met 25 % alcohol, schijnt ons niet gerechtvaardigd, daar ook copratine deze geeft. Wij willen hier reeds zeggen, dat wij in nagenoeg alle gevallen, waar men volgens *Boas* zou moeten besluiten tot de aanwezigheid van occult haemoglo-

bine en waarbij spectroscopisch onderzoek mogelijk was, copratine hebben gevonden.

Volledigheidshalve noemen wij nog een tweetal methoden tot het aantoonen van haemoglobine in de faeces. *Léon Meunier* (127) maakte gebruik van het feit, dat haemoglobine in water oplosbaar is, doch haematine niet. Ook wordt aangeraden de faeces met een 0,2 % waterige soda-oplossing te behandelen, waarin het haemoglobine overgaat.

Het bezwaar van beide methoden is het zeer langzame doorloopen bij het filtreeren, terwijl het filtraat in den regel niet voldoende helder is. Is dit wel het geval, dan wordt de vloeistof gespectroscopieerd, daarna geschud met lucht, waarna het mogelijk aanwezige spectrum van haemoglobine in dat van oxyhaemoglobine verandert.

Voegt men zwavelammonium toe, dan moet het spectrum van gereduceerd haemoglobine terugkeeren. Meerdere malen zagen wij echter bij het volgen dezer methode het spectrum van haemochromogeen ontstaan, zoodat ongetwijfeld een zekere hoeveelheid haematine in het filtraat moet zijn terecht gekomen. Een spectrum van haemoglobine, resp. oxyhaemoglobine konden wij in het extract, waarin occult bloed aanwezig was, nooit te zien krijgen.

HOOFDSTUK IX.

Korte samenvatting der spectroscopische methode.

Kort samenvattende, is de door ons gevolgde methode van het spectroscopisch onderzoek naar bloed en bloedafbraakproducten in de ontlasting als volgt:

Een flinke hoeveelheid faeces wordt met een ruime hoeveelheid aceton gewasschen en daarna gedroogd. 10 Gram dier droge faeces wordt behandeld met 50 cc. ijsazijn en 150 cc. aether. 15 Min. laten staan en na filtreeren de vloeistof met water uitwasschen. Een gedeelte direct spectroscopereen. Soms is het spectrum van zure haematine te zien, al of niet met porphyrinen gemengd. Is geen zure haematine te zien, dan geeft toevoegen van $\frac{1}{4}$ hoeveelheid pyridine en enkele druppels zwavelammonium soms het spectrum van pyridinehaemochromogeen of pyridine-deutero-haemochromogeen. Soms ook beide spectra.

De rest van het azijnzure aetherextract wordt enkele malen met 3 cc. 5 % HCl. uitgeschud en zodoende van de porphyrinen bevrijd. Wij controleerden altijd in Wood's licht, of de verwijdering der porphyrinen volledig had plaats gehad. Bij het zoutzuurextract wordt nu zoolang Na.acetaat gevoegd, tot congopapier niet meer blauw gekleurd wordt. Vervolgens wordt met aether (10 cc.) uitgeschud en met water gewasschen. Thans wordt de aetherlaag spectroscopisch onderzocht om te zien of porphyrinen aanwezig zijn. Men besluite, op grond van het niet zien van een spectrum van porphyrinen niet te spoedig tot hunne afwezigheid, want storende stoffen kunnen de waarneming onbetrouwbaar maken. Opnieuw uitschudden met zoutzuur en terugbrengen in den aether, doet het spectrum soms prachtig te voorschijn komen. Deze handelwijze moet soms drie maal herhaald worden. Spectroscopereert men de aetherische oplossing, dan ziet men in den regel het spectrum van copro- en protoporphyrine gescheiden. Het mogelijk aan-

wezige copratoporphyrine, dat zeker onze aandacht waard is, onttrekt zich aan de waarneming, vandaar dat de aether nu achtereenvolgens met 0.1 % HCl, 0.4 % HCl en 5 % HCl uitgeschud moet worden (in den regel is drie maal uitschudden met hoeveelheden van ongeveer 3 cc. voldoende).

Eigenaardig is, dat de porphyrinen in sommige oplossingen groote neiging vertoonen zich aan den wand van het glas of tegen het roerstaafje vast te zetten. Dit is met de fluorescentiemethode prachtig te zien. Let men er niet op, dan kan dit een bron van groote fouten zijn. Ook moet men de oplossingen niet in direct zonlicht plaatsen, daar dan vrij snel ontleding optreedt.

Heeft men zoo de verschillende zoutzuurfracties verkregen, dan worden ze in aether gebracht, waarna het spectrum bepaald kan worden. Daar vaak nog mengsels aanwezig zijn — het meest zuiver is in den regel de 0.1 % HCl. fractie — verdient het soms aanbeveling de 0.4 % HCl en 5 % HCl. fractie in 25 % HCl. te brengen en deze met chloroform na te wasschen, in welk laatste oplosmiddel veel protoporphyrine, geen coproporphyrine en weinig copratoporphyrine overgaat.

Desgewenscht kan men nu nog de reeds beschreven spectrochemische reacties verrichten. Wij bepaalden ons tot de studie van

1. het spectrum in aether,
2. het spectrum in 25 % HCl.,
3. de oplosbaarheid in chloroform,
4. de broomproef,
5. het zoutzuurgetal.

De aldus verkregen resultaten volgen in tabellenvorm hierachter.

Het uitschudden gebeurde in een scheitrechter.

De spectroscopische waarnemingen werden verricht met een grooten spectroscop van *Fuess*.

De vloeistof bevond zich in een vat van 13 bij 24 m.M.

Lijstje der spectra van proto-, copro en copratoporphyrine

in 25 % zoutzuur en in azijnzure aether naar *Schumm*. (Alleen de ligging der voornaamste strepen is weergegeven).

I. Oplossingen in 25 % HCl.

Hoofdstreep	Protoporph.	Coproporph.	Copratoporph.
I	602.7	593.6	591.0
III	557.2	550.2	548.0
VI	410.8	405.8	404.0

II. Oplossingen in azijnzure aether.

Hoofdstreep	Protoporph.	Coproporph.	Copratoporph.
I	632.5	623.6	621.3
II	575.4	568.4	566.2
III	535.6	{ max. bij: 526.3 midden: 528.7 }	{ 523.8
IV	502.2		
		495	492.5

HOOFDSTUK X.

Bespreking der verkregen uitkomsten.

Met het oog op onze waarneming, dat de faeces van patiënten, lijdende aan een carcinomateuze aandoening van maag- of darmkanaal veel vaker copratine bevatten dan de faeces van hen, die een bloeding van anderen aard hadden, hebben wij onze uitkomsten in twee groepen gerangschikt.

De eerste groep, samengevat in tabel A, geeft onze bevindingen weer bij 38 patiënten.

29 patiënten leden aan carcinoma ventriculi,

3 patiënten leden aan carcinoma oesophagi,

1 patiënt had een carcinoom van de papilla Vateri,

5 patiënten hadden een carcinoma coli.

Onvermeld zijn die gevallen gebleven, waarbij de diagnose niet zeker was.

Bij deze 38 patiënten werden in totaal 142 onderzoeken verricht. Deze allen te vermelden, schijnt ons niet noodig. Wij mogen er mede volstaan den indruk te schetsen, wat het onderzoek der ontlasting leert, als men deze bij een patiënt nadat een bloeding heeft plaats gehad, of bij een lijder aan carcinoom gedurende eenigen tijd dag voor dag bestudeert.

Bij 9 patiënten werd geen copratine gevonden en wel bij:

5 patiënten, lijdende aan een carcinoma ventriculi.

1 patiënt, lijdende aan een carcinoma papillae Vateri.

3 patiënten, lijdende aan een carcinoma oesophagi.

Niet alleen, dat bij deze laatste 3 patiënten geen copratine in de ontlasting werd aangetroffen, maar ook kon geen haematine aangetoond worden.

Dit is in overeenstemming met de waarnemingen van anderen (*Snapper, Boas*).

De aanwezigheid van coprato-porphyrine verried in twee dezer gevallen de aanwezigheid eener bloeding, terwijl den

daarnaast aanwezigen zeer duidelijken protoporphyrine-spectra zeker niet alle beteekenis mag ontzegd worden.

Bij den patiënt, lijdende aan carcinoom der papilla Vateri, deden wij de waarneming, dat bij herhaling geen noemenswaardige hoeveelheden porphyrinen waren aan te toonen. Wel fluoresceerde de aetherische oplossing, doch ook na herhaald zuiveren gaf deze geen porphyrine spectrum te zien. De verklaring hiervan is zeer eenvoudig, daar door middel der fluorescentie uiterst kleine hoeveelheden kunnen worden aangetoond. In gevallen als dit, waar acholische faeces ter onderzoek komen, moet men zeer vaak zuiveren, daar het groote vetgehalte dier faeces buitengewoon storend is. Het niet vinden van porphyrinen in de faeces van patiënten met icterus tengevolge eener afsluiting van den ductus choledochus, is in overeenstemming met de meening van *Snapper*, dat afbraak van haemoglobine tot porphyrine in den darm slechts mogelijk is in tegenwoordigheid van gal. *Snapper* (128) grondt deze meening op een reeks van onderzoeken welke hij na galblaasoperaties verricht heeft. Waren vóór de operatie in het ijsazijnaethermengsel duidelijke porphyrine-spectra aanwezig, na de operatie, als de gal door middel van een drain werd afgeleid, konden geen porphyrinen meer aangetoond worden.

Uit het in de andere vijf gevallen verkregen resultaat ziet men, hoe op grond van het ook herhaaldelijk afwezig zijn van copratine, niet besloten mag worden, dat de patiënt niet lijdende is aan een carcinoom van maag- of darmkanaal.

In de tweede tabel, samengevat in tabel B, zijn alleen die gevallen verzameld, waar met zekerheid een carcinoom kon worden uitgesloten. Het meerendeel dier patiënten was lijdende aan een ulcus duodeni of een ulcus ventriculi. Van de 37 onderzochte patiënten werden in totaal 179 bepalingen gedaan. Slechts in één enkel geval werd copratine gevonden. Het gold een man van 61 jaar met een zeer duidelijken icterus. Van galsteenaanvallen was in de anamnese niets te bespeuren. Bij de operatie werd een grooten steen in den ductus choledochus gevonden.

Wat hier bovendien weer opviel, was de zeer geringe hoeveelheid porphyrinen.

NAAM	Leeftijd	Geslacht	Haematine	Haemochro- mogeen	Deutero- haemochro- mogeen	Copro- porphyrine	Proto- porphyrine	Coprato- porphyrine	Aantal malen onderzocht
H. W.	68	♂	—	+	+	+	+	+	4
J. W.	81	♀	+	+	+	+	+	—	3
M. B.	79	♀	+	+	+	+	+	—	3
J. H.	61	♂	—	+	+	—	—	—	4
T. B.	23	♀	—	+	—	+	+	—	7
J. d. W.	61	♂	—	+	+	+	+	+	3
T. J.	54	♂	—	+	+	+	+	—	2
B. J.	67	♂	—	+	+	+	+	+	4
T. Zw.	68	♀	—	+	+	+	+	—	4
J. v. A.	46	♂	+	+	+	+	+	+	2
P. de G.	67	♂	—	+	+	+	+	—	2
P. K.	77	♂	—	+	+	+	+	+	5
S. d. J.	58	♀	—	+	—	+	+	+	1
T. v. W.	57	♂	—	+	—	?	?	?	3
J. Aa.	70	♂	—	—	+	+	+	+	4
J. B.	83	♂	—	+	+	+	+	—	3
W. J. H.	60	♂	—	—	—	+	+	—	4
M. Kr.	57	♂	—	+	+	+	+	—	6
G. V.	57	♂	+	+	+	+	+	+	10
G. v. P.	59	♂	—	+	—	?	?	?	2
L. v. H.	75	♂	—	+	+	+	+	—	3
J. v. Sp.	64	♂	—	+	+	+	+	—	3
J. H. M.	69	♂	—	+	+	+	+	—	3
P. J. Sch.	73	♂	—	+	+	+	+	+	3
L. D.	65	♂	—	—	+	+	+	—	3
M. K. St.	40	♀	—	—	—	+	+	—	10
K. v. d. W.	32	♀	—	—	—	+	+	+	3
J. B.	65	♂	—	+	+	+	+	—	3
J. Sp.	66	♀	+	+	+	+	+	—	4
H. B.	65	♂	—	—	—	+	+	+	5
J. J. B.	59	♂	+	+	+	+	+	—	3
J. v. S.	68	♂	—	+	+	+	+	+	3
T. W. J.	54	♂	+	+	+	+	+	+	3
P. P.	58	♂	+	+	+	+	+	+	3
A. T.	62	♂	—	+	+	+	+	—	3
J. Ad.	52	♂	+	+	+	+	+	—	4
H. Sch.	59	♂	—	+	+	+	+	—	4
J. N.	48	♂	—	—	—	+	+	+	6

Diagnose	Opmerkingen
Ca. ventriculi	zeer wisselend coprato-porphyrine
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigde diagnose
Ca. ventriculi	†
Ca. coli	metastasen, haast geen porphyrinen
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	metastasen
Ca. ventriculi	1 maal uitsluitend copratine in de faeces
Ca. ventriculi	metastasen
Ca. Coli	
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	slechts 1 maal onderzocht
Ca. Pap. Vateri	acholische faeces, porphyrinen niet uit te meten
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	
Ca. oesophagi	geen positieve benzidineractie
Ca. cardia	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	icterus, acholische faeces
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	metastasen
Ca. ventriculi	metastasen
Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. coli	door operatie en obductie bevestigd
Ca. oesophagi	
Ca. ventriculi	metastasen
Ca. ventriculi	
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
Ca. coli	
Ca. coli	door operatie bevestigd
Ca. oesophagi	

NAAM	Leeftijd	Geslacht	Haematine	Haemochro- mogeën	Deutero- haemochro- mogeën	Copro- porphyrine	Proto- porphyrine	Coprato- porphyrine	Aantal malen onderzocht	Diagnose	Opmerkingen
H. W.	68	♂	—	+	+	+	+	+	4	Ca. ventriculi	zeer wisselend coprato-porphyrine
J. W.	81	♀	+	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigde diagnose
M. B.	79	♀	+	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	†
J. H.	61	♂	—	+	+	—	—	—	4	Ca. coli	metastasen, haast geen porphyrinen
T. B.	23	♀	—	+	—	+	+	—	7	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
J. d. W.	61	♂	—	+	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
T. J.	54	♂	—	+	+	+	+	—	2	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
B. J.	67	♂	—	+	+	+	+	+	4	Ca. ventriculi	metastasen
T. Zw.	68	♀	—	+	+	+	+	—	4	Ca. ventriculi	1 maal uitsluitend copratine in de faeces
J. v. A.	46	♂	+	+	+	+	+	+	2	Ca. ventriculi	metastasen
P. de G.	67	♂	—	+	+	+	+	—	2	Ca. Coli	
P. K.	77	♂	—	+	+	+	+	+	5	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
S. d. J.	58	♀	—	+	—	+	+	+	1	Ca. ventriculi	slechts 1 maal onderzocht
T. v. W.	57	♂	—	+	—	?	?	?	3	Ca. Pap. Vateri	acholische faeces, porphyrinen niet uit te meten
J. Aa.	70	♂	—	—	+	+	+	+	4	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
J. B.	83	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	
W. J. H.	60	♂	—	—	—	+	+	—	4	Ca. oesophagi	geen positieve benzidinerreactie
M. Kr.	57	♂	—	+	+	+	+	—	6	Ca. cardiaë	† door obductie bevestigd
G. V.	57	♂	+	+	+	+	+	+	10	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
G. v. P.	59	♂	—	+	—	?	?	?	2	Ca. ventriculi	icterus, acholische faeces
L. v. H.	75	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
J. v. Sp.	64	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
J. H. M.	69	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	metastasen
P. J. Sch.	73	♂	—	+	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	metastasen
L. D.	65	♂	—	—	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	† door obductie bevestigd
M. K. St.	40	♀	—	—	—	+	+	—	10	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
K. v. d. W.	32	♀	—	—	—	+	+	+	3	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
J. B.	65	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	
J. Sp.	66	♀	+	+	+	+	+	—	4	Ca. coli	door operatie en obductie bevestigd
H. B.	65	♂	—	—	—	+	+	+	5	Ca. oesophagi	
J. J. B.	59	♂	+	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	metastasen
J. v. S.	68	♂	—	+	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	
T. W. J.	54	♂	+	+	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
P. P.	58	♂	+	+	+	+	+	+	3	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
A. T.	62	♂	—	+	+	+	+	—	3	Ca. ventriculi	door operatie bevestigd
J. Ad.	52	♂	+	+	+	+	+	—	4	Ca. coli	
H. Sch.	59	♂	—	+	+	+	+	—	4	Ca. coli	
J. N.	48	♂	—	—	—	+	+	+	6	Ca. oesophagi	door operatie bevestigd

NAAM	Leeftijd	Geslacht	Haematine	Haemochro- mogeën	Deutero- haemochro- mogeën	Copro- porphyrine	Proto- porphyrine	Coprato- porphyrine	Aantal malen onderzocht
A. v. Z.	42	♂	—	+	—	+	+	—	7
v. W.	59	♂	+	+	—	+	+	+	14
J. v. E.	53	♂	+	+	—	+	+	—	8
J. L.	58	♂	+	+	—	+	+	+	10
A. d. B.	53	♂	+	+	—	+	+	—	4
L.v. d.W.	44	♀	—	+	—	+	+	+	3
H. v. H.	31	♂	—	+	—	+	+	+	3
R. T.	35	♂	—	+	—	+	+	+	4
S. de G.	53	♂	—	+	—	+	+	—	3
T. J. K.	27	♂	—	+	—	+	—	+	3
P. v. D.	28	♂	—	+	—	+	+	+	8
L. K. N.	57	♂	—	+	—	+	+	+	4
E.v.d.V.	53	♂	+	+	—	+	+	+	3
W. Kl.	20	♂	—	+	—	+	+	—	6
J. C.	61	♂	—	+	+	?	?	?	13
A.C.v. R.	41	♂	—	+	—	+	+	—	3
K. W.	47	♂	—	+	—	+	+	+	3
R. V.	36	♂	—	+	—	+	+	—	3
v. d. H.	33	♂	—	+	—	+	+	+	3
C. N.	60	♀	—	—	—	+	+	+	7
J. H. T.	49	♂	—	+	—	+	+	+	4
te S.	54	♂	+	+	—	+	+	—	3
D. S.	58	♂	+	+	—	+	+	+	3
J. N.	41	♀	+	+	—	—	+	+	4
P. N. H.	48	♀	—	+	—	+	+	—	3
J. H.	63	♂	+	+	—	+	+	—	8
H. H.	35	♂	—	+	—	+	+	+	3
H. G.	38	♀	—	+	—	+	+	+	3
L.v.d.H.	58	♂	—	+	—	+	+	+	3
P. v. D.	28	♂	—	+	—	+	+	+	5
M. W.	44	♀	—	+	—	+	+	—	7
A. d. L.	48	♂	+	+	—	+	+	+	5
E. J. R.	47	♂	+	+	—	+	+	—	3
A. B.	54	♂	—	+	—	+	+	+	3
J. v. S.	28	♂	—	+	—	+	+	—	3
Th. J. M.	22	♂	—	+	—	+	+	—	4
A.v.d.G.	38	♂	—	+	—	+	+	+	3

Diagnose	Opmerkingen
ulcus duodeni	nooit coprato-porphyrine gevonden { 14 dagen vervolgd, nooit copratine, afwisselend coprato- porphyrine door operatie bevestigd 12 dagen vervolgd, nooit copratine
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie bevestigd
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie bevestigd
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie aangetoond, hier geen carc.
afsluiting ductus choledochus	
door steen	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	door operatie aangetoond
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	
phlegmone v. h. caecum t. g. v.	
appendicitis	door obductie aangetoond
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
thrombose van vena mesenterica	Wass. + 10, Sachs Georgi +, diagnose niet geheel zeker
superior	
ulcus ventriculi	
lues gastrici (?)	
ulcus ventriculi	door operatie bevestigd
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	door operatie bevestigd
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	

NAAM	Leeftijd	Geslacht	Haematine	Haemochro- mogeën	Deutero- haemochro- mogeën	Copro- porphyrine	Proto- porphyrine	Coprato- porphyrine	Aantal malen onderzocht
A. v. Z.	42	♂	—	+	—	+	+	—	7
v. W.	59	♂	+	+	—	+	+	+	14
J. v. E.	53	♂	+	+	—	+	+	—	8
J. L.	58	♂	+	+	—	+	+	+	10
A. d. B.	53	♂	+	+	—	+	+	—	4
L.v. d.W.	44	♀	—	+	—	+	+	+	3
H. v. H.	31	♂	—	+	—	+	+	+	3
R. T.	35	♂	—	+	—	+	+	+	4
S. de G.	53	♂	—	+	—	+	+	—	3
T. J. K.	27	♂	—	+	—	+	—	+	3
P. v. D.	28	♂	—	+	—	+	+	+	8
L. K. N.	57	♂	—	+	—	+	+	+	4
E.v.d.V.	53	♂	+	+	—	+	+	+	3
W. Kl.	20	♂	—	+	—	+	+	—	6
J. C.	61	♂	—	+	+	?	?	?	13
A.C.v. R.	41	♂	—	+	—	+	+	—	3
K. W.	47	♂	—	+	—	+	+	+	3
R. V.	36	♂	—	+	—	+	+	—	3
v. d. H.	33	♂	—	+	—	+	+	+	3
C. N.	60	♀	—	—	—	+	+	+	7
J. H. T.	49	♂	—	+	—	+	+	+	4
te S.	54	♂	+	+	—	+	+	—	3
D. S.	58	♂	+	+	—	+	+	+	3
J. N.	41	♀	+	+	—	—	+	+	4
P. N. H.	48	♀	—	+	—	+	+	—	3
J. H.	63	♂	+	+	—	+	+	—	8
H. H.	35	♂	—	+	—	+	+	+	3
H. G.	38	♀	—	+	—	+	+	+	3
L.v.d.H.	58	♂	—	+	—	+	+	+	3
P. v. D.	28	♂	—	+	—	+	+	+	5
M. W.	44	♀	—	+	—	+	+	—	7
A. d. L.	48	♂	+	+	—	+	+	+	5
E. J. R.	47	♂	+	+	—	+	+	—	3
A. B.	54	♂	—	+	—	+	+	+	3
J. v. S.	28	♂	—	+	—	+	+	—	3
Th. J. M.	22	♂	—	+	—	+	+	—	4
A.v. d.G.	38	♂	—	+	—	+	+	+	3

Diagnose	Opmerkingen
ulcus duodeni	nooit coprato-porphyrine gevonden { 14 dagen vervolgd, nooit copratine, afwisselend coprato- porphyrine door operatie bevestigd 12 dagen vervolgd, nooit copratine
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie bevestigd
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie bevestigd
ulcus pepticum	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	door operatie aangetoond, hier geen carc.
afsluiting ductus choledochus	
door steen	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	door operatie aangetoond
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	
phlegmone v. h. caecum t. g. v.	
appendicitis	door obductie aangetoond
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
ulcus ventriculi	
thrombose van vena mesenterica	Wass. + 10, Sachs Georgi +, diagnose niet geheel zeker
superior	
ulcus ventriculi	
lues gastrici (?)	
ulcus ventriculi	door operatie bevestigd
ulcus ventriculi	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus ventriculi	door operatie bevestigd
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	
ulcus duodeni	

Op grond van deze waarnemingen, meenen wij te mogen besluiten, dat het regelmatig voorkomen van copratine in de faeces, een carcinomateuze aandoening van het maag- of darmkanaal waarschijnlijk maakt. Zoo groot het verschil tusschen het voorkomen van copratine in beide tabellen is, zoo klein is het wat betreft het aantreffen van coprato-porphyrine. In de eerste tabel werd het 17 maal gevonden, in de tweede 22 maal. De aanwezigheid van copratoporphyrine krijgt eerst dan hare volle waarde, wanneer noch haematine, noch copratine in de faeces aanwezig zijn. Wij vonden slechts éénmaal copratoporphyrine bij ontbreken van protoporphyrine. Ook hier willen wij er echter nog eens op wijzen, dat menigmaal protoporphyrine in de faeces werd gevonden bij volkomen gezonde menschen, niettegenstaande natuurlijk alle voorzorgsmaatregelen tot het vermijden van fouten waren genomen. Groote hoeveelheden protoporphyrine zijn o.i. daarentegen wel bewijzend voor een occulte bloeding.

Keeren wij thans nog eens op het copratine terug, dan rijst de vraag: Wat is de oorzaak van het groote verschil in voorkomen dezer stof bij beide reeksen van aandoeningen? Samenhang met den aard der voeding, met de hoeveelheden maagzuur, met den graad van anaemie, met obstipatie of diarrhoe konden wij uitsluiten op grond van hetgeen de ziektegeschiedenissen daaromtrent leerden. Een verschil in aard der bloeding hiervoor verantwoordelijk te stellen, is een volkomen uit de lucht gegrepen bewering. Het meest in aanmerking komt de onderstelling, dat het verschil is toe te schrijven aan een veranderde samenstelling van het bloed. In deze onderstelling vonden wij steun in een reeks van waarnemingen, verricht bij volkomen gezonde menschen. Deze proefpersonen kregen eerst zoolang melkpaddiëet, tot geen bloed, in welken vorm dan ook, in de faeces was aan te toonen. Daarna kregen zij 50 cc. van hun eigen bloed per os en werd het verloop van de bloedafbraak in de faeces nagegaan. (Zie tabel C). Het bloed werd direct nadat het den proefpersoon ontnomen was, zonder het te vermengen met citraat of oxalaat, opgedronken, waarna een beschuit genuttigd werd om braakneiging tegen

te gaan, of door middel van een slangetje en een spuit in de maag gebracht.

Tabel C.

DATUM	Haema- tine	Haemo- chromog.	Deutero- haemochr.	Copro- porph.	Proto- porph.	Coprato- porph.
9/9'32	—	—	—	+	+	—
10/9'32	—	—	—	+	+	—
11/9'32	—	—	—	+	+	—
50 cc bloed per os						
12/9'32	+	+	—	+	+	—
12/9'32	+	+	—	+	+	+
13/9'32	+	+	—	+	+	+
14/9'32	—	+	—	+	+	+
15/9'32	—	+	—	+	+	—
17/9'32	—	—	—	+	+	—
18/9'32	—	—	—	+	+	—

In totaal werden 10 dergelijke proeven genomen, welke uitkomsten vrijwel dezelfde bleken. Nooit werd copratine aangetroffen.

Geheel andere resultaten werden verkregen wanneer den zelfden proefpersonen inplaats van eigen bloed, in navolging van *Schumm* (129) bloedworst werd gegeven. Tabel D geeft daarvan een indruk. Vooraf zij vermeld, dat wij in de worst nimmer copratine konden vinden, in overeenstemming met *Schumm*. Ook in gal is copratine nimmer aangetroffen.

Het onderscheid is het meest opvallend voor wat betreft het vinden van copratine.

Om na te gaan of het verschil uitmaakt, of er ineens een groote hoeveelheid bloed in den darm wordt uitgestort, dan wel of een zelfde hoeveelheid in een langer tijdsverloop in verschillende kleinere porties wordt toegevoerd, hebben wij onze proeven ook nog iets anders ingericht.

Daartoe kregen de proefpersonen eenige dagen achter elkaar 10 cc bloed of 30 gram bloedworst.

Tabel D.

DATUM	Haema- tine	Haemo- chromog.	Deutero- haemochr.	Copro- porph.	Proto- porph.	Coprato- porph.
19/5'32	—	—	—	+	+	—
20/5'32	—	—	—	+	?	—
21/5'32	—	—	—	+	+	— (100 gr. bloedw.)
23/5'32	—	+	+	+	+	+ 30 „ „
24/5'32	—	+	+	+	+	+ 30 „ „
25/5'32	—	—	+	+	+	+ 30 „ „
26/5'32	—	+	+	+	+	—
27/5'32	—	+	+	+	+	—
28/5'32	—	+	—	+	+	+
29/5'32	—	—	—	+	+	+
30/5'32	—	—	—	+	+	—
31/5'32	—	—	—	+	+	—

Het resultaat dezer proefnemingen was, dat ook thans weder alleen dan copratine in de faeces verscheen, wanneer bloedworst genuttigd werd.

Nog zij vermeld, dat wij al onze proefpersonen, wanneer zij niet meer bloedden, eenige dagen achtereen uitsluitend witte boonen of havermout lieten gebruiken, om na te gaan of plantaardige porphyratinen de spectroscopische bloedcontrôle onbetrouwbaar kunnen maken. Nooit werd onder deze omstandigheden een haemochromogeen spectrum gezien, evenmin een merkbare verandering in de uitscheiding der porphyrinen.

De patiënten, die wij voor al deze proefnemingen kozen, hadden geen afwijkingen die de resultaten minder betrouwbaar konden maken. Bij allen werd ook functioneel maag-onderzoek verricht.

Thans nog een tweetal tabellen, die de uitkomsten weergeven van het faecesonderzoek gedurende eenige achtereenvolgende dagen bij een patiënt, lijdende aan carcinoma ventriculi (tabel E) en bij een met ulcus ventriculi (tabel F).

Met een enkele opmerking willen wij besluiten.

Bestaat er een zeer duidelijk spectrum van pyridinehae-

Tabel E.

1) Patiënt met carcinoma ventriculi.

DATUM	Haema- tine	Haemo- chromog.	Deutero- haemochr.	Copro- porph.	Proto- porph.	Coprato- porph.
9/ 9'32	+	+	+	+	+	+
10/ 9'32	+	+	+	+	+	+
12/ 9'32	—	+	—	+	?	+
13/ 9'32	—	+	+	+	+	—
18/ 9'32	+	+	+	+	+	—
21/ 9'32	—	+	+	+	+	+
25/ 9'32	—	+	+	+	+	+
26/ 9'32	—	—	+	+	?	?
29/ 9'32	+	+	—	+	+	—
3/10'32	—	+	—	+	—	—
7/10'32	—	—	—	+	+	+
12/10'32	+	+	+	+	+	+
13/10'32	+	+	+	+	+	—

Tabel F.

2) Patiënt met ulcus ventriculi.

DATUM	Haema- tine	Haemo- chromog.	Deutero- haemochr.	Copro- porph.	Proto- porph.	Coprato- porph.
3/9'32	+	+	—	+	+	—
8'9'32	+	+	—	+	+	—
9'9'32	+	+	—	+	+	—
10/9'32	+	+	—	+	+	+
12/9'32	—	+	—	+	+	—
15/9'32	—	+	—	+	+	—
17/9'32	—	+	—	+	+	+
18/9'32	—	+	—	+	+	+
21/9'32	—	+	—	+	+	+
23/9'32	—	+	—	+	+	—
24/9'32	—	—	—	+	+	—
25/9'32	—	—	—	+	+	—

mochromogeen, dan bestaat altijd de mogelijkheid, dat een kleine hoeveelheid deuterohaemochromogeen hierdoor aan het oog wordt onttrokken.

Waar ons geen bruikbare methode ter beschikking staat haematine en copratine van elkander te scheiden, heeft men dus nooit volkomen zekerheid, dat bij aanwezigheid van haematine geen copratine aanwezig is. Onze waarneming, dat meerdere malen copratine in het alcoholextract (25 %) der faeces werd gevonden, deed ons aan de mogelijkheid denken, dat wellicht de alcohol gebruikt zou kunnen worden om beide stoffen te scheiden. Een enkele maal mocht ons dit gelukken en wel op de volgende wijze:

De met aceton gereinigde en gedroogde faeces werden geëxtraheerd met een mengsel van ijsazijn en aether. Vervolgens werd het ijsazijn zooveel mogelijk met water uitgewasschen en daarna werden de porphyrinen verwijderd door herhaald uitschudden met 1 % HCl. De overblijvende vloeistof reageert dan duidelijk zuur.

Wij wieschen haar zoolang met water uit tot congopapier niet meer blauw gekleurd werd en dampten vervolgens in. De daarna in den regel snel stollende vloeistof werd overgoten met 10 cc. 25 % alcohol, waarna de vloeistof nog zuur reageert. Daarna werd gedurende 15 minuten geschud. Vervolgens werd gefiltreerd en de doorgelopen heldere vloeistof (het filtreren gaat zeer gemakkelijk) ingedampt. Na afkoelen werd een weinig pyridine toegevoegd en 1 à 2 druppels zwavelammonium of hydrazinehydraat. Een enkele maal mocht het ons gelukken aldus uitsluitend deuterohaemochromogeen in het filtraat aan te toonen, terwijl in het praecipitaat zowel copratine als haematine aanwezig was.

De mogelijkheid van scheiding van copratine en haematine hangt waarschijnlijk af van den juisten zuurgraad, waarbij copratine wèl in de 25 % alcohol overgaat, doch haematine nog niet. Nadere proeven zullen hierin wellicht meer licht kunnen brengen.

Ook onze veronderstelling dat het vaak voorkomen van copratine in de faeces van patiënten lijdende aan een carcino-mateuse aandoening van maag of darmkanaal, berust op een

verandering in samenstelling van het bloed zooals dit aangeboden wordt, maakt verdere proeven noodzakelijk.

Hoe wordt bloed, afkomstig van een patiënt lijdende aan carcinoom in den darm van een gezond proefpersoon afgebroken?

Treden dezelfde verschillen op, wanneer het carcinoma niet het maag- of darmkanaal heeft aangetast, doch elders gelocaliseerd is?

SAMENVATTING.

De aanleiding tot het schrijven van dit proefschrift was eensdeels de mededeeling van *Boas*, die in de ontlasting van patienten, lijdende aan een carcinoom van maag of darmkanaal, vaker „occult haemoglobine” meende gevonden te hebben, dan in die van patienten, met een occulte bloeding van anderen aard en anderdeels de vraag in hoeverre de porphyrinen, die — zij het ook in kleine hoeveelheden — in de mondholte van ieder mensch voorkomen, een bron van fouten zouden kunnen zijn bij het onderzoek van bloedsporen in de ontlasting volgens de methode van *Snapper*.

Hierdoor kwamen wij er toe het geheele vraagstuk der occulte bloeding, vooral wat betreft de methoden, die ons ten dienste staan om deze bloedingen aan te toonen, aan een nader onderzoek te onderwerpen. De resultaten hiervan zijn in dit geschrift nedergelegd.

Ons stonden bij dit onderzoek vooral de volgende drie vragen voor oogen:

- a. Heeft de benzidine-reactie nog recht van bestaan en zoo ja, wat is de meest juiste wijze haar uit te voeren?
- b. Welke voordeelen bieden de spectroscopische methoden, en wat leert ons de aanwezigheid van porphyrinen in de ontlasting?
- c. Kunnen wij de bovengenoemde mededeeling van *Boas* bevestigen, haar eventueel steun geven door spectroscopische waarnemingen?

Wat de eerste vraag betreft, zijn wij van meening, dat als oriënteerende bepaling en routine-methode, de benzidine-reactie, mits uitgevoerd zooals in dit werkje beschreven, de meest verkieslijke is. De bezwaren van een te groote gevoeligheid en niet-specificiteit — in het algemeen tegen de benzidine-reactie en vele andere kleurreacties aangevoerd — gelden ook voor de spectroscopische methoden. Voor beide werkwij-

zen staan ons middelen ten dienste die de gevoeligheid eenigermate kunnen regelen. Dat de benzidine-reactie de aanwezigheid van een peroxydase aantoonst en dus niet specifiek is voor bloed, is zeker. Dit behoeft echter geen bezwaar te zijn. De vraag is: komen in de faeces andere dan van bloed afkomstige peroxydases voor, die door middel van de benzidine-reactie in onze modificatie uitgevoerd, zijn aan te toonen, nadat alle beschreven voorzorgsmaatregelen genomen zijn? Laatstgenoemde vraag meenen wij op grond van eigen onderzoekingen in ontkennenden zin te mogen beantwoorden.

Het antwoord op de tweede en derde vraag zouden wij als volgt willen samenvatten:

Een eerste voordeel der spectroscopische methoden is, dat men door middel der spectroscopie de porphyrinen kan aantoonen, welke met de kleurreactie onopgemerkt blijven.

Een tweede voordeel is, dat men er de aanwezigheid van het copratine mede kan ontdekken, welke stof onzes inziens, wanneer zij bij herhaling in de ontlasting wordt aangetroffen, nadat alle voorzorgsmaatregelen genomen zijn, een carcino-mateuse aandoening van maag of darmkanaal waarschijnlijk doet zijn. Wij vermoeden dan ook, dat het „occulte haemoglobine” van Boas copratine geweest is, in welk vermoeden wij gesteund worden niet alleen door de analogie der uitkomsten, doch ook door enkele andere, moeilijk samen te vatten waarnemingen.

De oorzaak van het feit, dat copratine als regel slechts voorkomt in de ontlasting van patienten met een carcinoom van maag of darmkanaal en niet bij hen, die een bloedende aandoening van anderen aard hebben, meenen wij te moeten toeschrijven aan den gewijzigden vorm, waarin het bloed verkeert, voordat het in het darmlumen wordt uitgestort.

Thans de beantwoording der vraag: welke waarde moet men toekennen aan het vinden van porphyrinen in de ontlasting, *wanneer alle beschreven voorzorgsmaatregelen voorgeschreven en nageleefd zijn?*

Coproporphyrine komt in wisselende hoeveelheden in iedere normale ontlasting voor, is dus niet van belang voor de diagnose: occulte bloeding.

Protoporphyrine komt ook in bijna iedere normale ontlasting in wisselende hoeveelheden voor. Voor het aantoonen van protoporphyrine moeten echter in den regel vrij groote hoeveelheden ontlasting verwerkt worden, hoeveelheden, welke die van eenige grammen, zooals door *Snapper* is aangegeven, dikwijls overtreffen.

Om de aanwezigheid van protoporphyrine in de ontlasting als bewijs voor het bestaan van bloedingen te laten gelden, moet men dus trachten te beoordeelen of de hoeveelheid protoporphyrine grooter is dan normaal. Hier nu schuilt de moeilijkheid, want er moet een grens getrokken worden voor de normale hoeveelheden, een grens, die niet scherp is aan te geven.

Copratoporphyrine vonden wij nooit in de ontlasting van normale menschen; vindt men deze stof, dan bewijst dit het bestaan eener bloeding.

Een bezwaar is echter, dat het copratoporphyrine moeilijk te onderscheiden is van coproporphyrine en vrij hooge eischen stelt aan onderzoeker en apparatuur.

De grootere bewijskracht van het vinden van copratoporphyrine volgt daaruit, dat copro- en protoporphyrine normale stofwisselingsproducten zijn, wat copratoporphyrine niet is. Bovendien is het ontstaan van copratoporphyrine anders dan uit bloed niet aangetoond, wat wel is geschied met copro- en protoporphyrine.

SUMMARY.

The research, which is given in this thesis, was induced in the first instance by the publication of *Boas*, who believed to have found "occult haemoglobin" more often in the faeces of patients suffering from carcinoma of the stomach or intestine, than in cases of "occult hemorrhage" due to some other cause, and secondly the question as to which extent the porphyrins, in however small quantities always present in the oral cavity of the human being, can be a source of errors in testing stools on traces of blood according to the method of *Snapper*.

The problem of "occult hemorrhage" was therefore submitted to a closer investigation, especially the methods at our disposal for detecting these traces. The results are recapitulated in this thesis.

For this investigation we considered the following three questions: Firstly, whether the benzidin test has any claim to exist at all, and if this is the case, which method is the best to adopt in carrying it out.

Secondly, which are the advantages of the various spectroscopic methods and the conclusions, which can be drawn from the presence of porphyrin in the faeces.

Thirdly, whether we can affirm the above statement of *Boas* and eventually supporting it by means of spectroscopic observations.

With reference to the first question, the benzidin test, carried out according to the method described here, must be considered the most preferable, to author's opinion, for orientation and as routine method.

The objections of excessive sensibility and non-specificity, which are as a rule raised against the benzidin test, also apply for the spectroscopic methods.

For both ways of examining, there are means available for regulating this sensibility more or less.

Although the benzidin test proves the presence of a peroxydase, being therefore non-specific for blood, it should not give any trouble, because the dominating question of this problem is, whether there are peroxydases in faeces, not derived from the blood, which can be detected with the benzidin test, carried out according to our modification, after the described precautions had been taken. According to our own investigations we mean to answer this question in the negative. The answer to the 2nd and 3rd question, may be summarised as follows:

Using spectroscopic methods has first of all the advantage of detecting porphyrins, which remain undetected by applying the colour-reactions, and secondly of discovering the presence of copratin as well, which, to our opinion, reveals by all probability the existence of carcinoma of the stomach or intestine, after the necessary precautions had been considered.

Supported by analogous results and other investigations, of which a concise account is difficult to be given, we therefore suppose, that the "occult hemoglobin" of *Boas* must have been copratin.

The fact, that copratin appears as a rule in the stools of patients, suffering from carcinoma of the stomach or intestine and not in those of cases with intestinal hemorrhage due to some other cause, should, according to our opinion, be assigned to an alteration of the blood, before it is effused into the intestinal lumen.

The question now arises, which significance must be attributed to the presence of the porphyrins in the faeces, after the described precautions had carefully been followed up.

As coproporphyrin forms a normal constituent of faeces, although in varying quantities, its presence is therefore negligible in diagnosing "occult hemorrhage". Protoporphyrin also appears in varying quantities more or less constantly in normal stools. For detecting protoporphyrin, larger quantities of faeces must be used in general, as is mentioned in the method of *Snapper*.

In order to prove the occurrence of intestinal hemorrhage by the presence of protoporphyrin in the faeces, one must attempt to make out, whether the amount present is greater

than normal, which of course is encountered with difficulty, because the physiological limit is not exactly known.

The presence of copratoporphyrin in the faeces, however, indicates intestinal hemorrhage, for it has never been found in normal stools.

The difficulty to distinguish between copratoporphyrin and coproporphyrin, which distinction makes high demands upon the investigator and his apparatus, must be considered as an objection to a certain extent.

A greater conclusive factor of the presence of copratoporphyrin is constituted by the fact, that copro- and protoporphyrin are normal metabolic products, which is not the case with copratoporphyrin, and moreover, an origin other than blood has been proved for copro- and protoporphyrine, which does not hitherto exist for copratoporphyrin.

33. *H. Fischer*, Konstitution der Eiweissfreien Farbstoffkomponenten und ihrer Derivatene, S. 187.
34. *Fischer en Treibs*, Hoppe Seyler 182, 286, 1929.
35. *Hijmans van den Bergh, Regniers en Muller*, Boas Archiv, Bd. XLII, 1928.
36. *H. Fischer en R. Duesberg*, Naunyn-Schmiedesberg's Archiv, Bd. 166, Heft 1, S. 95.
37. *Grotepass*, Hoppe Seyler 205, S. 193.
38. *Borst en Konigsdörffer*, Untersuchungen über Porphyrin, Leipzig, S. Hirsch, 1929.
39. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 153, S. 225.
40. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 126, S. 169, 1923.
41. *Fischer en Hilmer*, Hoppe Seyler, 153, 180, 1926.
42. *Hymans v. d. Bergh, Grotepass en Revers*, Klinische Wochenschrift, Nr. 37, S. 1534, 1932.
43. *Garrod*, Journal of Physiol. 13, 598, 1892.
44. *Hoppe Seyler*, Hoppe Seyler, Bd. 4, S. 193.
45. *H. Fischer en H. Fink*, Hoppe Seyler 140, 57, 1924; 144, 101, 1925; 150, 243, 1925.
46. *R. M. Mayer*, Hoppe Seyler 177, S. 47.
47. *H. Fischer en H. Hilmer*, Hoppe Seyler 153, 167, 1926.
48. *H. Fischer en F. Schwerdtel*, Hoppe Seyler 175, S. 248, 1928.
49. *I. Snapper*, Boas Archiv, Bd. 25, S. 230.
50. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 153, 233, 1926.
51. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 151, S. 126.
52. *H. Fischer*, Hoppe Seyler 96, S. 148.
53. *Stokvis*, Ned. Natuur- en Geneesk. C, 1899.
54. *Garrod*, The Lancet, p. 1323, 1900.
55. *Haurowitz*, Boas Archiv, Bd. 50, S. 33.
56. *I. Snapper*, zie 49.
57. *H. Günther*, Ergebnisse d. allg. Pathol. und Pharmakol. Anatomie d. Menschen und d. Tiere, Bd. 20, S. 608, 1922.
58. *Papendieck*, Hoppe Seyler 128, S. 109.
59. *H. Fischer*, Münch. Medizin. Wochenschrift, S. 1143, 1923.
60. *Papendieck*, Hoppe Seyler 133, S. 97.
61. *H. Fischer*, Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, S. 202. Herausgegeben von Abderhalden.
62. *Hoppe Seyler*, Medizinisch chem. Untersuchungen, 1871, H. 1—4.
63. *H. Kämmerer*, Klinische Wochenschrift 2, S. 1153, 1923. Archiv f. Klin. Medizin, Bd. 145, S. 257, 1924.
64. *H. Fischer en F. Kögl*, zie 32.
65. *Willstätter en M. Fischer*, Hoppe Seyler 87, S. 463.
66. *H. Fischer en F. Lindner*, Hoppe Seyler, Bd. 142, S. 145, 1924.
67. *H. Fischer*, Hoppe Seyler 142, S. 147, 1924.
68. *G. J. Mulder*, Journ. f. prakt. Chem. 32, 186, 1844.
Cit. H. H. v. d. Zoo de Jong, Acad. Proefschr., Groningen, 1928.

69. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 132, S. 36.
 " " 139, S. 219.
70. *C. le Nobel*, Pflüger's Arch., Bd. 40, S. 501, 1887.
 Cit. *O. Schumm* H. S. 139, S. 235.
71. *Papendieck* en *K. Bonath*, Hoppe Seyler 144, 60, 1925.
72. *I. Snapper* en *S. v. Creveld*, Ergebnisse d. inneren Medizin und
 Kinderheilkunde, Bd. 32, S. 35, 1927.
73. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 181, 72—75, 1929.
74. *I. Boas*, Klinische Wochenschrift, Nr. 36, S. 1496, 1932.
75. *O. Schumm*, Hoppe Seyler, Bd. 149, S. 5.
76. *O. Schumm*, Hoppe Seyler, Bd. 181, S. 172.
77. *Haurowitz*, zie 55.
78. *Watson*, Hoppe Seyler 204, 661, 1932.
79. *H. Fischer* en *Richard Duesberg*, zie 36.
80. *Fischer* en *Lindner*, Hoppe Seyler 161, S. 19.
81. *Papendieck* en *Bonath*, Hoppe Seyler 144, 60, 1925.
82. *Fischer*, *Schneller* en *Hilmer*, Hoppe Seyler 130, 309 en 143, 8.
83. *H. Fischer*, Hoppe Seyler 161, S. 34.
84. *D. Keilin*, Proc. of the Royal Society, Vol. 98, 1925.
85. *C. A. MacMunn*, Journ. Physiol., 8, 57.
86. *Hoppe Seyler*, Hoppe Seyler 14, 106, 329.
87. *G. Gola*, A. R. accad. dei Lincei Roma, Vol. 24, 1915; Vol. 28, 1919.
 Cit. *O. Schumm*, H. S., Bd. 152, S. 147.
88. *Fischer* en *Hilger*, Hoppe Seyler 138, S. 290.
89. *Anson* en *Mirsky*, Journ. of Physiol., Bd. 60, S. 166, 1925.
90. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 150, S. 276; 152, S. 147; 154, S. 171;
 159, S. 192.
91. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 149, S. 149.
92. *O. Schumm*, Die spektrochemische Analyse natürlicher organi-
 scher Farbstoffe, Jena, 1927.
93. *I. Boas*, Dtsch. med. Wochenschr., Nr. 30, 1931.
94. *Haurowitz*, Boas Archiv, Bd. 50, H.S. 1/2, 1923.
95. *Krüger*, Zeitschr. f. Biol., 24, 318, 1888.
96. *Haurowitz*, Hoppe Seyler 183, 78, 1929.
97. *Reichert* en *Brown*, "The Crystallography of Haemoglobins",
 Pub. Nr. 116 Carnegie Inst. of Washington, 1909.
 Cit. Recent Advances in Biochemistry, 1926.
98. *Valer*, Bioch. Zeitschr., 190, 444, 1927.
99. *Timar*, Bioch. Zeitschr., 202, 365, 1928.
100. *Macela* en *Sciskar*, Journ. Physiol., 1925, 60, 428.
101. *Bingold*, Klinische Wochenschrift, 1928, Nr. 38.
 " " 1929, Nr. 19.
 Bioch. Zeitschr. 1930, 227.
102. *Bingold*, Klinische Wochenschrift, 1928, Nr. 38, S. 1795.
103. *I. Snapper*, Berliner Klinische Wochenschr., 1919, Nr. 35.

105. *H. Weber*, Berliner Klin. Wochenschr., 1893, S. 441.
 106. *Z. Donogany*, Virchow's Archiv, Bd. 148, S. 234, 1897.
 107. *Z. Donogany*, Math. und Naturw. Berichte aus Ungarn, Bd. XL, 1893.
Cit. Virchow's Arch., S. 234, 1897.
 108. *O. Leers*, Forensische Blutuntersuchung.
 109. *Fischer en Schumm*, Dtsch. Med. Wochenschr., 1910, Nr. 3.
 110. *Haurowitz*, Boas Archiv, Bd. 50, H. 5/6, 1931, S. 366.
 111. *Károly*, Dtsch. Med. Wochenschr., 1909, Nr. 27, S. 119.
 112. *I. Snapper*, Berliner Klin. Wochenschr., 1916, Nr. 35, S. 975.
 113. *I. Snapper*, Boas Archiv, Bd. 25, S. 230, 1919.
 114. *Papendieck*, Hoppe Seyler, Bd. 128, S. 109.
 115. *H. Fischer en Karl Schneller*, Hoppe Seyler, Bd. 133, S. 302.
 116. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 149, 1, 1925.
 117. *Papendieck en Bonath*, Hoppe Seyler 144, S. 60, 1925.
 118. *Zaleski*, Hoppe Seyler 43, 11, 1904—1905.
 119. *Haurowitz*, Boas Archiv, Bd. 50, H. 1—2, S. 33.
 120. *Hamsik*, Hoppe Seyler 186, 263, 1930.
 121. *R. Willstätter en Mieg*, Ann. d. Chem. 1, 350, 1906.
 122. *E. Mertens*, Hoppe Seyler 167, S. 179.
 123. *V. Arnold*, Bull. de l'acad. des sciences de Gracovie, 1902, S. 223.
Cit. O. Schumm, H.S. 152, S. 6.
 124. *O. Schumm*, Hoppe Seyler, 152, S. 1.
 125. *I. Boas*, Boas Archiv, Bd. XLVII, S. 347, 1930.
 126. *I. Boas*, Dtsch. Med. Wochenschr., 1931, Nr. 30.
 127. *Léon Meunier*, Arch. des maladies de l'appar. dig. et de la nutrit, Bd. 13, S. 60, 1923.
 128. *I. Snapper*, Ergebn. d. inner. Medizin und Kinderheilkunde, 1927, S. 29.
 129. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 149, 61.
" " 151, 126.
 130. *O. Schumm*, Hoppe Seyler 178, S. 1.
 131. *H. Fisscher en F. Lindner*, Hoppe Seyler 161, S. 17.
 132. *Kämmerer en Gürsching*, Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 1929.
 133. *A. A. Hijmans van den Bergh en W. Grotepass*, Klin. Wochenschrift, Nr. 15, S. 586, 1933.
 134. *Garrod*, Journ. of Physiol., 13, 598 (1892).
Lancet, p. 1323 (1900 II).
 135. *Körber*, Inaug. Diss. Dorpat.
 136. Cit. *A. A. Hijmans van den Bergh*, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1932, I, Bldz. 124.
-

STELLINGEN.

I.

Bij colitis ulcerosa heeft de behandeling met bloedtransfusies de voorkeur boven de heelkundige behandeling.

II.

Voor al uit sociaal-geneeskundig oogpunt is het noodzakelijk, dat de diabetes mellitus-behandeling aangevuld wordt door een goede nazorgorganisatie.

III.

Vaatveranderingen in den zin van *Buerger* kunnen ook voorkomen aan andere vaten dan die der extremiteiten.

IV.

De behandeling der poliomyelitis acuta anterior met reconvalescentenserum is niet doeltreffend.

V.

Voor de hepato-liënographie is intraveneuse inspuiting van thorostrast als diagnostisch hulpmiddel niet toelaatbaar.

VI.

Oogheelkundige afwijkingen vormen geen contra-indicatie voor de insulinebehandeling van den diabetes mellitus-patient.

VII.

De bezwaren, door de school van *Nicolas* en *Favre* aangevoerd tegen de specificiteit van de reactie van *Frei*, zijn niet afdoend.

VIII.

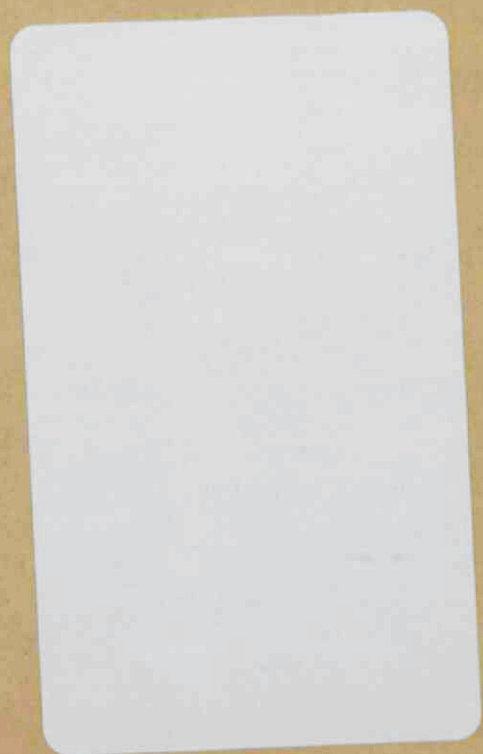
De navelstrengvaten worden rijkelijk van zenuwvezels voorzien.

IX.

De meest voorkomende oorzaak van de spontane subarachnoïdale bloeding is een ruptuur van een congenitaal aneurysma of van een aneurysma, veroorzaakt door een congenitaal defect van den vaatwand.

X.

Bij chronische kaakholte-ettering verrichte men bij voorkeur de operatie volgens *Luc-Caldwell*.



U
19