



Studie over haemoglobinurie, naar aanleiding van een geval van haemolytische anaemie met nachtelijke haemoglobinurie

<https://hdl.handle.net/1874/321344>

A. q. 192. 1935

STUDIE OVER HAEMOGLOBINURIE

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

F. L. J. JORDAN

STUDIE OVER HAEMOGLOBINURIE

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3812 3182

Diss. Utrecht 1935.

STUDIE OVER HAEMOGLOBINURIE

NAAR AANLEIDING VAN EEN GEVAL VAN
HAEMOLYTISCHE ANAEMIE MET NACHTELIJKE
HAEMOGLOBINURIE

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE
RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG
VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS, DR. H. BOL-
KESTEIN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT
DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS
BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSI-
TEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDE-
DIGEN OP DINSDAG 19 FEBRUARI 1935, DES
NAMIDDAGS 5 UUR

DOOR

FRIEDRICH LEOPOLD JACOB JORDAN

ARTS

GEBOREN TE ZÜRICH



M C M X X X V

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

*Aan mijn ouders.
Aan mijn verloofde.*

Bij het voltooien van dit proefschrift is het mij een behoefte, U Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en Docenten in de Faculteit der Geneeskunde en der Wis- en Natuurkunde der Utrechtsche Universiteit, mijn grooten dank uit te spreken voor het onderwijs, hetwelk ik van U mocht ontvangen.

In het bijzonder ben ik U dank verschuldigd, Hooggeleerde HIJMANS VAN DEN BERGH, Hooggeachte Promotor, van wien ik de opleiding mocht ontvangen in het onderdeel der geneeskunde, dat mij, in niet geringe mate door Uw toedoen, het dierbaarst is geworden. Steeds bewonder ik de geheel oorspronkelijke wijze, waarop U de vraagstukken, zoowel aan het ziekbed als op wetenschappelijk gebied, bestudeert.

Door het voorrecht onder Uwe leiding mijn proefschrift, hetwelk geheel op Uwe onderzoekingen gegrondvest is, te mogen bewerken, ben ik in nauw contact gekomen met een klein onderdeel van Uwen wetenschappelijken arbeid. Door het voorrecht als assistent aan Uwe Kliniek werkzaam te mogen zijn, ben ik in de gelegenheid geweest Uw kunde als clinicus te leeren begrijpen en ten zeerste te waardeeren. De invloeden, die ik door Uwe zienswijze, zoowel op wetenschappelijk als op klinisch gebied, alsmede door Uw persoon onderging, zullen mij steeds leiding blijven geven in mijn verdere leven. Het verheugt mij thans in de gelegenheid te zijn U mijn dank hiervoor te betuigen.

U, Hooggeleerde DE SNOO ben ik grooten dank verschuldigd voor den helaas korten tijd, dien ik in de gelegenheid was, met U in nauwer contact te treden.

Dat ik onder Uwe leiding, Hooggeleerde VAN DEN BROEK, mijn eerste onderzoek op wetenschappelijk gebied mocht verrichten, zal ik steeds met dankbaarheid gedenken.

U, Hooggeleerde RINGER, ben ik zeer erkentelijk voor Uw onderwijs in de physiologische chemie; het is een groot voorrecht voor mij den invloed van Uwen helderen en kritischen geest te hebben ondergaan.

Zeer Ervaren BRESTER, dat ik onder Uwe dagelijksche leiding in

de Kliniek mocht werken, is voor mijn klinische opleiding van zeer groote waarde. Het stemt mij steeds tot dankbaarheid, dat ik te allen tijde van Uwe groote ervaring gebruik heb mogen maken.

Zeer Geleerde HULST, voor de levendige belangstelling, die U bij het bewerken van dit proefschrift hebt betoond, ben ik U zeer dankbaar. Uw groot enthousiasme, zoowel voor klinisch als voor proefondervindelijk onderzoek, zijn mij vaak tot aansporing geweest.

Zonder Uwe bereidwilligheid, Zeer Geleerde VAN DER HOEDEN, was het mij niet mogelijk geweest, eenige belangrijke onderdeelen van dit proefschrift te bewerken. Dat U te allen tijde klaar stond U te verdiepen in de vraagstukken, die mij belang inboezemden, heeft grooten invloed op mijn onderzoek uitgeoefend. Uw heldere kritiek heeft mij voor menige fout behoed. Voor dit alles ben ik U ten zeerste dankbaar.

Ook U, Zeer Geleerde MULLER, ben ik zeer erkentelijk voor de hulp, welke ik van U bij het bewerken van dit proefschrift mocht ontvangen.

Voor den tijd, dat ik onder Uwe leiding, Zeer Geleerde REVERS, mocht werken, blijf ik steeds dankbaar.

Zeer Geleerde VAN DER VELDE, met groot genoegen herdenk ik den tijd, dat ik onder Uwe leiding de eerste stappen op het gebied der interne geneeskunde mocht doen.

Voorts dank ik U allen, Assistenten der Interne Kliniek voor Uwe aangename samenwerking en Uwe belangstelling, welke Gij steeds voor mijn onderzoek hebt betoond.

I N H O U D

	Blz.
EERSTE GEDEELTE (Inleiding)	
HOOFDSTUK I: KOUDE-HAEMOGLOBINURIE (HISTORISCHE INLEIDING)	1
HOOFDSTUK II: ANDERE VORMEN VAN HAEMOGLOBINURIE	18
A. Pseudo-haemoglobinurie	18
B. Ware Haemoglobinurie	19
Symptomatische haemoglobinurieën	19
Essentieele haemoglobinurieën	23
TWEEDE GEDEELTE (Eigen onderzoek)	
HOOFDSTUK III: KLINISCHE BESCHRIJVING	31
Geval J (haemolytische anaemie met nachtelijke haemo- globinurie)	31
Geval K (koude-haemoglobinurie)	35
HOOFDSTUK IV: REACTIE VAN DONATH EN LANDSTEINER	36
Reactie van DONATH en LANDSTEINER bij geval J . . .	42
Reactie van DONATH en LANDSTEINER bij geval K . .	43
HOOFDSTUK V: ANALYSE DER GEVONDEN VERSCHIJSSELEN BIJ GEVAL J	45
A. Analyse van het serum	47
B. Analyse van de erythrocyten	49
Mechanische resistentie	50
Osmotische resistentie	51
Saponine-resistentie	51
Lecithine-resistentie	52
Chinine-resistentie	53
Cholesterine- en phosphatide gehalte	53
Gedrag der erythrocyten in cholesterine-rijk serum .	54
C. Samenvatting	55

	Blz.
HOOFDSTUK VI: PROEVEN MET KOOLZUUR	56
Overzicht van de literatuur	56
Proeven bij geval K	59
Proeven bij een pat. met haemolytische icterus . .	62
Proeven bij geval J	62
Samenvatting en Conclusie	65
HOOFDSTUK VII: HAEMOLYSE EN STOLLING	68
Overzicht van de literatuur	68
Proeven bij geval K	70
Proeven bij geval J	71
Conclusie t.o.v. de bij koude-haemoglobinurie bekende feiten	74
Samenvatting en Conclusie	77
Invloed van eenige orgaan-extracten op de haemolyse .	77
Bloedingstijd en stollingstijd	78
HOOFDSTUK VIII: VERLOOP DER ZIEKTE VAN PAT.E J . .	78
Onderzoek naar het bestaan van haemoglobinaemie bij den aanval	81
Onderzoek van de erythrocyten tijdens en na den aanval	84
HOOFDSTUK IX: THERAPIE	90
HOOFDSTUK X: SAMENVATTING EN BESPREKING DER BE- LANGRIJKSTE RESULTATEN	91
LITERATUUR	103

HOOFDSTUK I

KOUDE-HAEMOGLOBINURIE.

HISTORISCHE INLEIDING.

Het loozen van zeer donkere bloedkleurige urine is een verschijnsel dat bij zeer uiteenlopende ziekten voorkomt. Zooals wij weten, wordt dit slechts in betrekkelijk weinig gevallen door de aanwezigheid van opgeloste bloedkleurstof in de urine veroorzaakt (*haemoglobinurie*). In het overgrootste meerendeel der gevallen is *haematurie* hiervan de oorzaak. Wij behoeven er ons dan ook niet over te verbazen, dat ten tijde dat de *haematurie* reeds goed bekend was, het ziektebeeld van de *haemoglobinurie* nog niet als zoodanig was waargenomen.

Een der eersten, wien het opviel dat er patienten waren, die donkere urine loosden zonder dat hierin een evenredige hoeveelheid erythrocyten kon worden aangetoond, was HARLEY⁽⁷²⁾. In 1865 publiceerde hij in een artikel dat hij „On intermittent Haematuria” noemde, twee gevallen van „haematurie”. Daarbij deed hij eenige waarnemingen van fundamenteel belang voor de ziekte die later als *koude-haemoglobinurie* bekend is geworden. Door de woorden van een zijner patienten: „each time I get cold hands or cold feet, I pass bloody urine . . .” aan te halen, legt hij reeds verband tusschen deze ziekte en afkoeling. Ook blijkt uit dit zinnetje dat het loozen van donkere urine datgene was, wat den patient tot den arts dreef. Het treft HARLEY dat de afwijkingen, welke hij ziet, veel vluchtiger zijn dan hij gewend was waar te nemen bij een der toen bekende vormen van *haematurie*. Ook de afwezigheid van erythrocyten in het urinesediment valt hem op. Naar aanleiding van deze bevindingen, welke geheel afwijken van hetgeen tot dusver betreffende de *haematurie* werd gevonden, meent HARLEY hier met een nieuw ziektebeeld te maken te hebben, waarbij uit roode bloedlichaampjes vrijgekomen kleurstof in de urine optreedt.

In de literatuur vindt HARLEY eenige gevallen, welke hem toe-

schijnen gelijkenis te vertoonen met de door hem beschreven ziekte. Hij noemt de waarnemingen van STEWARD (1794) ⁽¹⁹⁴⁾, van ELIOTSON (1832) ⁽⁵⁰⁾ en van GERGERÉS (1838) ⁽⁶⁰⁾. Geen dezer drie schrijvers had iets omtrent het urineonderzoek medegedeeld. Ook het geval van DRESSLER (1854) ⁽⁴²⁾, dat als „*albuminurie* en *chromaturie*” beschreven werd, behoort waarschijnlijk tot de door HARLEY bedoelde ziekte.

In aansluiting aan de publicaties van HARLEY heeft DICKINSON ⁽³⁴⁾ in hetzelfde jaar vier gevallen beschreven, waarvan hij er één zelf heeft waargenomen, die wat hun klinische bijzonderheden betreffen met die van HARLEY zeer goed overeenstemmen. Weliswaar meent ook hij hier een zelfstandige ziekte te moeten aannemen, doch hij meent de primaire verandering in een afwijking van het bloed te moeten zoeken en niet in de nieren zooals HARLEY dat had aangenomen.

In 1865 beschrijft HASSAL ⁽⁷³⁾ een dergelijk geval onder den naam „winterhaematurie”. Hij is het, die er met nadruk de aandacht op vestigt dat de donkere verkleuring van de urine niet door een haematurie, doch door een haemoglobinurie verklaard moet worden. In de volgende jaren worden dan nog eenige verdere gevallen beschreven o.a. door PAVY (1866), GULL (1866) ⁽⁶⁹⁾, POPPER (1868) ⁽¹⁵⁶⁾, GREENHOWE (1868) ⁽⁶⁸⁾, LEGG (1874) ⁽¹⁰⁹⁾. Er werden echter weinig nieuwe gezichtspunten geopend, totdat in 1872 SECCHI en LEBERT ⁽¹⁸⁸⁾ het haemoglobine niet alleen, zooals tot nu toe gedaan was, langs chemischen, maar ook langs *spectroscopischen* weg aantoonde. Zij zagen na schudden van de urine met lucht twee strepen (oxyhaemoglobine strepen), welke na reductie met zwavelammonium tot de haemoglobinstreep overgingen.

Terwijl tot nu toe reeds door verschillende onderzoekers verband was gelegd tusschen haemoglobinurie en afkoeling, zien wij in 1878 door LICHTHEIM dit verband scherp in het licht gesteld. Het mechanisme van deze koude-werking is LICHTHEIM in het geheel niet duidelijk. Wel ziet hij in, dat de koude niet de oorzaak van de ziekte, doch slechts de oorzaak van den aanval is. Een directe werking van de koude op de erythrocyten acht hij, op grond van proeven dienaangaande, onwaarschijnlijk. Door de gelijkenis die er volgens LICHTHEIM bestaat tusschen de verschijnselen na transfusies met schapenbloed (PONFICK) ^(153; 154; 155) en de door hem waar-

genomen haemoglobinurie-aanvallen, acht hij het waarschijnlijk, dat de haemoglobinurie het gevolg is van een *haemoglobinaemie*. Deze laatste heeft LICHTHEIM echter niet kunnen aantonen.

Ook KOBERT en KUESSNER (1878) ⁽⁸⁵⁾ namen een patient waar, wiens ziekte huns inziens veel gelijkenis vertoonde met de door LICHTHEIM beschreven gevallen, welke waarneming zij dan ook onder den zelfden naam „Periodische Haemoglobinurie” beschreven. In deze publicatie kanten zij zich tegen de in 1877 door VAN ROSSUM ⁽¹⁷⁰⁾ verdedigde opvatting, als zou de haemolyse van de erythrocyten eerst in de blaas, onder invloed van daar aanwezig oxalaat plaats hebben. Zij zien o.a. in de reeds vroeger tijdens een aanval waargenomen subicterische huidkleur, die op bloed afbraak in het lichaam zou wijzen, een argument tegen de opvatting van VAN ROSSUM. Ook zij meenen, evenals LICHTHEIM, dat de haemoglobinurie een gevolg is van een haemoglobinaemie.

Een belangrijke vooruitgang was het onderzoek naar de aetiologie van de haemoglobinurie, door WILKS (1879) ⁽²¹¹⁾ en SILVESTRINI en CONTI (1880—1881) ^(189; 190; 191) gedaan, hetwelk de beteekenis van de *lues* voor deze gevallen leerde kennen. Ook MURRI (1880 en 1885) ^(138; 139; 140; 141) en COMBY in 1895 ⁽³²⁾ vonden *lues* in de meeste gevallen van haemoglobinurie aanwezig. Dit was van te meer beteekenis, waar nu in plaats van de met wisselend succes toegepaste chinine-therapie (die door HARLEY was aanbevolen), een meer rationeele therapie aangewend kon worden, in den vorm van een antiluetische therapie. Ook deze onderzoekers erkenden de groote beteekenis van de afkoeling voor het ontstaan van den aanval. Hierover was men het trouwens over het algemeen wel eens. Hoe echter deze afkoeling voerde tot de waargenomen verschijnselen, lag nog geheel in het duister.

Reeds zagen wij dat de betreffende onderzoekers zich verschillende voorstellingen maakten, van de wijze waarop deze processen verliepen en de plaats waar ze zich voltrokken.

De meesten achtten het waarschijnlijk dat de afwijking in het bloed was gezeteld en dat de waargenomen nierverschijnselen slechts van secundaire aard waren. (DICKINSON ⁽³⁴⁾, LICHTHEIM, KUESSNER ⁽¹⁰²⁾). Anderen echter, zooals HARLEY ⁽⁷²⁾ en GULL ⁽⁶⁹⁾, achtten het waarschijnlijk dat de nier de plaats is waar de haemolyse geschiedt. Weer anderen, zooals LEGG ⁽¹⁰⁹⁾, GREENHOWE ⁽⁶⁸⁾, LÉ-

PINE ⁽¹¹⁰⁾ en VAN ROSSUM ⁽¹⁷⁰⁾ meenden, dat de haemolyse eerst in de urinewegen (blaas) plaats heeft.

De strijd over de plaats waar de afbraak der erythrocyten geschiedt, duurde voort. De argumenten in dezen strijd werden voornamelijk uit de klinische gegevens geput. De pijn in de lendenen en de afwijkingen in het urinesediment, welke men bij nieraandoeningen gewend was te zien en het niet vinden van haemolytisch serum of gedestrueerde erythrocyten (ROSENBAACH), werden als argumenten gebezigd ten gunste van de „renale” hypothese. De vluchtige aard dezer afwijkingen, maar vooral de zoo vaak waargenomen subicterische kleur bij deze patienten, pleitte ten gunste van de „haematogene” hypothese. Vooral de bevindingen van KOBERT en KUESSNER ⁽⁹⁵⁾, die *haemoglobine in het serum* tijdens den aanval meenen gezien te hebben, werden een belangrijke steun voor de laatste opvatting, welke buitendien nog versterkt werd door de *experimenten van EHRLICH* ^(45; 46).

Naar aanleiding van een door hem waargenomen geval, publiceerde EHRLICH in 1881 een nieuwe diagnostische methode, welke ook van groot theoretisch belang zou blijken te zijn en eigenlijk de grondslag voor alle latere serologische onderzoekingen over dit onderwerp is geworden. Terwijl tot nu toe door sommigen [o.a. ROSENBAACH ⁽¹⁶⁷⁾] een aanval bij den patient werd opgewekt door een groot lichaams-oppervlak af te koelen (bijv. door middel van een koud voetbad), beveelt EHRLICH ⁽⁴⁶⁾ aan, een afgesnoerden vinger van den patient eerst een kwartier in ijswater, (0° C) daarna een kwartier in lauw water te houden. Hierna wordt bloed uit dien vinger in een capillair opgezogen en wordt stolling afgewacht. Het bij de stolling uitgeperste serum blijkt gekleurd te zijn, terwijl beschadiging van sommige erythrocyten is waar te nemen. EHRLICH ⁽⁴⁵⁾ meende ook in vitro een werking van koude op erythrocyten te kunnen aantoonen, welke o.a. door BOAS ⁽¹⁵⁾ bevestigd is. Later heeft hij ⁽⁴⁶⁾ deze zienswijze echter niet kunnen handhaven en kwam hij tot de voorstelling, dat onder invloed van koude de wanden der bloedvaten stoffen zouden doen ontstaan, die de erythrocyten tot oplossing kunnen brengen. Onder invloed van zijn immuniteits-theorie meende EHRLICH dat *haemolysinen* zulk een rol zouden kunnen spelen, daar gevonden was, dat voor haemolysinen in het algemeen, dezelfde wetten gelden als voor

bacteriolysinen. EHRLICH heeft deze opvatting nooit kunnen bewijzen.

CHVOSTEK ⁽⁸¹⁾ die *de proef van EHRLICH* herhaalde, vond dat voor het aantoonen van haemoglobine in het serum, afsnoering van den vinger alléén reeds voldoende was, zoodat hij het belang van de afkoeling voor *de proef van EHRLICH* ontkende. CHVOSTEK concludeerde uit deze waarneming tot een grootere mechanische laedbaarheid der erythrocyten van zijn patient. Ook in vitro trachtte hij deze eigenschap vast te stellen en inderdaad vond hij, dat de erythrocyten door schudden veel sneller tot haemolyse gebracht werden, dan normale roode bloedlichaampjes. Aan deze bevinding hechtte hij groote waarde voor het tot stand komen van den aanval van „paroxysmale-haemoglobinurie”. Reeds vóór hem was van verschillende zijden gewezen op het verband dat er bestond tusschen „paroxysmale haemoglobinurie” en vaatafwijkingen in den zin van *de ziekte van RAYNAUD* (SOUTHEY ⁽¹⁹³⁾), BRISTOWE en COPEMAN ^(20; 21), WILKS ⁽²¹¹⁾, MAKENZIE ^(121; 122; 123), MURRI ⁽¹⁴¹⁾. HERRINGHAM, POPPER ⁽¹⁵⁶⁾, ROHRER ⁽¹⁶⁶⁾, BURCHHARDT ⁽²²⁾ e.a.). CHVOSTEK nu legde verband tusschen deze waarnemingen en zijn eigen proeven. Hij opperde de veronderstelling, dat bij lijdens aan paroxysmale haemoglobinurie, de roode bloedlichaampjes tengevolge van hun groote gevoeligheid voor mechanische beschadiging daaraan gedeeltelijk zouden te gronde gaan. Als oorzaak van deze mechanische beschadiging nam hij aan, dat de erythrocyten bloedvaten moeten passeeren, welke door de koude sterk zijn vernauwd. Hij neemt voor het tot stand komen van een aanval twee factoren aan: in de eerste plaats een *verlaagde mechanische resistentie der erythrocyten*, in de tweede plaats een *abnorme circulatie* in de afgekoelde vaatgebieden, waardoor mechanische beschadiging, maar tevens een *hoog koolzuurgehalte* van het bloed tot haemolyse zouden voeren.

CHVOSTEK's proeven werden in 1899 door MANNABERG en DONATH ⁽¹²⁵⁾ herhaald, welke onderzoekers de door dezen gevonden verminderde resistentie tegen schudden bevestigden. Toch leverden zij kritiek op CHVOSTEK's voorstellingen, daar LUZATTI en SORGENTE ⁽¹²⁰⁾ aangetoond hadden, dat de proef van CHVOSTEK negatief uitviel, indien het afgesnoerde lichaamsdeel op een temperatuur van 37° C werd gehouden. Blijkbaar zou dus toch bij *de proef van EHRLICH* de afkoeling een voorname rol spelen. In navolging van MURRI,

die, evenals CHVOSTEK, aan het koolzuur een groote rol toekende voor het tot stand komen van den aanval, onderzochten zij de werking dezer verbinding in vitro, op het bloed van hun patienten. Inderdaad bleken de erythrocyten onder inwerking van koolzuur sneller tot haemolyse over te gaan dan normale roode bloedlichaampjes. Zij achtten het waarschijnlijk dat voor het optreden van een aanval van haemoglobinurie drie factoren verantwoordelijk zijn: ten eerste een verlaagde resistentie van roode bloedlichaampjes tegen mechanische beschadiging, ten tweede een verlaagde resistentie tegen inwerking van koolzuur, ten derde een verhoogde vasomotorische prikkelbaarheid der vaten, waardoor het koolzuurgehalte van het bloed stijgt.

Niettegenstaande de onderzoekingen van EHRLICH^(45; 46), KOBERT en KUESSNER⁽⁹⁵⁾ e.a. was men geenszins alom overtuigd van den haematogenen oorsprong van de haemoglobinurie. Vooral HAYEM^(74; 75), MILLARD⁽¹³⁵⁾, ROBIN^(164; 165) e.a. kantten zich tegen deze zienswijze. Zij achtten de bewijzen voor een haematogenen oorsprong niet overtuigend.

Van de mogelijkheid dat *haemolysinen* bij het ontstaan van den aanval van koude-haemoglobinurie een rol spelen, is terloops door EHRLICH reeds melding gemaakt. De proeven hieromtrent leverden echter zeer uiteenlopende resultaten, waarin verheldering kwam, toen in 1904 DONATH en LANDSTEINER⁽³⁶⁾ hun fundamenteele waarnemingen publiceerden. Daar deze proeven herhaalde malen ter sprake zullen moeten komen, meen ik goed te doen, op deze plaats hierop iets uitvoeriger in te gaan.

PROEF VAN DONATH EN LANDSTEINER.

De bedoeling van DONATH en LANDSTEINER was, het bloed van patienten met koude-haemoglobinurie, in vitro dezelfde verandering te doen ondergaan, die in vivo plaats heeft, indien door afkoeling van een extremiteit een aanval wordt opgewekt [*proef van ROSENBAACH*⁽¹⁶⁷⁾]. Zij stelden zich voor dat het aan de peripherie afgekoelde bloed in centraler gelegen vaatgebieden weer een hogere temperatuur aanneemt, waardoor dan haemolyse zou optreden. Ook de *vingerproef van EHRLICH* was hiermede in overeenstemming, doordat daarbij, zooals wij zagen, haemoglobine in het serum verschijnt, wanneer een afgesnoerde vinger eerst 15 minuten

in ijswater en daarna 15 minuten in lauw water wordt gehouden ¹⁾.

DONATH en LANDSTEINER deden hun proeven met oxalaatbloed of met een mengsel van serum en erythrocyten. Lieten zij dit bij 0° C of bij 37° C staan, dan was er geen haemolyse te zien, wel echter, indien aan het verblijf op 37° C een afkoeling van korten duur was vooraf gegaan. Door bloed een half uur in ijswater en daarna 2 uur bij 37° C te laten staan, kregen zij steeds duidelijke haemolyse. Of zij daarbij werkten met oxalaatbloed, dan wel met een mengsel van 5 druppels erythrocyten-suspensie (gewassen met 0.85 % keukenzoutoplossing) en 15 druppels serum, gaf geen verschil in de door hen verkregen resultaten. DONATH en LANDSTEINER herhaalden deze proeven, gebruikten echter inplaats van serum physiologische keukenzoutoplossing. Doordat hierbij geen haemolyse optrad, werd het waarschijnlijk dat de haemolyse niet door de temperatuurs-wisseling alleen ontstaat, doch dat serum een noodzakelijke factor hiervoor is.

Ook het gebruik van geïnactiveerd serum gaf een negatief resultaat. Zij brachten deze waarneming in verband met hetgeen bekend was over de thermolabele factor in lytische sera en schreven derhalve de door hen waargenomen haemolyse aan complementwerking toe. Door verdere proeven bleek het proces der haemolyse bij lijders aan koude-haemoglobinurie in twee fasen te verlopen.

De eerste phase is die, welke zich in de koude afspeelt, waarbij een binding van een thermostabiele factor aan de erythrocyten plaats heeft. De tweede phase speelt zich af na verwarming op 37° C. Hierbij oefent de thermolabele factor (complement) zijn werking uit op de met den thermostabielen factor beladen erythrocyten. Voor de tweede phase is dus het serum van den patient vervangbaar door normaal versch serum, aangezien immers in elk normaal serum complement bevat is. Voor de eerste phase daarentegen is serum van den lijder aan koude-haemoglobinurie noodzakelijk. *De proef van DONATH en LANDSTEINER* viel ook positief uit, als zij in plaats van gewassen erythrocyten van den patient, normale gewassen erythrocyten gebruikten.

1) Merkwaardig is zeker dat EHRLICH zoo weinig aandacht schenkt aan het verblijf van den vinger in lauw water. Zelfs motiveert hij niet, hoe hij er toe gekomen is, de proef zoo in te richten.

Wij zien dat DONATH en LANDSTEINER door hun proeven een krachtigen steun verleen en aan de hypothese, dat de oorzaak van de koude-haemoglobinurie in het bloed gezeteld is. Zelfs toonen hun proeven aan dat bij den lijder aan koude-haemoglobinurie niet het geheele bloed, doch slechts het plasma ziek is. Voor het eerst werd door hen langs experimenteelen weg verband gelegd tusschen de reeds in de serologie bekende *werking van haemolysinen* en de koude-haemoglobinurie. Een verschil t.o.v. alle andere tot nu toe bekende haemolysinen is echter, dat het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER zich alleen in de koude aan erythrocyten bindt, terwijl de overige haemolysinen dit ook bij hoogere temperaturen doen. Dat het complement zijn werking bij 37° C uitoefent, was reeds sinds EHRlich en MORGENROTH (47; 48; 49) bekend. Het gedrag van het gevonden haemolysine was, wat zijn dissociatie betreft, geheel in overeenstemming met dat der agglutininen, zooals door LANDSTEINER (104; 105) in 1902 en door LANDSTEINER en JAGIC (106) in 1903 was gevonden. De dissociatie dezer agglutinine-verbindingen neemt immers toe in evenredigheid met de temperatuur. Zij gaat echter zoo langzaam, dat het aanwezige complement bij stijging van de temperatuur tot 37° C zijn werking kan uitoefenen, voordat volledige dissociatie is opgetreden.

Het valt niet te verwonderen dat men na de publicatie van DONATH en LANDSTEINER meende, het ontstaan van een aanval van koude-haemoglobinurie volledig te kunnen doorgronden. Ook DONATH en LANDSTEINER zelf schrijven in hun eerste publicatie, dat zij van oordeel zijn, geen andere hypothese meer noodig te hebben voor de verklaring van wat er bij den aanval gebeurt. Zooals wij zagen, waren hun resultaten geenszins in tegenstelling met *de proef van EHRlich*, die als het ware de proef van DONATH en LANDSTEINER in vivo is, evenmin als met de resultaten van LUZATTI en SORGENTE (120). Wel echter zijn vóór de publicatie van DONATH en LANDSTEINER eenige feiten bekend geworden die deze schrijvers moeilijk met de hunne in overeenstemming konden brengen. Zoo vinden wij reeds in 1895 een mededeeling van SIREDEY (192), waarin hij beschrijft dat na stolling van bloed van een lijder aan koude-haemoglobinurie ook tusschen de aanvallen haemoglobinehoudend serum is uitgeperst.

Ook VIOLA ⁽¹⁹⁶⁾ heeft in ditzelfde jaar een oplossende werking van patienten-serum op eigen en normale erythrocyten vastgesteld, hetgeen ook door CHIARUTTINI (1900) ⁽²⁹⁾ werd gevonden. KRETZ ⁽⁹⁷⁾ daarentegen vond in 1903 dat erythrocyten van den patient door eigen, maar ook door vreemd serum werden gehaemolyseerd, terwijl dit niet met normale erythrocyten gebeurt. Volgens hem zouden dus bij den lijder aan koude-haemoglobinurie de erythrocyten „ziek” zijn en niet het plasma zooals VIOLA en CHIARUTTINI meenden.

Zooals gezegd, waren deze resultaten niet in overeenstemming te brengen met de proeven van DONATH en LANDSTEINER, daar alle genoemde schrijvers haemolyse hadden zien optreden, zonder van voorafgaande afkoeling melding te maken. DONATH en LANDSTEINER achtten deze proeven niet in strijd met hun resultaten, daar volgens hen door deze schrijvers niet voldoende aandacht aan temperatuursveranderingen was besteed. Inderdaad lijkt de kritiek van DONATH en LANDSTEINER gerechtvaardigd. Volgens publicaties van DONATH en LANDSTEINER geeft bijv. KRETZ zelf toe dat het door hem onderzochte bloed werkelijk op een koelere plaats bewaard is geweest. Hun verklaring van deze tegenstrijdige resultaten leek DONATH en LANDSTEINER nog waarschijnlijker, doordat zij aannemelijk hadden weten te maken, dat voor een positieven uitslag van hun reactie in sommige gevallen reeds een afkoeling tot kamertemperatuur of weinig daar beneden liggende temperaturen, voldoende kon zijn.

Veel merkwaardiger is het, zooals HIJMANS VAN DEN BERGH ⁽⁸⁴⁾ opmerkt, dat DONATH ⁽³⁵⁾, die ongeveer een jaar te voren de proef van DONATH en LANDSTEINER met negatief resultaat had verricht, later in het geheel niet op deze bevinding terugkomt.

Na de publicatie van de zoo interessante onderzoeken van DONATH en LANDSTEINER ⁽³⁶⁾ heeft het natuurlijk niet ontbroken aan mededeelingen, waarin hun resultaten aan nieuwe gevallen van koude-haemoglobinurie zijn getoetst en tevens aan kritiek zijn onderworpen.

Door een aantal onderzoekers werden de resultaten van DONATH en LANDSTEINER volledig bevestigd, zooals door LANGSTEIN ^(107; 108), EASON ^(43; 44), MORO en NODA ^(136; 137), HOOVER en STONE ⁽⁸²⁾ e.a.

Ook WIDAL en ROSTAINE ^(209; 210) konden de feiten, die DONATH en LANDSTEINER hadden gevonden, bevestigen. Zij meenden daaraan echter een anderen uitleg te moeten geven. Op grond van door hen genomen proeven, meenden zij het bestaan van een „substance antisensibilisatrice” te moeten aannemen. Deze zou zich gewoonlijk in evenwicht bevinden met den sensibilisator. Bij de koude-haemoglobinurie echter zou dit evenwicht door afkoeling verstoord worden. Hierdoor zou de substance antisensibilisatrice niet meer in staat zijn den sensibilisator in evenwicht te houden, daar de substance antisensibilisatrice een grootere gevoeligheid voor afkoeling zou bezitten. De sensibilisator is nu in staat zich aan de erythrocyten te binden.

Door inspuiting van geïnactiveerd menschelijk serum bij dieren, trachtten zij deze substance antisensibilisatrice op te wekken. Op deze wijze waren zij in staat, serum te verkrijgen dat tegen den sensibilisator gericht was. Door inspuiting van dit serum meenden zij bij koude-haemoglobinurie een tijdelijke immuniteit tegen afkoeling gezien te hebben, terwijl zij ook in vitro eenigen invloed hiervan op de erythrocyten konden waarnemen.

Door DONATH en LANDSTEINER en CHOROCHILOW ⁽³⁰⁾ kon dit niet worden bevestigd en ook GRAFE en MÜLLER ⁽⁶⁷⁾ vonden de uitslagen van deze proef zoodanig, dat zij niet toelieten, hieruit conclusies te trekken.

Terwijl DONATH en LANDSTEINER in hun eerste publicatie hadden verklaard, iedere andere hypothese dan de hunne voor het ontstaan van den aanval van koude-haemoglobinurie te kunnen missen, is het merkwaardig te zien, dat reeds in 1906, juist van hun kant een publicatie verschijnt, welke m.i. met dit standpunt geheel onvereinigbaar is. Zij vonden nl. zoowel hun eigen reactie, als de proef van EHRLICH positief in een zeker aantal gevallen van *dementia paralytica*, bij welke patienten geen sprake was van haemoglobinurie. Zij zagen toen reeds in, dat er naast het door hen gevonden haemolysine nog andere factoren in het spel moeten zijn, voordat het tot een aanval van koude-haemoglobinurie komt. In de eerste plaats dachten zij hierbij aan de vasomotorische afwijkingen, welke, zooals reeds vroeger herhaalde malen was aangenomen [zie DONATH ⁽³⁵⁾], een rol bij het ontstaan van den aanval zouden vervullen. Zij meenden dat, door het ten eenenmale ontbreken der

vasomotorische afwijkingen bij de onderzochte paralytici, de afkoeling niet een zoodanigen graad kan bereiken, dat de amboceptor zich in voldoende mate aan de erythrocyten bindt. Behalve de vraag of door krachtige afkoeling bij deze patienten, niet toch dergelijke temperaturen te bereiken zouden zijn, als bij patienten met koudehaemoglobinurie, is er één moment dat aan de beteekenis van de vasomotorische afwijkingen voor het ontstaan van den aanval zeer zeker afbreuk doet, nl. dat het geenszins vaststaat dat de genoemde afwijkingen aan den aanval vooraf gaan. In de eerste plaats kan het tijdstip, waarop de aanval begint, niet worden afgeleid van het moment, waarop de eerste haemoglobine-houdende urine wordt geloosd. Inderdaad huldigen de meeste schrijvers [o.a. LICHTHEIM ⁽¹¹⁴⁾, EHRLICH ^(45; 46), BOAS ⁽¹⁵⁾] de opvatting, dat de vaat-afwijkingen het gevolg zijn van een haemoglobinaemie. Maar vooral de waarneming van PEL JR. ⁽¹⁵⁰⁾ is in dit opzicht belangrijk. In een mededeeling met BURGERHOUT wijst deze er met nadruk op, dat in het door hem waargenomen geval de haemoglobinurie zelfs duidelijk aan de vasomotorische verschijnselen vooraf gaat.

In dezelfde publicatie, waarin de aanwezigheid van haemolysinen bij paralytici wordt medegedeeld, maken DONATH en LANDSTEINER er wederom gewag van, hoezeer hun reactie, wat betreft de intensiteit der haemolyse, zelfs bij één en denzelfden patient kan wisselen. Zij meenen dit aan wisselingen van het gehalte aan amboceptor te moeten toeschrijven. De amboceptor zou door den aanval verbruikt worden, waardoor hun reactie zwakker zou uitvallen.

Intusschen waren reeds eenige mededeelingen verschenen waarin, niettegenstaande de onderzoekers de proeven van DONATH en LANDSTEINER met de grootst mogelijke zorg hadden nagedaan, andere uitkomsten werden verkregen. Zoo zagen PEL JR. en BURGERHOUT ⁽¹⁵⁰⁾ in het geheel geen haemolyse optreden. GRAFE en MÜLLER ⁽⁶⁷⁾ trachtten deze, maar ook hun eigen negatieve resultaten (zij vonden slechts in één van de zeven gevallen de reactie van DONATH en LANDSTEINER duidelijk positief), door gebrek aan complement te verklaren. Dit complementgebrek zou een afweer van het lichaam tegen verdergaande haemolyse beteekenen. Zij vonden, dat bloed van den patient met eigen serum in de broedstoof gezet, niet haemolytisch werd, terwijl dit wèl het geval was, indien normaal serum daarbij was gevoegd. Dat roode bloedlichaampjes van den

patient, zonder afgekoeld geweest te zijn, bij 37° C van normaal serum voorzien, gehaemolyseerd worden, achtten deze schrijvers niet in strijd met de theorie van DONATH en LANDSTEINER (evenmin als MORO en NODA ^(136; 137), die dezelfde waarneming deden). Zij verklaarden dit, door aan te nemen dat de erythrocyten den amboceptor reeds hadden gebonden. Ter verklaring van de negatieve reactie van DONATH en LANDSTEINER bij een ander geval, hebben zij echter weder de afwezigheid van den amboceptor noodig, zooals ook DONATH en LANDSTEINER zelf hadden aangenomen. GRAFE en MÜLLER vonden nl. de reactie negatief na een lichten aanval, terwijl toch voldoende complement aanwezig was.

Ook MEYER en EMMERICH ^(133; 134) vonden, dat toevoeging van complement het percentage der positieve reacties deed stijgen. Volgens deze schrijvers zou het complement niet alleen tijdens de aanvallen verbruikt worden, maar ook tusschen de aanvallen aan sterke schommelingen onderhevig zijn, zonder dat hier een reden voor te vinden is (abortieve aanvallen?). De tegenstrijdigheid, dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER, door gebrek aan complement, negatief uitvalt, terwijl toch het opwekken van een aanval gelukt, trachtten zij op te lossen, door aan te nemen, dat complement door de koude in vivo gemobiliseerd kan worden. Niettegenstaande toevoeging van complement valt de reactie van DONATH en LANDSTEINER ook bij hen niet steeds positief uit, zoodat ook zij een gebrek aan amboceptor moeten aannemen. Wij vinden bij MEYER en EMMERICH het denkbeeld geopperd, dat het haemolysine, dat sinds DONATH en LANDSTEINER als oorzaak van de haemolyse werd beschouwd, als het ware het gevolg zou zijn van een „infectie” met eigen erythrocyten. Tot deze opvatting kwamen zij door de studie van het bloedbeeld, hetwelk tijdens den aanval veranderingen vertoonde, die aan een acute infectie deden denken. Dit bloedbeeld werd ook reeds door HOOVER en STONE ⁽⁹²⁾ gevonden ¹⁾.

Hoe dit alles ook wezen moge, wij zien, dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER zeker niet steeds positief uitvalt in klassieke gevallen van koude-haemoglobinurie en dat de oorzaak hiervan niet

1) Volledigheidshalve zij nog vermeld dat CZERNECKI ⁽³³⁾ met bloed van lijders aan koude-haemoglobinurie vaak haemolyse zag ontstaan bij 37° C, ook zonder voorafgaande afkoeling, hetgeen hij echter ook bij normaal bloed vond.

duidelijk is geworden, niettegenstaande de vele pogingen om de negatieve uitkomsten te verklaren.

Een samenvattende kritische beschouwing over de vraag in hoeverre de reactie van DONATH en LANDSTEINER een bevredigende verklaring geeft van het ontstaan der aanvallen bij koude-haemoglobinurie, vinden wij in een publicatie van HIJMANS VAN DEN BERGH (^{84; 85; 86}) van 1909. Om redenen, welke later uitvoeriger besproken zullen worden, achtte HIJMANS VAN DEN BERGH het niet waarschijnlijk, dat het haemolysine door DONATH en LANDSTEINER gevonden, alle verschijnselen bij de koude-haemoglobinurie verklaart. Zeer zeker spelen volgens hem ook andere factoren een rol, met name vestigt hij de aandacht op de werking van het *koolzuur*. Door experimenteel onderzoek heeft hij dit waarschijnlijk weten te maken. Op zijn proeven en bevindingen dienaangaande zal ik naar aanleiding van eigen onderzoek uitvoerig terug moeten komen.

Het spreekt vanzelf, dat in den loop der jaren verschillende gevallen van koude-haemoglobinurie zijn waargenomen en onderwerp van nauwkeurige studie zijn geweest. Het zou mij echter te ver voeren, een opsomming hiervan te geven, zoodat ik mij tot die onderzoekingen, welke mij het meest belangrijk lijken, zal beperken.

Evenals vroeger waren er ook nu weer eenige onderzoekers, waaronder FOIX en SALIN (⁵⁵), LEVY en VALENSI (¹¹²) en CHOROSCHLOW (³⁰), die de oorzaak van de haemolyse aan een afwijking der erythrocyten meenden te moeten toeschrijven, doordat zij het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER niet konden aantonen, daarentegen met normaal serum en zonder eenige afkoeling haemolyse zagen ontstaan. Ook HERTZ en MAMROT (⁷⁶) en KUMAGAI en INOUÉ (^{99; 100}), konden in eenige gevallen het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER niet aantonen. Deze schrijvers meenden dit te kunnen verklaren, door een stof aan te nemen, die het complement remt en zich in het serum van lijdens aan koude-haemoglobinurie zou bevinden.

Een uitvoerige studie over de oorzaken van den zoo vaak gevonden negatieven uitslag van de reactie van DONATH en LANDSTEINER, hebben WIDAL, ABRAMI en BRISSAUD (^{205; 206; 207; 208}) in 1913 geleverd. Evenals WIDAL en ROSTAINE (^{209; 210}) gedaan hadden, namen ook zij het bestaan van een „substance antisensibilisatrice” aan, welke

zich in normaal bloed bij 37° C in evenwicht zou bevinden met den sensibilisator. Zij noemden deze stof *antihæmolysine*. Bij patienten met koude-hæmoglobinurie zou, in tegenstelling met andere patienten en normale personen, dit evenwicht worden verstoord door afkoeling, zoodat dan een binding van den sensibilisator aan de erythrocyten zou kunnen plaats hebben met de bekende gevolgen. Toch zou deze stof niet identiek zijn met de „substance antisensibilisatrice” van WIDAL en ROSTAINE, daar het antihæmolysine volgens de onderzoekingen van WIDAL, ABRAMI en BRISSAUD ook een anti-complementaire werking zou hebben. Met deze hypothese meenden genoemde schrijvers alle tegenstrijdige resultaten te kunnen verklaren. Evenals DONATH en LANDSTEINER meenen ook WIDAL en ABRAMI, dat de tegenstrijdige resultaten, die bij het verrichten van de reactie van DONATH en LANDSTEINER werden aangetroffen, aan technische fouten zijn toe te schrijven. Door zijn onderzoekingen heeft WIDAL ons een geheel nieuwen kijk gegeven op de processen, die zich onder invloed van de koude bij lijdens aan koude-hæmoglobinurie voordoen. Hij beschouwt den aanval als „Une attaque d’auto-anaphylaxie à frigore”. Hij vindt nl. eenige teekenen, die kenmerkend zijn voor den anaphylactischen shock, bij den aanval van koude-hæmoglobinurie terug. Daar deze shocksymptomen volgens WIDAL aan de hæmolyse, ja zelfs aan het gesensibiliseerd-zijn der erythrocyten vooraf gaan, acht hij het uitgesloten dat deze shock door de bij hæmolyse ontstane producten wordt veroorzaakt. Integendeel meent hij, dat de oplossing der erythrocyten een gevolg is van den shock, terwijl de oorzaak van den shock berust in een verstoring van de evenwichten der in het bloed aanwezige hæmolysinen en antihæmolysinen, als gevolg van de inwerking der koude.

Afgezien van eenige publicaties, waarop ik naar aanleiding van latere besprekingen zal terugkomen, is het in de laatste jaren vooral SALÉN (¹⁷⁴; ¹⁷⁷), die onze aandacht vraagt voor zijne onderzoekingen. Sinds 1921 zijn van zijn hand verschillende publicaties verschenen, waarin hij naast een uitvoerige kritische bespreking der literatuur zijn eigen waarnemingen publiceert. Ik wil mij er op deze plaats toe beperken, slechts eenige resultaten van dit zeer goed gedocumenteerde werk te noemen. Op zijn kritische beschouwing zal ik nog herhaalde malen gelegenheid hebben terug te komen, zoodat ik er thans hier geen aandacht aan zal schenken.

Een der belangrijkste begrippen, welke SALÉN heeft uitgewerkt, is dat der *manifeste* en der *latente haemoglobinurie*. Zooals wij zagen was het reeds aan DONATH en LANDSTEINER bekend, dat bij sommige lijders aan lues het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER aanwezig was, zonder dat deze patienten het klinische beeld der koude-haemoglobinurie vertoonden. Aan het verband tusschen de afwijkingen dezer „haemolysine-dragers” [KUMAGAI en INOUÉ (99; 100)] en de koude-haemoglobinurie werd weinig aandacht geschonken, totdat SALÉN bemerkte, dat het beeld der koude-haemoglobinurie bij een en denzelfden patient in dat van „haemolysine-drager” kan overgaan. Terecht merkt SALÉN op dat de naam haemoglobinurie voor deze gevallen niet op zijn plaats is. Een andere benaming stelt hij echter niet voor. SALÉN meent, zooals gezegd, dat deze beide vormen in elkaar kunnen overgaan, zoodat dus een lijder aan manifeste koude-haemoglobinurie, al dan niet onder den invloed eener therapie, in een latenten toestand kan geraken, welke op zijn beurt weer manifest kan worden. SALÉN meent dat het kenmerkende van de koude-haemoglobinurie (manifeste en latente vorm) daarin bestaat, dat een deel van de colloïd-disperse bestanddeelen van het serum (waarschijnlijk globulinen), door bepaalde afkoeling een vermindering van hun dispersiteitsgraad ondergaan, waardoor zij op de erythrocyten kunnen neerslaan. De erythrocyten, welke met deze veranderde globulinen zijn beladen, blijken zich als gesensibiliseerde roode bloedlichaampjes te gedragen. Door ultramicroscopisch onderzoek heeft SALÉN dit proces kunnen vervolgen. Ook de aard der erythrocyten speelt volgens hem echter een groote rol. SALÉN heeft nl. gevonden dat oude erythrocyten eerder worden gesensibiliseerd dan jonge, d.w.z. bij hoogere temperatuur en door een kleinere hoeveelheid sensibilisator. Zeer belangrijk is het inzicht dat SALÉN hieruit put aangaande de aetiologie der koude-haemoglobinurie. Daar het de oudere cellen zijn die het eerst aan haemolyse ten prooi vallen, acht SALÉN het niet uitgesloten dat men bij de koude-haemoglobinurie te doen heeft met een storing in het physiologisch afbraakproces der erythrocyten. De vraag of dit een pathologische wijze van bloedafbraak, door normaliter niet aanwezige haemolysinen zou zijn, laat hij echter open.

ZIEKTEBEELD DER KOUDE-HAEMOGLOBINURIE.

Wij zien dat in den loop der jaren een ziektebeeld is bekend geworden dat, kort samengevat, gekenmerkt is door aanvalsgewijze uitscheiding van opgelost haemoglobine in de urine. Deze aanvallen gaan gepaard met algemeene verschijnselen, zooals gevoel van ziek-zijn, pijn in de lendenen en ledematen, misselijkheid, gapen, waarbij zich koude rillingen en temperatuursverhooging voegen. Zij zijn het gevolg van geheele of gedeeltelijke afkoeling. De milt wordt vaak vergroot gevonden. Er treedt bij den aanval een lichte icterus op. Dit ziektebeeld heeft den naam van *paroxysmale haemoglobinurie*, *haemoglobinurie a frigore* of *koude-haemoglobinurie* gekregen. Er zijn in het bloed van patienten, die lijden aan deze ziekte, complexe autohaemolysinen gevonden, bestaande uit een amboceptor en uit complement. In tegenstelling met de meeste bekende amboceptoren ligt het optimum der binding van deze amboceptoren bij 0° C. In zeer veel gevallen van koude-haemoglobinurie is de reactie van WASSERMANN positief en komt lues in de anamnese voor.

THERAPIE DER KOUDE-HAEMOGLOBINURIE.

Over de therapeutische resultaten, verkregen bij de koude-haemoglobinurie bestaat nog geen eensgezindheid. Het spreekt vanzelf dat tal van methoden zijn toegepast, welke meestal gebaseerd waren op het inzicht der verschillende onderzoekers in de aetiologie der ziekte.

Een volledige opsomming van alle methoden zal ik niet geven. De belangrijkste zijn wel geweest: de *chinine-therapie* (HARLEY) ⁽⁷²⁾ en de *nitriet-therapie* (gebaseerd op het inzicht van CHVOSTEK) ⁽³¹⁾. Wij zagen dat, toen lues als een aetiologisch moment bij de koude-haemoglobinurie werd gevonden, de *anti-luetische therapie* werd toegepast. Ook thans nog zijn de meeste schrijvers van meening, dat een streng doorgevoerde anti-luetische therapie aangewezen is, alhoewel hiervan niet uitsluitend gunstige resultaten worden vermeld. Hetzelfde kan gezegd worden, van de *serum-therapie* [WIDAL en ROSTAINE ⁽²¹⁰⁾, GLÄSSNER en PICK ⁽⁶⁵⁾], de *autosero-therapie* [WIDAL ⁽²⁰³⁾] de behandeling met *cholesterine* [PRINGSHEIM ⁽¹⁶⁰⁾, LINDBOM ⁽¹¹⁷⁾] en met *papaverine* (RISAK) ⁽¹⁶³⁾.

In de laatste jaren werden ook pogingen met *lever-toediening*

aangewend, waarvan LICHTMANN ⁽¹¹⁵⁾ gunstige resultaten meldt.

SALÉN ⁽¹⁷⁷⁾ heeft in eenige gevallen een behandeling toegepast, waarbij de patient aan een reeks koude voetbaden wordt blootgesteld. SALÉN begint zijn zgn. voetbadkuur met een zeer geringe afkoeling, om deze dan langzamerhand wat op te voeren, onder contrôle van de urobiline uitscheiding. Hij draagt er zorg voor dat hierbij geen aanval van haemoglobinurie ontstaat. SALÉN tracht langs dezen weg zijn patienten als het ware te desensibiliseeren tegen koude en meent van deze behandeling, gecombineerd met eene streng doorgevoerde antiluetische therapie, succes te hebben gezien.

HOOFDSTUK II

ANDERE VORMEN VAN HAEMOGLOBINURIE.

Behalve de genoemde koude-haemoglobinurie zijn er nog tal van toestanden bekend, welke tot haemoglobinurie aanleiding kunnen geven. Hierin ligt misschien ook een verklaring voor de soms zeer tegenstrijdige resultaten, welke in den loop der jaren bij het onderzoek van de koude-haemoglobinurie zijn verkregen, alhoewel men vooral in de latere jaren meer aandacht is gaan schenken aan de nauwkeurige onderscheiding der verschillende vormen.

A. PSEUDO-HAEMOGLOBINURIE.

In de eerste plaats heeft men onderscheid leeren maken tusschen de *ware haemoglobinurie*, waarbij haemoglobine in opgelosten vorm in de urine komt (zooals we dat bij de koude-haemoglobinurie hebben leeren kennen) en de *zg. pseudo-haemoglobinurie*, waarbij de uit-treding der bloedkleurstof uit de erythrocyten pas in de urine plaats heeft. Wij zagen reeds hoe, vooral in vroègere jaren, verschillende onderzoekers meenden, dat dit laatste bij de koude-haemoglobinurie ook het geval was. Hoewel men tegenwoordig mag aannemen, dat dit niet juist is, zijn er toch toestanden van pseudo-haemoglobinurie bekend geworden bijv. door ACHARD en SAINT-GIRONS (3). Deze schrijvers zagen in het verloop van typhus een dergelijke pseudo-haemoglobinurie ontstaan. Ook bij andere infectieziekten zijn haemoglobinurieën beschreven, welke zooals SALÉN (174) opmerkt, wellicht tendeel ook op pseudo-haemoglobinurie berusten. Dat bij pseudo-haemoglobinurie de haemolyse in de urine kan ontstaan, doordat deze hypotonisch is, toonden CAMUS en PAGNIEZ (24; 26) op zeer overtuigende wijze aan bij een geval van chronische nephritis met haematurie. Deze haematurie konden zij nl. door toediening van water per os in een haemoglobinurie doen veranderen en omgekeerd deze laatste door toediening van keukenzout per os weer in een haematurie doen overgaan. Ook aan de werking van in de urine aanwezige stoffen bijv. oxaalzuur [VAN

ROSSUM ⁽¹⁷⁰⁾], lysinen [CAMUS en PAGNIEZ ^(23; 24; 26)] is voor de verklaring van de pseudo-haemoglobinurie gedacht.

B. WARE HAEMOGLOBINURIEËN.

Wat betreft de „ware” haemoglobinurieën, ook hiervan zijn, behalve de koude-haemoglobinurie, nog andere vormen bekend geworden. Men zou deze het best kunnen indeelen, zooals bijv. door SALÉN ^(174; 176) gedaan is, in *symptomatische haemoglobinurieën* en *essentieele haemoglobinurieën*.

De *symptomatische haemoglobinurieën* zijn diegene, waarbij zich slechts eenmaal, in aansluiting aan een reeds bestaande afwijking, als bijverschijnsel een soms langer durende haemoglobinurie voordoet. Het eerst is deze haemoglobinurie bekend geworden als gevolg van de vroeger toegepaste schapenbloed transfusies [LICHTHEIM ⁽¹¹⁴⁾, PONFICK ^(153; 154; 155)]. Wij zagen, dat de analogie van deze haemoglobinurie met de koude-haemoglobinurie verschillende schrijvers er toe heeft gebracht, ook bij deze laatste ziekte een, aan de haemoglobinurie voorafgaande, haemoglobinaemie aan te nemen.

De symptomatische haemoglobinurie komt verder voor bij allerlei vergiftigingen, bij verbrandingen, bevriezingen en infectieziekten (bijv. roodvonk, erysipelas, typhus, tetanus, pneumonie).

Ook in de *zwartwaterkoorts* kennen wij een vorm van haemoglobinurie, welke men onder deze groep van symptomatische haemoglobinurieën zou kunnen rangschikken en die een korte bespreking op deze plaats verdient, niet zoo zeer om een overzicht over onze kennis van deze merkwaardige ziekte te geven (hiervoor zij naar de desbetreffende literatuur verwezen), dan wel om eenige punten naar voren te brengen, die in verband met de koude-haemoglobinurie van belang schijnen.

Het ziektebeeld van de *zwartwaterkoorts* is reeds geruimen tijd bekend. De eerste waarnemingen dateeren van omstreeks 1800. Niettegenstaande uitvoerig onderzoek is men het heden over de aetiologie echter geenszins eens. Evenals bij het onderzoek van de koude-haemoglobinurie reeds vroeg verband werd gezocht tusschen deze ziekte en lues, zoo meende men bij de *zwartwaterkoorts* een verband met malaria te moeten aannemen. Evenals bij de koude-haemoglobinurie de verschijnselen zich vertoonden, als de lijder aan

afkoeling werd blootgesteld, zag men bij een lijder aan malaria de haemoglobinurie ontstaan na de toediening van chinine.

Toch moesten er, evenals bij de koude-haemoglobinurie nog andere factoren dan de malaria en de chinine gezocht worden, daar zich natuurlijk terstond de vraag voordoet: waarom krijgt niet iedere malaria-patient die chinine gebruikt zwartwaterkoorts? Reeds het feit dat zwartwaterkoorts lang niet in alle malariastreken voorkomt en juist zoo vaak wordt gezien bij repatricerende malaria-patienten, was een waarschuwing voor te simplistische voorstellingen wat betreft de aetiologie. Men meende een ongeregeld gebruik van chinine de schuld te kunnen geven, waartegen echter pleitte, dat er ook zwartwaterkoorts werd waargenomen zonder voorafgaand chinine-gebruik, [PLEHN ⁽¹⁵²⁾, SCHEUBE ⁽¹⁸⁵⁾], of door het gebruik van andere medicamenten zooals antipyrine, phenacetine, methyleenblauw e.a.

In 1904 gaf HIJMANS VAN DEN BERGH ⁽⁸³⁾ op grond van eigen onderzoekingen als zijne meening te kennen, dat bij het tot stand komen van een aanval van zwartwaterkoorts leverbeschadiging een belangrijke rol zou spelen. De beteekenis, die de infectie met malaria en de chininetoediening heeft, verliest hij niet uit het oog. Hij kant zich zelfs tegen die onderzoekers, welke de zwartwaterkoorts als een geheel op zich zelf staande ziekte willen beschouwen. [PATRICK-MANSON ⁽¹⁴⁸⁾, YERSIN ⁽²¹³⁾]. De opvattingen van SCHÜFFNER ⁽¹⁸⁷⁾ en BLANCHARD en LEFROU ^(13; 14), dat spirochaeten de oorzaak zouden zijn, hebben later geen bevestiging kunnen vinden. Men neemt thans wel algemeen aan, dat de malaria-parasieten bij het ontstaan van de zwartwaterkoorts een rol spelen, niettegenstaande het feit, dat zij soms slechts met moeite in het circuleerende bloed kunnen worden aangetoond. Bij BRAHMACHARI en SEN ^(18; 19) vinden wij echter eenige gevallen van zwartwaterkoorts bij kala-azar beschreven. Dit is van theoretisch belang, vooral in verband met de genoemde zienswijze van HIJMANS VAN DEN BERGH, daar wij hier patienten met een leverlijden hebben, welke door toediening van chinine haemoglobinurie krijgen. Wij zien dus, dat er verschillende hypothesen over de zwartwaterkoorts bestaan, waaruit echter nog geen helder inzicht over het wezen dezer ziekte is verkregen. Een uitvoeriger bespreking lijkt mij hiervan in dit verband niet op zijn plaats, wel lijkt het mij van belang eenige onderzoekingen te vermelden aangaande de plaats waar de haemolyse optreedt, meer in

het bijzonder aangaande de vraag, of er zich in het bloed zèlf nog factoren bevinden (afwijkingen der erythrocyten, haemolysinen), welke een rol bij het ontstaan der haemoglobinurie spelen. Dit lijkt mij temeer gemotiveerd, daar wij reeds zagen, dat dergelijke vraagstukken ook bij de koude-haemoglobinurie aan de orde zijn.

De meeste schrijvers zijn het er wel over eens, dat bij den aanval van zwartwaterkoorts haemoglobine in het serum gevonden kan worden [PLEHN ⁽¹⁵¹⁾, HIJMANS VAN DEN BERGH ⁽⁸³⁾, BERTHIER ⁽⁶⁾], alhoewel soms in zeer geringe hoeveelheden (HIJMANS VAN DEN BERGH, BERTHIER). De aanwezigheid van haemoglobine in het serum bewijst echter niet, dat de haemolyse in de bloedbaan plaats heeft. HIJMANS VAN DEN BERGH trekt dit zelfs zeer in twijfel, vooral naar aanleiding van het feit dat aan de erythrocyten door hem geen teekenen van afbraak konden worden gevonden [evenmin als door PLEHN ⁽¹⁵¹⁾], terwijl dit bij experimenteele haemoglobinurie zoo duidelijk voor den dag komt. Geheel eensluidend zijn de resultaten in dit opzicht echter niet [VAN DER SCHEER ⁽¹⁸³⁾]. Zooals wij zagen werd door HIJMANS VAN DEN BERGH de lever beschouwd als het orgaan waar de haemolyse plaats heeft. Dit vindt steun in de bovengenoemde waarnemingen van BRAHMACHARI en SEN ^(18; 19), welke haemoglobinurie door toediening van chinine bij twee gevallen van kala-azar zagen. Terwijl verder slechts zeer weinig haemoglobine in het bloed kon worden gevonden, bleek het leverbloed ten opzichte daarvan meer haemoglobine te bevatten. Ook PLEHN ⁽¹⁵¹⁾ (1903) meent aan de lever een belangrijke rol te moeten toekennen, later ⁽¹⁵²⁾ meent hij de nier voor de haemolyse aansprakelijk te moeten stellen, op grond van pathologisch-anatomisch onderzoek. Dit werd door SALVIOLI ⁽¹⁷⁹⁾ echter niet bevestigd. Naar aanleiding van de analogie, die er bestaat tusschen zwartwaterkoorts en bepaalde vormen van verworven haemolytische icterus, acht LICHTENSTEIN het waarschijnlijk, dat evenals de eerstgenoemde ziekte, de milt ook bij de zwartwaterkoorts een rol speelt. Zooals wij zien, is dus ook omtrent de plaats, waar de haemolyse geschiedt, niets met zekerheid bekend.

Ook over de osmotische resistentie der erythrocyten bij de zwartwaterkoorts loopen de meeningen der verschillende onderzoekers zeer uiteen. De meesten vonden in dit opzicht geen veranderingen aan de erythrocyten, wel echter KONDO ⁽⁹⁶⁾ en LICHTENSTEIN, die meenden een verlaagde resistentie te kunnen aantoonen. LICHTEN-

STEIN (¹¹³) gebruikt deze bevindingen tevens als steun voor zijn opvatting omtrent de verwantschap van de zwartwaterkoorts met de verkregen haemolytische icterus.

Tenslotte de vraag in hoever spelen haemolysinen een rol bij het ontstaan van de zwartwaterkoorts? Het lag voor de hand te veronderstellen, dat door de voortdurende sterke bloedaafbraak bij malaria-patienten autohaemolysinen zouden ontstaan. Men zou dan verder kunnen aannemen, dat deze autolysinen gewoonlijk door anti-haemolysinen geneutraliseerd worden, terwijl bij de zwartwaterkoorts dit evenwicht door toediening van chinine zou worden verstoord.

Een onderzoek, op deze gedachte gebaseerd, door NOCHT en KIKUTH (¹⁴⁴) in 1929 verricht, lijkt ons, al verklaren de resultaten het wezen der zwartwaterkoorts, m.i. niet voldoende, toch theoretisch van genoeg belang om er iets uitvoeriger op in te gaan. In tegenstelling met sommige andere onderzoekers is het NOCHT en KIKUTH nooit gelukt haemolysinen in het serum van lijders aan zwartwaterkoorts direct aan te toonen, wel langs indirecten weg. Zij spotten bij dieren een zoo geringe hoeveelheid amboceptor in de bloedbaan, dat nog geen haemoglobinurie optrad. Spotten zij dezelfde hoeveelheid amboceptor in, onder gelijktijdig toedienen van chinine, dan trad wel haemoglobinurie op. NOCHT en KIKUTH gingen deze werking van chinine ook quantitatief na. Hiertoe bepaalden zij bij proefdieren het haemoglobinegehalte na inspuiting van een bepaalde hoeveelheid amboceptor. Dieren, die dezelfde hoeveelheid amboceptor, maar bovendien nog chinine hadden gekregen, hadden steeds $\pm 30\%$ haemoglobine minder dan de eerstgenoemde dieren.

Naar aanleiding van deze proeven achten NOCHT en KIKUTH het zeer goed mogelijk, dat ook bij zwartwaterkoorts haemolysinen een rol spelen; eerst bij aanwezigheid van chinine zouden zij echter tot haemoglobinurie leiden.

Bij de experimenten van NOCHT en KIKUTH bleken cinchicine, antipyrine en plasmochine niet dezelfde werking op de amboceptor te hebben als chinine. Genoemde onderzoekers meenen, dat behalve de onbekende haemolytische stof en de chinine, het cholesterinegehalte van het bloed een belangrijke rol bij de zwartwaterkoorts speelt. Uit hun onderzoekingen was nl. gebleken, dat konijnen met

hoog cholesterine-gehalte van het bloed, meer weerstand hadden tegenover ingespoten amboceptoren, dan andere. Op grond van voorgaande onderzoekingen achten NOCHT en KIKUTH twee factoren zeer belangrijk: in de eerste plaats de haemolysinen, waarvoor in het bijzonder onder invloed van chinine verkeerende erythrocyten gevoelig zouden zijn, in de tweede plaats een laag cholesterine-gehalte van het serum.

Tenslotte wil ik niet nalaten met een enkel woord de onderzoekingen van RUSZNYAK (171; 172) te noemen. Deze schrijver heeft nl. gevonden, dat de erythrocyten onder inwerking van chinine minder weerstand tegenover koolzuur hebben, zoodat hij aan het koolzuur, evenals wij dit bij de koude-haemoglobinurie hebben gezien, een rol bij het ontstaan van de zwartwaterkoorts toekent.

De essentiële haemoglobinurie hebben wij reeds in den vorm van de koude-haemoglobinurie leeren kennen. Alhoewel deze ziekte meestal op den bodem van lues ontstaat, mag men haar toch tot de essentiële haemoglobinurie rekenen, daar klinisch de haemoglobinurie geheel op den voorgrond staat. Een andere vorm van essentiële haemoglobinurie, welke zoowel bij klinisch als ook bij serologisch onderzoek geheel andere eigenschappen zou blijken te bezitten dan de koude-haemoglobinurie, is reeds in 1881 door FLEISCHER (54) beschreven. Men heeft haar den naam *marsch-haemoglobinurie* gegeven. Na FLEISCHER zijn van verschillende zijden dergelijke gevallen beschreven (o.a. door KAST (92), FEIGL (53), FÖRSTER (56), SCHELLONG (184), JEHL (90), PORGES en STRISOWER (157; 158), LICHTWITZ (116), HIJMANS VAN DEN BERGH (88) e.a.), alhoewel het aantal verre achterblijft bij dat der koude-haemoglobinurie.

Het meest in het oog loopend verschil t.o.v. de laatst genoemde ziekte is wel het feit, dat bij de marsch-haemoglobinurie, zooals de naam reeds aangeeft, de aanval ontstaat na een langen marsch, terwijl door afkoeling geen haemoglobinurie is op te wekken. Ook de algemeene verschijnselen, die bij de koude-haemoglobinurie gedurende den aanval zelden ontbreken (rillingen, koortssymptomen e.a.), worden bij de marsch-haemoglobinurie steeds gemist. De meeste gevallen van marsch-haemoglobinurie zijn beschreven bij jonge mannen. Evenals bij de koude-haemoglobinurie loopten ook hier de meeningen over het ontstaan van de haemoglobinurie zeer

uiteen. Wel is men het er over eens, dat bij deze patienten de haemolysinen van DONATH en LANDSTEINER steeds tevergeefs worden gezocht. Ook de venerische infectie en de positieve reactie van WASERMANN, die bij de koude-haemoglobinurie zoo vaak zijn gevonden, ontbreken hier. FLEISCHER en een paar jaar later KAST⁽⁹²⁾ nemen een verminderde resistentie der erythrocyten aan. Over het algemeen kunnen wij voor deze waarneming in de literatuur weinig steun vinden [o.a. PORGES en STRISOWER, SCHELLONG⁽¹⁸⁴⁾], alhoewel juist in de laatste jaren o.a. door SCHOEPS⁽¹⁸⁶⁾ de aandacht op een verminderde osmotische resistentie is gevestigd, welke zelfs na genezing weer normaal zou worden. PORGES en STRISOWER^(157; 158) en JEHLE⁽⁹⁰⁾ nemen aan, dat de lordose in de meeste gevallen directe aanleiding tot een aanval is. Deze schrijvers slaagden er nl. in, ook in rust een aanval op te wekken, door dergelijke patienten in lordotische houding te laten liggen, terwijl een marsch, waarbij de lordose werd opgeheven, geen aanval van haemoglobinurie veroorzaakte. Alhoewel met zekerheid hieromtrent niets bekend is, is het waarschijnlijk dat lokale afwijkingen, welke bijv. in de nieren zouden kunnen zijn gelegen, een rol spelen. Dit krijgt vooral beteekenis in verband met de koude-haemoglobinurie. Zooals wij zagen, werd bij deze ziekte het vinden van haemoglobinaemie tijdens den aanval als argument gebruikt tegen de hypothese, dat de haemolyse plaatselijk, bijv. in de nier, ontstaat. Bij de marsch-haemoglobinurie daarentegen wordt een zich tot de nieren beperkende haemolyse aangenomen, ofschoon blijkens de literatuur ook daar tijdens den aanval haemoglobinaemie wordt gevonden. Ik zou hieruit de conclusie willen trekken, dat het aantoonen van haemoglobinaemie nooit een aanwijzing kan zijn omtrent de plaats waar de haemolyse ontstaat.

In hoeverre de marsch-haemoglobinurie werkelijk een zelfstandige ziekte zal blijken te zijn, dan wel een verschijnsel dat ook bij normalen onder bepaalde omstandigheden waargenomen wordt (FEIGL) en eenige overeenkomst vertoont met de orthostatische albuminurie, durf ik niet te beslissen.

Zeer in het kort moge hier nog een ziekte genoemd worden, welke door sommigen als een vorm van marsch-haemoglobinurie wordt beschouwd, door anderen echter als een afzonderlijke ziekte onder

den naam *paralytische haemoglobinurie (myositis haemoglobinurica)* wordt beschreven. Deze ziekte uit zich in aanvallen van haemoglobinurie, die gepaard gaan met uitgebreide spierdegeneraties. Zij zou eenig verband vertoonen met de bij paarden bekende Paasziekte en werd door MEYER-BETZ ⁽¹³²⁾ (1910—11) het eerst beschreven. De reactie van DONATH en LANDSTEINER was in zijn geval negatief. Evenmin als bij het later door PAUL ⁽¹⁴⁹⁾ beschreven geval, werd haemoglobinaemie aangetoond. Het derde geval is door GÜNTHER ⁽⁷⁰⁾ beschreven onder den naam *myositis haemoglobinurica*. Dat bij deze ziekte geen haemoglobinaemie werd gevonden, zou verklaard kunnen worden door de waarneming van CAMUS en PAGNIEZ ⁽²⁵⁾, die experimenteel aantoonde, dat spierhaemoglobine zeer snel wordt uitgescheiden. Of in deze gevallen het haemoglobine, dat werd uitgescheiden, inderdaad spierhaemoglobine was, wordt door ACHARD en FEUILLIÉ ^(1, 2), naar aanleiding van hunne proeven, betwijfeld.

ATYPISCHE GEVALLEN VAN HAEMOGLOBINURIE.

Het is thans niet meer mogelijk, zich bij een bespreking van de haemoglobinurieën te beperken tot de bovengenoemde vormen. Vooral in de laatste jaren is men meer aandacht gaan schenken aan z.g. atypische gevallen van haemoglobinurie, die men in de literatuur echter reeds geruimen tijd beschreven kan vinden. [STRÜBING ⁽¹⁹⁵⁾ (1881), BALLET ⁽⁴⁾ (1888)]. Waarschijnlijk vindt dit zijn oorzaak hierin, dat deze gevallen meestal naar aanleiding van het beeld, dat zij vertoonden, als haemolytische icterus werden beschouwd.

Het is vooral ROSENTHAL ⁽¹⁶⁸⁾ geweest, die deze gevallen in 1931 bijeen heeft gebracht onder den naam van „*een nieuwe vorm van paroxysmale haemoglobinurie*”. Hiermede geeft hij te kennen, dat hij deze gevallen als haemoglobinurie wil opvatten. Zooals wij zeiden, werden de meeste dezer gevallen tot dien tijd als haemolytische icterus beschouwd, omdat de haemoglobinurie zich pas vertoont, nadat er reeds geruimen tijd een lichte icterus en een toenemende anaemie hebben bestaan. Deze verschijnselen gaan vaak gepaard met een vergroting van de milt. Dikwijls vertoont de icterus een sterke wisseling in intensiteit, zoodat er zelfs aanvallen van sterke icterus worden beschreven, welke dan vergezeld kunnen zijn van

algemeene verschijnselen, zooals rillerigheid, gapen, gevoel van ziek-zijn en pijn in de ledematen. Bij een van deze aanvallen ziet men dan een haemoglobinurie optreden, welke, wat betreft duur en intensiteit, zeer wisselend kan zijn. In sommige gevallen kan de haemoglobinurie het eerste symptoom van de ziekte zijn, waaraan zich een langer of korter durende icterus kan aansluiten. Behalve in eenige gevallen welke m.i. niet tot deze groep behooren, doch een combinatie zijn van een congenitale haemolytische icterus en een koude-haemoglobinurie [BETTMANN (7), GILBERT en CHABROL (62)], worden de typische verschijnselen van de koude-haemoglobinurie gemist. Zoo ziet men in geen dezer gevallen aanvallen optreden na afkoeling, ook de reactie van DONATH en LANDSTEINER wordt steeds negatief gevonden. Lues ontbreekt in de anamnese, de reactie van WASSERMANN is negatief. Men zou deze gevallen als haemolytische icterus kunnen opvatten, zooals dit in de literatuur zeer vaak is gedaan. Zoekt men echter naar overtuigende bewijzen voor deze opvatting, dan blijken hiervoor slechts weinig argumenten aanwezig.

In de eerste plaats is een bilirubinaemie zonder gelijktijdige bilirubinurie niet slechts aan de haemolytische icterus eigen, doch komt, zooals wij weten, bij verscheiden toestanden, waarbij een verhoogde bloedafbraak bestaat (pernicieuse anaemie, koude-haemoglobinurie), voor. Wij moeten in de meeste gevallen aannemen dat, indien wij met een haemolytische icterus te maken hebben, dit dan de verkregen vorm zou zijn. Een familiäre haemolytische icterus wordt nl. onwaarschijnlijk, omdat er in de betreffende familie geen icterus wordt gevonden, volgens de meeste beschrijvingen. (Daar waarschijnlijk niet alle onderzoekers het bilirubinegehalte van het bloed der familieleden nagegaan zullen hebben, doch zich tot de anamnese bepaalden, moeten de mededeelingen hieromtrent met eenige kritiek worden beschouwd). Bovendien is in de meeste gevallen de icterus pas op lateren leeftijd opgemerkt [CHAUFFARD en TROISIER (27), SCHEEL, HIJMANS VAN DEN BERGH (87), GIFFIN (61)]. Soms ontstaat deze icterus eerst nadat een of meer aanvallen van haemoglobinurie zijn voorafgegaan. [ROSENTHAL (168), SALÉN (1,6), ENNEKING (51; 52), BARTA en GÖRÖG (5)]. Als wij, aangenomen dat wij met de verkregen haemolytische icterus te maken hebben, de symptomen hiervan nagaan, zien wij reeds terstond dat het symptoom der verlaagde resistentie t.o.v. keukenzout bij de groote

meerderheid der gevallen van atypische haemoglobinurie, ontbreekt. De meeste schrijvers vinden de osmotische resistentie nl. normaal [ROSENTHAL (168), SALÉN (176), ENNEKING (51; 52), HIJMANS VAN DEN BERGH (87), MARCHIAFAVA (126; 127; 128), BARTA en GÖRÖG (5), IGLAUER en FRENREISZ (89)]. Slechts enkele o.a. GIFFIN (61), CHAUFARD en TROISIER (27) vinden een zeer geringe verlaging. Echter ook bij de haemolytische icterus is het symptoom der resistentie gebleken, geenszins steeds aanwezig te zijn (LOMMEL (118), BITTORF (12) e.a.), zoodat dit symptoom ons bij de oplossing van dit vraagstuk in den steek laat. Toch moet worden opgemerkt, dat het wel zeer toevallig zou zijn, dat juist in geen der met haemoglobinurie gepaard gaande gevallen van haemolytische icterus, een resistentie-vermindering van dien aard, zooals wij dit bij de congenitale haemolytische icterus gewend zijn, wordt aangetroffen. Wat betreft de reticulocytose, ook hieraan kunnen wij voor onze vraag weinig argumenten ontleenen. In de eerste plaats kennen wij de reticulocytose bij tal van toestanden, waarbij verhoogde aanmaak van erythrocyten plaats heeft, hetgeen bij haemoglobinurie zeer zeker ook het geval is. In de tweede plaats wordt ook bij de atypische gevallen van haemoglobinurie niet steeds reticulocytose gevonden (BARTA en GÖRÖG). Microcytose wordt bij deze ziekte nooit beschreven.

Wat betreft de miltvergrooting, welke bij haemolytische icterus als regel wordt aangetroffen, zien wij, dat deze bij de atypische vormen van haemoglobinurie lang niet altijd wordt gevonden, althans niet in die mate als bij de haemolytische icterus gewoonlijk wordt gezien (HIJMANS VAN DEN BERGH, ENNEKING, MARCHIAFAVA, IGLAUER en FRENREISZ). Buitendien is ook bij de andere vormen van haemoglobinurie, bijv. bij de koude-haemoglobinurie, een miltzwellung in den vorm van de „spodogene” miltzwellung bekend.

Ook door pathologisch-anatomisch onderzoek, hetgeen bij gevallen als onder dit hoofdstuk bedoeld, reeds verschillende malen heeft plaats gehad, zijn feiten bekend geworden, welke in het geheel niet overeenkomen met de bevindingen bij de haemolytische icterus.

In sommige gevallen van atypische haemoglobinurie zijn milt-extirpaties geschied, daar de onderzoekers meenden met een haemolytische icterus te maken te hebben. De resultaten van deze operatie zijn echter steeds negatief geweest, uitgezonderd in eenige mededeelingen, waarin van tijdelijke verbeteringen gewag wordt gemaakt.

Ook dit is m.i. een argument ervoor, dat de atypische gevallen van haemoglobinurie niet zijn gelijk te stellen met de verworven haemolytische icterus.

Wij zien dus uit het bovenstaande, dat alle symptomen van de haemolytische icterus bij dezen atypischen vorm van haemoglobinurie kunnen ontbreken of langs anderen weg kunnen ontstaan. Toch kunnen wij niet ontkennen, dat de meesten der, als nieuwe of atypische vorm van haemoglobinurie beschreven gevallen, in vele opzichten met de verkregen haemolytische icterus overeenkomen.

Nu doet zich de vraag voor, in hoeverre zich de gevallen van atypische haemoglobinurie onderscheiden van de tot nu toe bekende vormen van haemoglobinurie. Met de symptomatische haemoglobinurieën bestaat geen overeenkomst; van vergiftigingen of infecties zijn in de literatuur geen mededeelingen gedaan. Met de marschaemoglobinurie of paralytische haemoglobinurie heeft de nieuwe vorm ook niets gemeen. Nooit zijn aanvallen na een marsch beschreven, evenmin is er iets over spierafwijkingen bekend. Wij mogen ons er toe beperken den nieuwen vorm van haemoglobinurie te vergelijken met de koude-haemoglobinurie. Zooals wij reeds zeiden, wordt in geen der gepubliceerde gevallen van atypische haemoglobinurie over eenig verband tusschen koude en het ontstaan der aanvallen gesproken. Ook de proeven dienaangaande, waarbij door afkoeling getracht wordt een aanval op te wekken, mislukten allen (SALÉN ⁽¹⁷⁶⁾, HIJMANS VAN DEN BERGH ⁽⁸⁷⁾, ENNEKING ^(51; 52), ROSENTHAL e.a.). Ook wordt nooit eenig teeken van lues gevonden. De reactie van WASSERMANN is in alle tot nu toe bekende gevallen negatief. De onderzoekingen, betreffende de aanwezigheid van haemolysinen in het bloed van lijders aan deze ziekte leerden gelijkluidend, dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER steeds negatief uitvalt. Minder eensgezind zijn de schrijvers over de vraag, of er autolysinen in het bloed aanwezig zijn. Inderdaad zijn deze herhaalde malen aangetoond, zoo in het geval van CHAUFFARD en VINCENT ⁽²⁸⁾ en later door LUDKE ⁽¹¹⁹⁾. Ook ENNEKING vindt bij zijn patient een enkelen keer, dat het serum een oplossend vermogen heeft t.o.v. eigen, maar ook t.o.v. normale erythrocyten bij 37° C (zonder voorafgaande afkoeling). Deze proeven heeft hij een paar

maal kunnen reproduceeren, vaak echter vond hij het haemolyseerend vermogen afwezig.

HIJMANS VAN DEN BERGH meent een verandering der erythrocyten bij zijn geval te hebben aangetoond. De erythrocyten bij zijn patient blijken nl. bij 37° C door normaal serum te worden gehaemolyseerd, zelfs bij kamertemperatuur. Speciaal gevoelig zijn deze erythrocyten voor koolzuur. Ook het eigen serum, dat zonder koolzuur onder geen omstandigheid haemolyse geeft, doet het wel bij aanwezigheid van koolzuur bij 37° C. Later neemt ook IGLAUER en FRENREISZ ⁽⁸⁹⁾, weliswaar op den grondslag van minder overtuigende argumenten dan HIJMANS VAN DEN BERGH, aan, dat de erythrocyten de dragers van de afwijkingen bij deze ziekte zijn. Ook bij SALÉN vinden wij een opmerking in deze richting; hij zag immers eenmaal, vlak voor een aanval van haemoglobinurie zonder voorafgaande afkoeling bij kamertemperatuur en bij 37° C, haemolyse ontstaan alleen in die buizen, waarin zich erythrocyten van den patient bevonden.

Den laatsten tijd zijn er pogingen gedaan om uit deze groep van atypische haemoglobinurieën eenige gevallen in een nieuwe groep samen te brengen. ENNEKING had nl. opgemerkt, dat bij een dergelijk door hem waargenomen geval, de haemoglobinurie zich vooral des nachts voordeed. Deze waarneming is door verschillende schrijvers bij soortgelijke gevallen bevestigd [GIFFIN ⁽⁶¹⁾, SCHEEL ⁽¹⁸²⁾, SALÉN ⁽¹⁷⁶⁾, SAXL ⁽¹⁸⁰⁾, ROSENTHAL ⁽¹⁶⁸⁾, HITZENBERGER ⁽⁸⁰⁾, IGLAUER en FRENREISZ ⁽⁸⁹⁾], terwijl reeds in 1881 door STRÜBING ⁽¹⁹⁵⁾ op dit nachtelijke optreden van haemoglobinurie werd gewezen. Voor deze gevallen stelt ENNEKING ^(51; 52) den naam *haemoglobinuria paroxysmalis nocturna* voor. Blijkens zijn publicatie, waarin hij verband zoekt met de gevallen van SCHEEL en SALÉN, echter niet met de gevallen van haemolytische icterus en haemoglobinurie, welke in de oudere literatuur zijn beschreven, vat hij deze nacht-haemoglobinurie als een geheel nieuw ziektebeeld op. Men moet ROSENTHAL echter gelijk geven, als hij het geval van ENNEKING en de later beschreven atypische gevallen, welke met nachtelijke haemoglobinurie gepaard gaan, onder één groep samenvat, temeer daar wellicht bij verschillende oudere publicaties onvoldoende aandacht is gewijd aan de vraag of de haemoglobinurie overdag, dan wel des nachts het sterkst is.

Ook het feit dat bij het geval van ENNEKING de haemoglobinurie optreedt, voordat er iets van icterus bekend was, kan niet als argument aanvaard worden om de nacht-haemoglobinurie geheel afzonderlijk van de oudere gevallen te beschouwen. In het geval van SCHEEL bijvoorbeeld, wordt immers nachtelijke haemoglobinurie beschreven, waaraan eenige icterus aanvallen zijn voorafgegaan.

Wij hebben dus onder den naam atypische haemoglobinurie [„haemolytische anaemie met haemoglobinurie” (ROSENTHAL) ⁽¹⁶⁸⁾] een aantal gevallen van haemoglobinurie samengevat, welke in verschillende zeer belangrijke punten van de koude-haemoglobinurie afwijken, echter verwantschap vertoonen met de verkregen haemolytische icterus. Bij een zeker percentage van deze gevallen, welk percentage wellicht zal stijgen, indien er meer aandacht aan wordt besteed, blijkt de haemoglobine vooral des nachts te worden uitgescheiden, welke uitscheiding tegen den morgen minder wordt, om overdag plaats te maken voor een urobilinurie.

Wellicht zal dit nachtelijk optreden van de haemoglobinurie van groot belang blijken te zijn bij het opsporen der tot nu toe geheel onbekende aetiologie dezer gevallen. Toch is het nachtelijk optreden m.i. geen reden om de nacht-haemoglobinurie als een afzonderlijke groep ten opzichte van de andere atypische gevallen te beschouwen.

Gezien onze geringe kennis omtrent de physiologie en de pathologie van de bloedaafbraak, valt het niet te verwonderen, dat een exacte scheiding tusschen de haemolytische icterus en deze atypische haemoglobinurie thans nog onmogelijk is. Zoolang er niet meer gegevens aangaande dit interessante vraagstuk bekend zijn, zou ik zoowel de haemolytische icterus als deze atypische vorm van haemoglobinurie als twee, mogelijk slechts quantitatief van elkaar verschillende vormen van pathologische bloedaafbraak willen beschouwen, zoodat op deze wijze ook verband gelegd kan worden tusschen deze groep van afwijkingen en de koude-haemoglobinurie [onderzoekingen van SALÉN ⁽¹⁷⁴⁾].

Ik was in staat een geval van dezen atypischen vorm van haemoglobinurie te observeeren, welk geval de meeste overeenkomst vertoont met de nacht-haemoglobinurie van ENNEKING. De resultaten van het onderzoek bij deze patiente zullen in de volgende hoofdstukken worden uiteengezet.

TWEEDE GEDEELTE (EIGEN ONDERZOEK)

HOOFDSTUK III

KLINISCHE BESCHRIJVING.

GEVAL J (HAEMOLYTISCHE ANAEMIE MET NACHTELIJKE HAEMOGLOBINURIE).

Het geval dat ik in staat was waar te nemen betrof een vrouw, van 25 jaar. Zij maakte er zich bezorgd over, dat zij, voor het eerst 4 jaar geleden, soms eenige dagen urine loosde, waarvan de kleur geelk op die van „Bockbier”. De aanvallen begonnen er mede dat patiente zich hangerig en slap gevoelde. Zij kreeg daarbij wat pijn in de lendenen en meent een enkele maal ook wat temperatuursverhoging gehad te hebben. De urine, die zij den morgen na de bovenbeschreven verschijnselen loosde, vertoonde dan de bovengenoemde kleur. In den loop van den dag werd de kleur van de urine lichter en den volgenden morgen was zij weer zooals gewoon. Meestal was de aanval hiermede voorbij, de urine nam langzamerhand haar normale kleur weer aan, bleef echter eenigen tijd wat troebel. Tijdens zoo'n aanval bemerkte patiente dat haar huid een weinig geel werd, evenals het wit van haar oogen.

Deze aanvallen hebben zich op soortgelijke wijze achtereenvolgens voorgedaan in December 1931, Maart 1932, Juni 1932 en ten slotte in September 1932. Afgezien van deze aanvallen heeft patiente in het geheel geen klachten. Zij voelt zich volmaakt gezond en kan haar werk goed doen. Bij navraag blijken alle functies normaal te zijn. De menstruatie is geregeld, ongeveer om de 4 weken, de duur is 4 dagen. De aanvallen maken den indruk, niet afhankelijk te zijn of in verband te staan met de menstruatie, zij vallen er noch mee samen, noch geregeld ertusschen.

Vroeger heeft patiente geleden aan mazelen, ook heeft zij een parotitis doorgemaakt. Van lues of malaria is niets bekend. Een broer en twee zusters zijn gezond. De moeder van patiente is op 33-jarigen leeftijd overleden aan een leverziekte.

Den 22sten September 1932 werd patiente in het ziekenhuis opgenomen, nadat zij vrij kort geleden een aanval als boven omschreven, had doorgemaakt.

Bij onderzoek maakte zij geen zieken indruk, zij lag actief te bed. Van icterus was niets te bemerken. Er werd geen abnorme zwelling van lymfeklieren gevonden. De temperatuur bij opname bedroeg rectaal 37.6° C. De polsqualiteiten waren normaal. De frequentie bedroeg 84 slagen per minuut. Ook de bloeddruk was normaal (130 systolisch, 80 diastolisch). De ademhaling had een frequentie van 17 per minuut en was overwegend van het costo-abdominale type. Aan het hoofd konden geen afwijkingen worden waargenomen. De schildklier was iets te groot. Aan hart en longen werden geen bijzonderheden opgemerkt. In den buik waren, behalve de rechter nier, geen organen te voelen. De buik bleek bij algemeen onderzoek verder geheel normaal.

De urine bevatte een spoor eiwit, verder geen bijzonderheden. Spectroscopisch konden geen bloedkleurstof of derivaten daarvan worden aangetoond. Het bloedonderzoek leerde dat het haemoglobinegehalte 77 % (gec.) bedroeg, terwijl het aantal roode bloedlichaampjes 4.300.000 was, de kleurindex was dus 0,8. Het totaal aantal leukocyten bedroeg 3.200 per mm^3 . Bij morphologisch bloedonderzoek kwam vast te staan, dat er een matige vermeerdering van het aantal staafkernige leukocyten bestond (15 %), terwijl het aantal lymphocyten ook vrij groot was (48 %). Het percentage der segmentkernige leukocyten was 34, dat der monocyten 3. Het aantal bloedplaatjes bedroeg 150.000 per mm^3 , dat der reticulocyten was 13 ‰ . De bezinkingssnelheid der roode bloedlichaampjes was na 1 uur 12, na 2 uur 35. (WESTERGREN). Het bilirubinegehalte van het bloed was 0,64 E. (directe reactie van H. v. D. B. negatief). Patiente behoorde tot de bloedgroep IV (Moss). De gemiddelde grootte der roode bloedlichaampjes bedroeg volgens de methode van PYPER bepaald 8,1 μ .

Op grond van de tot dusver medegedeelde gegevens meende ik hier de mogelijkheid van een haemoglobinurie sterk te moeten overwegen, niettegenstaande bij opname objectief geen verschijnsel daarvan konden worden waargenomen. Voordat ik het onderzoek tijdens een aanval kon verrichten, heb ik gepoogd, zoo goed mogelijk alle afwijkingen uit te sluiten, die, van haemoglobinurie afgezien,

aanleiding konden geven tot de beschreven periodieke kleurverandering van de urine.

In de eerste plaats werd aan niersteen gedacht, vooral in verband met de pijn in de lendenen. Deze pijn is echter nooit koliek-achtig geweest. Hiermede in overeenstemming was het feit, dat bij Röntgenologisch onderzoek geen steenschaduwen konden worden waargenomen. Ook blaassteen men ik onwaarschijnlijk te mogen noemen, op grond van de anamnese en de negatieve resultaten van het Röntgenonderzoek. Wel zij op deze plaats opgemerkt, dat er links, ter hoogte van den eersten lumbaalwervel een lendenrib blijkt te bestaan. Of er verband bestaat tusschen deze afwijking en de ziekte, waaraan patiente lijdt, is nooit duidelijk geworden. Dat de kleurverandering van de urine door geneesmiddelen zou zijn tot stand gebracht, vindt geenerlei steun in de anamnese. Als verdere mogelijkheid noem ik nog de alkaptonurie. Het aanvalsegewijze optreden van de verschijnselen is echter voor deze ziekte wel zeer ongewoon. Het gelukte mij nooit alkapton in de urine aan te toonen. Door dit alles werd het vermoeden, dat ik met haemoglobinurie te maken had, sterker.

Dat patiente inderdaad aan een haemoglobinurie leed, bleek, toen zij den 28sten December 1932 in de kliniek een aanval kreeg, gelijk zij beschreven had, waarbij spectroscopisch haemoglobine in de urine werd aangetoond, terwijl geen erythrocyten werden gevonden. Ik meende eerst met een koude-haemoglobinurie te maken te hebben. Toch bleken er bij pat.e J eenige verschijnselen aanwezig, die niet daarmede overeen kwamen. Beginnende bij de anamnese valt reeds terstond op, dat patiente zelf geen verband zoekt tusschen haar aanvallen en een voorafgaande afkoeling of een inspanning. De aanvallen deden zich geheel onafhankelijk hiervan voor. Dezelfde omstandigheden die aan de aanvallen vooraf waren gegaan, hadden zich reeds lang voor den eersten aanval en ook herhaaldelijk tusschen de verschillende aanvallen in voorgedaan, zonder dan aanleiding te zijn geweest tot dergelijke verschijnselen. Ook zien wij dat de aanvallen niet speciaal in het koude jaargetijde optreden. Toch heb ik gepoogd een aanval op te wekken, door patiente gedurende een half uur een koud handbad (ongeveer 5° C), een koud voetbad of een combinatie van deze beide te geven. Toen mij dit niet gelukte, heb ik, overwegende, dat een combinatie van koude en inspanning bij de

koude-haemoglobinurie een enkele maal als aanleiding tot een aanval wordt beschreven, haar herhaalde malen op koude winterdagen een flinke wandeling laten maken. Ook hierdoor gelukte het mij niet bij haar een aanval, zooals door patiente wordt beschreven, op te wekken. Dit negatieve resultaat ware voor een koude-haemoglobinurie wel zeer ongewoon, terwijl ook een marsch-haemoglobinurie hierdoor onwaarschijnlijk is geworden. De mededeeling van patiente, dat vooral de in den vroegen morgen geloosde urine de eigenaardige kleurverandering vertoond had, is voor de koude-haemoglobinurie (zowel als voor de marsch-haemoglobinurie) ook zeer ongewoon, daar juist in bed het lichaam het minst aan afkoeling wordt blootgesteld. Zoowel de reactie van WASSERMANN als die van SACHS-GEORGI waren bij herhaald onderzoek negatief gebleken, evenals die van KAHN, MEINICKE en de citochol-reactie.

Ook deze bevinding is van groote beteekenis voor de differentieele diagnose t.o.v. de koude-haemoglobinurie. Wij zagen dat reeds MURRI e.a. wezen op het groote belang van de lues voor het ontstaan van deze ziekte. Inderdaad blijkt in het meerendeel der tot nu toe bekende gevallen, de reactie van WASSERMANN positief geweest te zijn. DONATH en LANDSTEINER⁽³⁹⁾ vonden bij 99 sinds 1916 in de literatuur voorkomende gevallen 24 maal amnestisch en somatisch lues aanwezig, terwijl de reactie van WASSERMANN 81 maal positief werd gevonden. Bij slechts 4 patienten konden geen aanknoopingspunten voor lues worden vastgesteld. Ook andere schrijvers komen tot dergelijke resultaten¹⁾.

Onder de tot nu toe bekende gevallen van atypische haemoglobinurie is er nog geen voorgekomen, waarbij de reactie van WASSERMANN positief was. Ook anamnestiche of klinische gegevens die op lues zouden kunnen wijzen, vinden wij hier nergens.

Wij zien dus dat het klinische beeld in verschillende punten afwijkt van dat der koude-haemoglobinurie. In hoeverre bij serologisch onderzoek het bloed van patiente zich anders gedraagt, dan door DONATH en LANDSTEINER bij de koude-haemoglobinurie was gevonden, zal later worden uiteengezet.

1) Dat de reactie van WASSERMANN niet wordt veroorzaakt door het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER blijkt uit verschillende gegevens, waarvoor ik naar publicaties dienaangaande o.a. van DONATH en LANDSTEINER, SALÉN⁽¹⁷⁵⁾ en HÖGLUND⁽⁸²⁾ verwijs.

GEVAL K (KOUDE-HAEMOGLOBINURIE).

Behalve de patiente met de atypische haemoglobinurie was ik door de welwillende bemiddeling van professor I. SNAPPER in de gelegenheid, gedurende eenige dagen ook een patient met koude-haemoglobinurie te observeren. Volledigheidshalve laat ik eenige klinische gegevens volgen van dezen patient, bij wien serologisch onderzoek, als het ware ter contrôle der bevindingen bij de patiente met atypische haemoglobinurie, werd verricht.

Het betreft een man van 42 jaar, die in September 1929 na het visschen bij „frisch weer” bemerkte, dat zijn urine donker was. Patient gevoelde zich daarbij rillerig begaf zich te bed, waar hij gedurende 20 minuten „snijdende pijnen” door den geheelen buik kreeg. Daarna viel patient in slaap. Toen hij wakker werd, gevoelde hij zich geheel hersteld. Hij had sindsdien geen klachten, totdat hij in 1932 (December) weer een dergelijken aanval kreeg. Vier weken later herhaalden zich dezelfde verschijnselen met dit verschil, dat patient nu heftige pijn in den rechter bovenbuik had. Patient had tijdens den aanval zeer veel last van koude voeten. Voordat patient in het Wilhelmina Gasthuis te Amsterdam werd opgenomen, heeft hij nog 5 dergelijke aanvallen gehad, welke echter niet steeds met pijn gepaard waren gegaan. Behalve de eerste maal is, volgens de anamnese, geen duidelijke afkoeling aan de aanvallen vooraf gegaan.

Bij opname in de kliniek werden geen belangrijke afwijkingen bij algemeen onderzoek vastgesteld, wel bleek de reactie van WASSERMANN, van SACHS-GEORGI en van KAHN positief te zijn. Patient behoort tot bloedgroep II (A).

De tweede maal dat dit werd geprobeerd, gelukte het na afkoeling een aanval op te wekken. Zooals wij zullen zien, werd de reactie van DONATH en LANDSTEINER positief gevonden.

Men meende voldoende argumenten te hebben om bij dezen patient de diagnose te stellen op koude-haemoglobinurie. Aldus was ik in staat gesteld, het serum van een patient met koude-haemoglobinurie te vergelijken met dat van een patiente met een atypische haemoglobinurie. De resultaten hiervan zullen in de volgende hoofdstukken worden medegedeeld.

HOOFDSTUK IV

REACTIE VAN DONATH EN LANDSTEINER.

Onafscheidelijk met het begrip koude-haemoglobinurie zijn wel de namen van DONATH en LANDSTEINER verbonden. Wij zagen reeds in de inleiding welke belangrijke rol het haemolysine, dat door deze onderzoekers in 1904 is gevonden, in de literatuur speelt. Het spreekt van zelf, dat de eerste vraag, die ik bij de patiente met atypische haemoglobinurie wilde oplossen, deze was of ik bij haar in staat zou zijn, de vroeger beschreven proef van DONATH en LANDSTEINER te reproduceeren. Alvorens een verslag van de proeven dienaangaande te geven, laat ik eerst een korte bespreking vooraf gaan over de waarde, die aan deze reactie moet worden toegekend.

In de eerste plaats interesseert het ons of de reactie van DONATH en LANDSTEINER bij alle gevallen van koude-haemoglobinurie wordt aangetroffen. Als men resultaten vindt, afwijkend van die van DONATH en LANDSTEINER, zoo zijn daar verschillende mogelijkheden.

In de eerste plaats kan men vinden, dat het bloed, na voorafgaande afkoeling, op 37° C gebracht, geen haemolyse vertoont. Inderdaad is de reactie van DONATH en LANDSTEINER op deze wijze herhaalde malen negatief gevonden, ook bij typische gevallen van koude-haemoglobinurie (DONATH ⁽³⁵⁾, PEL en BURGERHOUT ⁽¹⁵⁰⁾, GRAFE ⁽⁶⁶⁾, GRAFE en MÜLLER ⁽⁶⁷⁾, MEYER en EMMERICH, MORO en NODA ^(136; 137), KUMAGAI en INOUÉ ^(99; 100) e.a.). Wij zagen reeds in de inleiding, dat door toevoeging van complement (GRAFE en MÜLLER, MEYER en EMMERICH ^(133; 134), MORO en NODA) en door de reactie op de door KUMAGAI en INOUÉ aangegeven wijze uit te voeren (na afkoeling wordt het serum van den patient door normaal versch serum vervangen), het aantal positieve reacties aanzienlijk kan worden verhoogd.

Zooals HIJMANS VAN DEN BERGH ^(84; 85; 86) in 1909 voor het eerst opmerkte, is het ook van groote beteekenis bij welke temperatuur de stolling van het bloed heeft plaats gehad. HIJMANS VAN DEN

BERGH (84; 85; 86) vond nl. de reactie van DONATH en LANDSTEINER negatief, indien hij werkte met serum, dat door stolling bij kamertemperatuur was ontstaan. Dit werd bevestigd o.a. door ROSIN (169), KUMAGAI en INOUÉ (99; 100), LINDBOM (117), HANNEMA en RYTMA (71), DONATH en LANDSTEINER (41). Dat dit negatieve resultaat niet veroorzaakt werd door een binding van den amboceptor bij kamertemperatuur aan de bloedkoek, kon HIJMANS VAN DEN BERGH gemakkelijk aantonen o.a. door aan de bij kamertemperatuur ontstane bloedkoek versch normaal serum toe te voegen en dit daarna op 37° C te brengen. Hierbij werd geen haemolyse gezien. HIJMANS VAN DEN BERGH neemt aan, dat de amboceptor in het serum ontstaat tengevolge van de stolling bij 37° C.

Naar aanleiding van deze vinding ging HIJMANS VAN DEN BERGH na, in hoeverre de toevoeging van oxalaat invloed had op de reactie van DONATH en LANDSTEINER. Inderdaad bleek hem, dat deze steeds negatief uitviel, indien hij oxalaat-bloed gebruikte. Het werken met oxalaat-bloed kan dus in verschillende gevallen de oorzaak geweest zijn van een negatief gevonden reactie van DONATH en LANDSTEINER bij koude-haemoglobinurie. Merkwaardig is echter, dat de oorspronkelijke proeven van DONATH en LANDSTEINER ten deele met oxalaat-bloed werden verricht. WEIL en CHEVALIER (197), evenals SALÉN (174) meenen, dat behalve aan het oxalaat ook aandacht aan de aanwezigheid van andere zouten moet worden geschonken, daar reeds de toevoeging van een isotonische keukenzoutoplossing in staat is, remmend te werken op het haemolytisch vermogen van het serum bij koude-haemoglobinurie.

Toch zijn er nog meer oorzaken te vinden voor het uitblijven van haemolyse bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER, ook bij typische gevallen van koude-haemoglobinurie. Zoo wijzen WIDAL (204), DONATH en LANDSTEINER (41) e.a. erop, dat de duur der afkoeling niet onverschillig is. Reeds een afkoeling van 4 uur kan in sommige gevallen een negatieve reactie van DONATH en LANDSTEINER tengevolge hebben. MAKENZIE (124) e.a. vonden de reactie het sterkst bij kortdurende afkoeling (5 tot 7 minuten); DONATH en LANDSTEINER (41) zelf, evenals WIDAL en ROSTAINE (299) vonden de reactie negatief, als zij den afkoelingsduur tot 12 uur opvoerden.

Dat bij verblijf van gesensibiliseerde erythrocyten bij een hoogere temperatuur zonder aanwezigheid van complement, de binding van

den amboceptor aan de erythrocyten loslaat, is bekend en kan ook een oorzaak zijn voor negatieve uitkomsten bij het verrichten der reactie van DONATH en LANDSTEINER. [MORO en NODA (^{136; 137})]. Ook de quantitative verhouding van erythrocyten tot serum speelt een rol. Zoo meenen MORO en NODA dat de verhouding: één deel erythrocyten op acht deelen serum de beste resultaten geeft.

Voor zoover ik na kan gaan, staan thans de meeste schrijvers (SALÉN (¹⁷⁴), DONATH en LANDSTEINER (⁴¹), MEYER (¹³¹), WIDAL (²⁰⁴) e.a.) op het standpunt, dat bij de allermeeste gevallen, zoo niet bij alle, de reactie van DONATH en LANDSTEINER bij de koude-haemoglobinurie positief wordt gevonden, mits met de juiste techniek uitgevoerd. Hierbij moet echter worden opgemerkt, dat uit de opgaven in de literatuur zeer vaak niet is af te leiden, welke techniek is gebezigd, zoodat niet met zekerheid uitgemaakt kan worden of die gevallen van typische koude-haemoglobinurie, die een negatieve reactie vertoonden, dit ook gedaan zouden hebben, indien de reactie met alle technische voorzorgen was verricht.

Speciale aandacht moeten wij wijden aan die publicaties welke resultaten vermelden, waarbij reeds zonder afkoeling haemolyse wordt waargenomen en die dus ook in strijd zijn met de bevindingen van DONATH en LANDSTEINER (³⁶) bij koude-haemoglobinurie. Reeds bij de pogingen die vóór DONATH en LANDSTEINER werden aangewend om haemolysinen bij de koude-haemoglobinurie aan te toonen, meenden eenige schrijvers haemolyse te hebben zien optreden bij bloed van lijdens aan koude-haemoglobinurie, zonder voorafgaande afkoeling [SIREDEY (¹⁹²), DONATH (³⁵), VIOLA, CHIARUTTINI (²⁹)]. Maar ook nà DONATH en LANDSTEINER vinden wij verschillende publicaties, waarbij soortgelijke resultaten werden verkregen. Ten deele zoeken de schrijvers de verklaring hiervan in een afwijking van het serum [VIOLA en CHIARUTTINI, MATTIROLO en TEDESCHI (¹²⁹)], ten deele in de erythrocyten, welke gevoeliger zouden zijn tegen inwerking van normaal serum (LEVY en VALENSI (¹¹²), FOIX en SALIN (⁵⁵), KRETZ (⁹⁷), MATTIROLO en TEDESCHI), tegenover hypotonische zoutoplossingen [HERTZ en MAMROT (⁷⁶)] of tegenover saponinen [MEYER en EMMERICH (^{133; 134}), GLÄSSNER en PICK (⁶⁵)].

Deze resultaten werden ten deele daardoor verklaard, dat, zooals DONATH en LANDSTEINER in verband met de gevallen van KRETZ, MATTIROLO en TEDESCHI, VIOLA en CHIARUTTINI opmerkten, meer-

dere of mindere afkoeling aan de proef is voorafgegaan. Inderdaad blijkt de kritiek van DONATH en LANDSTEINER gerechtvaardigd, daar de aandacht, die eerstgenoemde schrijvers hebben gewijd aan de temperatuur, waarbij de proeven werden genomen, wel zeer gering is. Dat geringe afkoeling in sommige gevallen reeds voldoende kan zijn, om de reactie positief te doen uitvallen, hebben o.a. DONATH en LANDSTEINER aangetoond. Deze schrijvers vonden soms reeds een temperatuur van 10° tot 15° C, bij uitzondering zelfs van 20° C voldoende. Ook GRAFE ⁽⁸⁶⁾, MORO en NODA vinden soortgelijke uitkomsten. In het geval van KRETZ wordt door een mondelinge mededeeling van hem aan DONATH en LANDSTEINER zelfs toegegeven, dat er afkoeling heeft plaats gehad. Ook SALÉN ⁽¹⁷⁴⁾ neemt ter verklaring van sommige dezer gevallen technische fouten aan. Bij andere gevallen acht hij de beschrijving der proeven van dien aard, dat een juiste beoordeeling van de vraag, waardoor deze resultaten zijn ontstaan, onmogelijk is.

Geheel onafhankelijk van deze waarnemingen moet het geval van HIJMANS VAN DEN BERGH ⁽⁸⁷⁾ worden beschouwd. Daarbij werd door hem een verminderde resistentie der erythrocyten t.o.v. koolzuur gevonden, een anderen keer ontstond ook zonder afkoeling haemolyse. Dit geval dat door FOIX en SALIN ⁽⁵⁵⁾ m.i. ten onrechte met het hunne werd vergeleken is, zooals wij vroeger reeds opmerkten, geen koude-haemoglobinurie, doch waarschijnlijk een der voorloopers van de later door ROSENTHAL samengevatte atypische gevallen van haemoglobinurie. Ook bij andere gevallen uit deze groep zijn autohaemolysinen aangetoond, die dus zonder voorafgaande afkoeling bij 16° C of bij 37° C een haemolyseerende werking op de eigen erythrocyten uitoefenen [CHAUFFARD en VINCENT ⁽²⁸⁾, ENNEKING ⁽⁵¹⁾].

Een geheel ander vraagstuk dan het bovengenoemde is dit: geeft de reactie van DONATH en LANDSTEINER, zooals wij die hebben leeren kennen, een volledige verklaring voor het ontstaan van den aanval bij de koude-haemoglobinurie?

DONATH en LANDSTEINER meenden in hun eerste publicatie deze vraag geheel bevestigend te kunnen beantwoorden. Zij meenden, dat hun proef het gebeuren in vivo nauwkeurig nabootste. Later zijn zij van deze meening teruggekomen.

HIJMANS VAN DEN BERGH heeft in 1909 aan dit vraagstuk een beschouwing gewijd. Hij komt hierbij tot de slotsom dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER zeker geen afdoende verklaring geeft voor wat er in vivo bij afkoeling geschiedt. Hij noemt twee mogelijkheden, òf het haemolysine is een begeleidend verschijnsel, wellicht het gevolg van de haemoglobinaemie, òf er zijn naast het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER nog tot nu toe onbekende factoren in het spel.

In de eerste plaats vestigt hij de aandacht op de in de literatuur beschreven gevallen, waarbij de reactie van DONATH en LANDSTEINER negatief is en niet door toevoeging van complement positief is te maken, terwijl toch een aanval door afkoeling is op te wekken.

In de tweede plaats wijst hij op het door DONATH en LANDSTEINER gevonden feit, dat het haemolysine ook bij sommige luespatienten is aangetoond, welke niet het ziektebeeld van de koude-haemoglobinurie vertoonden.

Ook de onevenredigheid, die er bestaat tusschen de sterkte der aanvallen bij koude-haemoglobinurie en de mate, waarin de reactie van DONATH en LANDSTEINER positief is, vindt hij merkwaardig.

Ten slotte vraagt hij zich af of werkelijk het bloed in het lichaam tot die temperatuur wordt afgekoeld, die in vitro noodig blijkt, om de reactie van DONATH en LANDSTEINER positief te doen zijn. Zeer belangrijk in dit verband is zeker het door hem genoemde geval van GRAFE en MÜLLER (67), waarbij een voetbad van 8° C een aanval veroorzaakt, terwijl in vitro een temperatuur van 0° tot 5° C noodig was, om de reactie van DONATH en LANDSTEINER positief te doen zijn.

De eerstgenoemde opmerking van HIJMANS VAN DEN BERGH is moeilijk te controleeren, daar wij zagen, dat complementgebrek niet de eenige factor is, waardoor de reactie van DONATH en LANDSTEINER bij koude-haemoglobinurie negatief kan uitvallen¹⁾. Overigens kunnen wij ons geheel bij zijn kritiek aansluiten. Zoo zien wij ook bij MACKENZIE (124) in twee gevallen, dat de koude-gevoeligheid van den patient zelfs steeds omgekeerd evenredig is met het in vitro

1) WICHELS (202) vond in een geval van koude-haemoglobinurie de reactie van DONATH en LANDSTEINER uitgevoerd met in achtneming van alle voorzorgsmaatregelen, negatief, terwijl toch een aanval van haemoglobinurie kon worden opgewekt. Deze mededeeling zou voor de genoemde zienswijze van HIJMANS VAN DEN BERGH kunnen pleiten.

gevonden haemolysine-gehalte. Ook DONATH en LANDSTEINER ⁽³⁹⁾ hebben onevenredigheid in dit opzicht waargenomen.

De vraag, tot welken graad van afkoeling de bloedlichaampjes in het lichaam kunnen geraken onder invloed van uitwendige afkoeling, is zeer moeilijk te beantwoorden. Dat zelfs diepliggende weefsels lage temperaturen kunnen aannemen, tengevolge van uitwendige afkoeling, is bekend (SCHADE ⁽¹⁸¹⁾, ZONDEK ⁽²¹⁴⁾, DONATH en LANDSTEINER ⁽⁴¹⁾ e.a.). Heel anders is dit echter met roode bloedlichaampjes. Bij deze speelt de stroomsnelheid een zeer belangrijke rol, reden waarom reeds vaak aan factoren, welke den stroom verlangsamen, als oorzaak voor de koude-haemoglobinurie is gedacht (vaat-innervatie, DONATH en LANDSTEINER). Schattingen omtrent de temperatuur die erythrocyten kunnen aannemen onder inwerking van uitwendig toegepaste koude zijn van weinig waarde, daar de stroomsnelheid zeer wisselend is in de verschillende vaatgebieden en onder verschillende omstandigheden. Metingen bij den mensch zijn uit den aard zeer moeilijk, bovendien, al zou door metingen vastgesteld kunnen worden, dat bloed in een bepaald vat de benodigde temperatuur voor de werking van de haemolysinen van DONATH en LANDSTEINER heeft, dan nog rijst de vraag, of het aantal afgekoelde erythrocyten voldoende is, om den aanval te veroorzaken, of dat bijv. ook minder sterk afgekoelde erythrocyten aan de haemolyse deelnemen.

Veel belangrijker dan hieromtrent veronderstellingen te maken, lijkt mij de door HIJMANS VAN DEN BERGH aangehaalde waarneming van GRAFE en MÜLLER. Hierbij weten wij nl. wel zeker dat in vivo niet de in vitro benodigde lage temperatuur wordt bereikt. SALÉN ⁽¹⁷⁴⁾ meent, dat dit verschil, wat betreft de benodigde temperatuur in vivo en in vitro, in bijkans alle gevallen van koude-haemoglobinurie wordt gevonden. (LINDBOM ⁽¹¹⁷⁾, GRAFE en MÜLLER ⁽⁶⁷⁾, KUMAGAI en INOUÉ e.a.).

Wij mogen thans wel aannemen, zoo het mechanisme van DONATH en LANDSTEINER in vivo een groote rol moge spelen bij het tot stand komen van een aanval van koude-haemoglobinurie, er toch zeker bovendien nog andere factoren zijn, waarmede rekening gehouden moet worden. Welke deze factoren zijn, is thans nog niet bekend. Zooals wij vroeger zagen, werd in dit verband ge-

dacht aan vaatafwijkingen, nierafwijkingen, koolzuurwerking enz.

Tot deze opvatting wordt men nog meer gedrongen als men onder het oog ziet, dat ook bij patienten, die niet het beeld van de koude-haemoglobinurie vertoonen, het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER wordt aangetroffen. DONATH en LANDSTEINER⁽³⁹⁾ kwamen zelf, zooals ik reeds herhaalde malen vermeldde, door hun bevindingen bij paralytici, terug van de meening, dat hun reactie het gebeuren in vivo geheel zou verklaren.

Bij 6 van de 65 gevallen vonden zij deze duidelijk positief, zelfs was twee maal ook de proef van EHRLICH positief. Zij nemen aan, dat bij deze patienten het ontbreken van vasomotorische afwijkingen oorzaak is, dat de voor de binding van den amboceptor noodige afkoeling uitblijft. Zij spreken in deze gevallen van *latente haemoglobinurie*. Ook andere schrijvers o.a. KUMAGAI en INOUÉ^(99; 100) vonden bij een zeker aantal (9 van de 35) hunner patienten met lues III de reactie van DONATH en LANDSTEINER positief („haemolysinedragers”). Een enkele maal zijn zij er zelfs in geslaagd door sterke afkoeling een lichten aanval van haemoglobinurie bij deze menschen te voorschijn te roepen.

Evenals HIJMANS VAN DEN BERGH^(84; 85; 86) achten ook KUMAGAI en INOUÉ de verklaring van DONATH en LANDSTEINER zeer onvoldoende. Zij meenen, dat de eigenschappen der haemolysinen bij de latente gevallen anders zijn dan bij de klassieke gevallen d.w.z. dat de amboceptor hierbij een veel lagere temperatuur nodig zou hebben voor zijn binding aan de erythrocyten. Zooals SALÉN⁽¹⁷⁴⁾ echter terecht opmerkt, zou dit verschil dan ook in vitro aantoonbaar moeten zijn, hetgeen niet het geval is. In een door SALÉN onderzocht geval bleek juist het omgekeerde waar te zijn. Hoe dit ook wezen moge, zeker is het, dat somtijds in het bloed van patienten het haemolysine van DONATH en LANDSTEINER wordt gevonden, zonder dat de patienten het volledige beeld der koude-haemoglobinurie vertoonen.

De vraag welke rol het haemolysine vervult en welke andere factoren bij het tot stand komen van den aanval van koude-haemoglobinurie medewerken, blijft nog steeds onopgelost.

REACTIE VAN DONATH EN LANDSTEINER BIJ PATIENTE J.

Zooals boven gezegd, lag het zeer voor de hand, na te gaan of het

mogelijk was, de proeven van DONATH en LANDSTEINER bij patiente J en patient K te reproduceeren. Zeer spoedig bleek echter dat bloed van pat.e J met de atypische haemoglobinurie, dat zonder voorafgaande afkoeling twee uur bij 37° C vertoefd had, gehaemolyseerd was. Daar dit in principieele tegenstelling scheen te zijn met de waarnemingen van DONATH en LANDSTEINER, was het van groot belang met uiterste nauwgezetheid alle afkoeling van het bloed uit te sluiten. Hiertoe werd patiente in een ruimte gebracht waarin de temperatuur 37° C bedroeg. Alle instrumenten werden geruimen tijd tevoren in dit vertrek geplaatst, opdat zij de temperatuur van 37° C zooveel mogelijk zouden aannemen. Het bloed werd door venepunctie verkregen en steriel opgevangen in reageerbuizen, die in een waterbad van 37° C stonden. In het waterbad werden zij in een broedstovf van 37° C gebracht en daar 2 uur in gelaten. Daarna bleek zeer sterke haemolyse te zijn opgetreden. Met deze proef is aangetoond, dat het bloed van pat.e J, dat direct uit de vene in een reageerbuis gebracht is en geen andere temperatuur gekend heeft dan 37° C, na 2 uur sterk haemolytisch is geworden, terwijl mag worden aangenomen dat in vivo het plasma geen haemoglobine bevatte. Immers gelijktijdig afgenomen bloed dat bij 0° C is weggezet, heeft geen haemolytisch serum uitgeperst. Dat de haemolyse bij 37° C door bacterieele werking zou zijn veroorzaakt, mag uitgesloten worden, daar het bloed steriel is opgevangen en bewaard.

Uit bovenbeschreven proeven is gebleken, dat in tegenstelling met de proeven van DONATH en LANDSTEINER bij de koude-haemoglobinurie, in dit geval van atypische haemoglobinurie, **afkoeling geen vereischte is om bloed bij 37° C. te laten haemolyseeren.**

REACTIE VAN DONATH EN LANDSTEINER BIJ PATIENT K.

Ook bij den pat. K met koude-haemoglobinurie heb ik de proef van DONATH en LANDSTEINER herhaald, welke proef inderdaad bij dezen patient steeds positief uitviel. Ik werkte daarbij met serum van den patient, dat door stolling op 37° C was verkregen. De erythrocyten werden bij kamertemperatuur met physiologische keukenzoutoplossing gewasschen en in zoo geconcentreerd mogelijke suspensie gebruikt. De verhouding van deze erythrocytensuspensie tot het serum bedroeg 1 op 7. Na voorafgaande afkoeling op 0° C

(gedurende een half uur) was na verwarming op 37°C (gedurende 2 uur) sterke haemolyse opgetreden, terwijl noch door afkoeling alléén, noch door verwarming op 37°C alléén, haemolyse werd verkregen. Dit is dus in lijnrechte tegenstelling met de resultaten, welke bij patiente J met atypische haemoglobinurie werden verkregen.

Bij gebruik van normaal serum in plaats van dat van patient K werd onder overigens dezelfde omstandigheden geen haemolyse gezien, evenmin bij gebruik van geïnactiveerd of zeven dagen oud patienten-serum. Positieve resultaten werden echter verkregen door de proef van DONATH en LANDSTEINER te herhalen met een mengsel van patienten-serum en normale erythrocyten.

Kort gezegd zien wij dus, dat het bloed van patient K, die lijdende is aan koude-haemoglobinurie **zich volledig gedraagt, zooals dit door DONATH en LANDSTEINER in hunne gevallen werd gevonden. Dit is in tegenstelling met het gedrag van het bloed van pat.e J. met atypische haemoglobinurie, daar dit bloed bij 37°C . haemolyse vertoont zonder ook maar aan de geringste afkoeling blootgesteld te zijn geweest.**

HOOFDSTUK V

ANALYSE DER GEVONDEN VERSCHIJNSELEN BIJ PATIENTE J.

Het leek mij van belang de factoren die de haemolyse der erythrocyten van de patiente met atypische haemoglobininurie bij 37° C tot stand brachten, nader te leeren kennen. Hiertoe ging ik als volgt te werk.

Bloed van pat.e J verkregen door venepunctie, werd bij kamertemperatuur opgevangen in physiologische keukenzoutoplossing. De erythrocyten werden bij kamertemperatuur afgecentrifugeerd en 3 maal met physiologische keukenzoutoplossing gewasschen. Een ander bloedmonster werd direct na de venepunctie bij 0° C weggezet. Toen er voldoende serum was uitgerst, werd het snel bij kamertemperatuur gecentrifugeerd en het bovenstaande serum, dat niet haemolytisch bleek te zijn, afgepipetteerd.

Er moest nu worden nagegaan of, indien men uitgewasschen erythrocyten van pat.e J bracht in eigen serum, er onder dezelfde omstandigheden evengoed haemolyse zou optreden als in het bloed der patiente als zoodanig. Daartoe werden in een aantal glazen bakjes telkens 15 druppels serum en 2 druppels zoo geconcentreerd mogelijke erythrocyten-suspensie voorzichtig gemengd. Eenige dezer schaaltes werden in een glazen klok bij 0° C, eenige in een klok bij 17° C, weer andere op dezelfde wijze bij een temp. van 37° C gedurende 2 uur weggezet¹⁾. In iedere klok was een plat schaalte geplaatst, waarin zich een weinig water bevond, dat tevoren op de temperatuur gebracht was, waarbij de klok zou worden weggezet. De bakjes met het mengsel van erythrocyten en serum werden in deze schaaltes geplaatst. Deze manier van werken heeft twee voordeelen. Ten eerste is men er zeker van, dat de bakjes,

1) De glazen klokken werden reeds geruimen tijd voor het begin der proeven bij die temperatuur geplaatst, om zeker er van te zijn, dat zoowel de klokken als hun inhoud volledig de temperatuur der omgeving hadden aangenomen.

waarin zich het te onderzoeken mengsel van erythrocyten en serum bevindt, in korten tijd de temperatuur van de klok aannemen. Ten tweede gaat men de uitdroging der te onderzoeken vloeistof tegen. Nadat de bakjes 2 uur in de klok hadden gestaan, werd hun inhoud voorzichtig geschud en overgegoten in kleine reageerbuizen. Deze werden in een sneldraaiende centrifuge direct afgecentrifugeerd. Vastgesteld werd of in de bovenstaande vloeistof al dan niet haemolyse was opgetreden. Op deze manier werd gezien, dat erythrocyten van pat.e J samen gebracht met haar eigen serum, na 2 uur bij 37° C gestaan te hebben, sterk waren gehaemolyseerd, terwijl in de bakjes die bij 17° C en bij 0° C hadden gestaan, gedurende denzelfden tijd, geen spoor van haemolyse was waar te nemen. Hiermede was dus vastgesteld, dat erythrocyten van pat.e J samen gebracht met haar eigen serum, bij 37° C na 2 uur gehaemolyseerd waren.

De volgende stap was nu om na te gaan of serum van pat.e J samengebracht met normale erythrocyten, deze zou haemolyseeren. Hierbij ging ik op gelijke wijze te werk. Erythrocyten van eenige normale personen werden in physiologisch water 3 maal uitgewassen en op bovenbeschreven wijze samengebracht met serum van pat.e J. Na afcentrifugeeren bleek in geen der bakjes haemolyse te zijn opgetreden. Hieruit volgt, dat normale erythrocyten door serum van pat.e J niet worden gehaemolyseerd.

Nu restte nog de combinatie van erythrocyten van pat.e J met normaal serum te onderzoeken. Dit gaf hetzelfde resultaat als bij het gebruik van serum van pat.e J, d. w. z. er trad sterke haemolyse op in de bakjes die bij 37° C 2 uur hadden gestaan, terwijl bij 17° C en bij 0° C geen haemolyse was te zien. Ten overvloede zij vermeld, dat ook normale erythrocyten met normaal serum op precies dezelfde wijze werden behandeld, waarbij onder geen omstandigheid haemolyse optrad. Alle beschreven proeven werden herhaalde malen met dezelfde resultaten uitgevoerd.

Dat isolysinen bij deze proeven geen rol gespeeld hebben, blijkt reeds uit het feit, dat er ook haemolyse ontstaat als eigen serum van pat.e J wordt gebruikt.

Bovendien zochten wij herhaalde malen naar verschil in gedrag van het patienten-serum t.o.v. allerlei normale sera van alle bloedgroepen; steeds gedroegen zich deze echter gelijk.

Door deze eenvoudige proeven is het zeer waarschijnlijk geworden, dat de erythrocyten van de patiente met haemoglobinurie de eigenschap bezitten bij 37° C door haar eigen serum, maar ook door normaal serum, na 2 uur te worden gehaemolyseerd. Dit is in tegenstelling met hetgeen bij de groote meerderheid der gevallen van koude-haemoglobinurie werd gevonden en wat ook ik bij een geval van koude-haemoglobinurie heb kunnen bevestigen. **Bij dit geval van atypische haemoglobinurie is dus niet het serum, maar zijn de erythrocyten ziek.**

Nu rijst de vraag: is serum voor deze haemolyse wel noodzakelijk of is reeds een temperatuur van 37° C voldoende om de erythrocyten van deze patiente tot haemolyse te brengen. Om die vraag te beantwoorden herhaalde ik de proeven, voegde echter inplaats van serum, 15 druppels physiologische keukenzoutoplossing toe aan 2 druppels erythrocyten-suspensie. Nadat de bakjes gedurende 2 uur bij 0° C 17° C en 37° C waren weggezet, bleek in geen der bakjes haemolyse te zijn opgetreden. Ook met ultrafiltraat van serum werd dezelfde proef gedaan, met negatief resultaat. **Serum bleek dus een vereischte om de erythrocyten van pat.e J bij 37° C tot haemolyse te brengen.**

A. ANALYSE VAN HET SERUM.

Wat is het bestanddeel van het serum dat de haemolyse veroorzaakt?

Zooals bekend, zijn erythrocyten op zeer uiteenlopende wijze tot haemolyse te brengen en kan men de haemolytica in twee hoofdgroepen verdeelen. In de eerste plaats degene die hun werking op de erythrocyten uitoefenen zonder dat de aanwezigheid van versch serum daarvoor noodzakelijk is. Soms wordt zelfs de werking dezer haemolytica hierdoor geremd. In de tweede plaats die groep van haemolytica, die zonder de aanwezigheid van versch serum niet in staat zijn haemolyse te veroorzaken. Tot deze laatste groep behooren de haemolytische amboceptoren, die met het in ieder versch serum aanwezige complement de complexe haemolysinen vormen, zooals deze o.a. bij de koude-haemoglobinurie door DONATH EN LANDSTEINER zijn gevonden.

Het spreekt vanzelf dat, nu gevonden was, dat de erythrocyten van pat.e J alleen gehaemolyseerd werden bij aanwezigheid van

serum, aan een mogelijke complementwerking gedacht werd. Om na te gaan of dit inderdaad het geval was, lag het voor de hand eerst te onderzoeken of het serum na inactiveren nog in staat was haemolyse te veroorzaken. Hiertoe werden normaal serum en serum van pat.e J gedurende 30 minuten in een waterbad van 56° C gezet. Daarna werd het serum op de bovenbeschreven wijze met erythrocyten van pat.e J bij 0° C, 17° C en 37° C weggezet. In geen der bakjes was, noch met geïnactiveerd normaal, noch met geïnactiveerd serum van pat.e J een spoor van haemolyse te zien. Verwarming van het serum op 56° C gedurende een half uur was dus voldoende om het serum zijn haemolyseerende eigenschappen te ontnemen, kort gezegd: **geïnactiveerd serum is niet in staat de erythrocyten van pat.e J te haemolyseeren.**

Deze waarneming bewijst geenszins dat de haemolyse door complement wordt veroorzaakt, daar het zeer goed denkbaar is, dat er zich andere stoffen in het serum bevinden, die ook hunne werkzaamheid verliezen door verwarming op 56° C gedurende een half uur. Ik bedoel hier in de eerste plaats enzymen. Als wij bedenken, dat bloedlichaampjes in serum haemolytisch worden door 2 uur bij 37° C te staan, dan zou het zeer voor de hand liggen aan te nemen, dat dit proces een enzymatisch proces is, temeer daar in ons geval voor de verklaring van de haemolyse het begrip amboceptor, dat bij de serologische haemolyse niet gemist kan worden, niet noodzakelijk schijnt te zijn.

Er werd getracht serum langs nog andere wegen van zijn complement te ontdoen, om dan telkens na te gaan in hoeverre het haemolyseerend vermogen door deze bewerking wordt veranderd.

INACTIVEEREN DOOR MIDDEL VAN KAOLINE.

Bij een volgende proef werd serum zoolang met kaoline geschud tot het aanwezige complement onwerkzaam was geworden. Dit laatste werd gecontroleerd door middel van het haemolytisch systeem. Serum met kaoline geschud, gedroeg zich t.o.v. de erythrocyten van pat.e J geheel als door warmte geïnactiveerd serum. Hierbij zij echter opgemerkt, dat het natuurlijk niet uitgesloten is, dat door de werking van kaoline ook de in het serum veronderstelde enzymen verwijderd zouden zijn door adsorptie.

INACTIVEEREN VAN SERUM DOOR COMPLEMENT-BINDING.

Door de medewerking van Dr. J. VAN DER HOEDEN was ik in de gelegenheid het serum van pat.e J op een zeer specifieke wijze van zijn complement te ontdoen nl. door complement-binding.

Hiervoor werd serum van een lijder aan de ziekte van BANG geïnactiveerd, waardoor dus serum werd verkregen, dat BANG-amboceptor bevatte. Bij versch serum van pat.e J werd nu zoo-veel van dit serum en van BANG-antigeen gevoegd dat het complement uit het serum van pat.e J volledig werd verbruikt. Dat dit inderdaad geschied was, werd wederom door middel van het haemolytisch systeem gecontroleerd. Het spreekt vanzelf, dat door contrôle-proeven tevoren was vastgesteld, dat de amboceptor en het antigeen in de gebruikte verhouding geen invloed oefenen op de haemolyse.

Het serum van pat.e J, dat op deze wijze van zijn complement was beroofd, bleek zich tegenover de erythrocyten van pat.e J als geïnactiveerd serum te gedragen.

INACTIVEEREN VAN SERUM DOOR HET TE LATEN STAAN.

Daar het bekend is, dat serum door staan zijn complementfunctie verliest, werd serum van pat.e J gedurende 7 dagen steriel in de ijskast bewaard, daarna op vroeger beschreven wijze gedurende 2 uur met versche erythrocyten van pat.e J samengebracht. Dit serum bleek niet in staat te zijn bij 37° C haemolyse te veroorzaken. (Serum dat slechts 24 uur in de ijskast had vertoefd gaf wel nog een zwakke haemolyse).

Wij hebben gezien, dat eenige processen, waardoor complement in serum geïnactiveerd of quantitatief verbruikt wordt, dit serum tevens ongeschikt maken, de erythrocyten van pat.e J te haemolyseeren. **Alhoewel hierdoor niet wordt bewezen, dat complement bij de haemolyse een rol speelt, zoo is dit toch zeer waarschijnlijk. Immers bij alle bovenstaande processen, waarbij complement onwerkzaam werd gemaakt of dit door een voor het complement zeer specifieke wijze (complement-binding) werd verwijderd, is het serum niet meer in staat gebleken, de erythrocyten van pat.e J te haemolyseeren.**

B. ANALYSE DER ERYTHROCYTEN.

Samenvattende, wat zoeven is uiteengezet, kunnen wij zeggen,

dat bij pat.e J. die lijdende is aan een atypische haemoglobinurie, de erythrocyten de eigenschap bezitten, door ieder normaal versch serum bij 37° C binnen 2 uur gehaemolyseerd te worden. In het volgende zal getracht worden uiteen te zetten, hoe ik omtrent deze eigenschappen gepoogd heb iets te weten te komen.

Het is bekend, dat men in staat is door een mechanische beschadiging van bloedlichaampjes haemolyse te veroorzaken. Welke waarde men vroeger hieraan voor het ontstaan der koude-haemoglobinurie toekende, werd reeds vroeger besproken. Zoo meende bijv. CHVOSTEK, dat de roode bloedlichaampjes van lijders aan koude-haemoglobinurie minder weerstand tegen mechanische beschadiging bieden dan normale. Het zou zeker niet ondenkbaar zijn, dat in het geval J van atypische haemoglobinurie ook een verlaagde weerstand hiertegen zou bestaan. Men zou zich in dat geval kunnen voorstellen, dat de erythrocyten van deze patiente door de bewerking, welke zij ondergaan bij de venepunctie, het overbrengen in reageerbuizen, het centrifugeeren, enz. tot haemolyse gebracht worden. Toch is deze veronderstelling onwaarschijnlijk, daar wij gezien hebben, dat voor het tot stand komen van haemolyse versch complement een vereischte is, terwijl de erythrocyten in geïnactiveerd serum of physiologisch water onder overigens gelijke omstandigheden geen spoor van haemolyse vertoonen. Toch meende ik goed te doen, de *mechanische resistentie* van de erythrocyten van pat.e J te vergelijken met die van normale. Hierbij ging ik zoo te werk, dat erythrocyten van pat.e J drie maal met physiologische keukenzoutoplossing werden uitgewasschen en met een gelijke hoeveelheid physiologische keukenzoutoplossing in een fleschje werden gebracht. Op dezelfde wijze werden normale erythrocyten behandeld. Beide fleschjes werden in een schudtoestel gebracht. Telkens na 5 minuten schudden, werd uit beide fleschjes een even groot monster genomen, gecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof op haemolyse bekeken. Nu bleek, dat in beide fleschjes na 20 minuten schudden een spoor van haemolyse was opgetreden, terwijl na 45 minuten schudden beide duidelijk haemolytisch waren geworden. **Wij mogen aannemen, dat de mechanische laedeerbaarheid der erythrocyten van pat.e J gelijk is aan die van normale erythrocyten.**

De volgende stap om iets omtrent den bouw of de samenstelling van

de erythrocyten dezer patiente te weten te komen, was, na te gaan, hoe hun gedrag t.o.v. *hypotonische keukenzoutoplossingen* was. Hier toe werd de resistentie der erythrocyten t.o.v. een reeks hypotonische keukenzoutoplossingen bepaald volgens de methode zooals NAEGELI⁽¹⁴²⁾ die aangeeft. Ik vond voor de erythrocyten van pat.e J steeds normale waarden (begin der haemolyse bij 0.46% keukenzout, volledige haemolyse bij 0.32%). De resistentie-bepalingen werden verricht, afwisselend met 5 maal in physiologische keukenzoutoplossing uitgewasschen erythrocyten en met bloed van patiente, dat direct uit de vene werd genomen. Deze twee methoden gaven steeds dezelfde uitkomsten.

Daar ik den grooten invloed van de temperatuur op de haemolyse had leeren kennen, werden deze resistentie-bepalingen hierna bij een temperatuur van 37° C. herhaald. Ook nu bleken de cijfers voor begin en einde der haemolyse verkregen, normaal te zijn. **Ik meen te mogen aannemen, dat de osmotische resistentie der door mij onderzochte erythrocyten van pat.e J normaal is.**

Nu gevonden was, dat de erythrocyten van pat.e J zich t.o.v. keukenzoutoplossingen niet anders gedragen dan normale erythrocyten, lag het voor de hand na te gaan of zij dit ook t.o.v. andere haemolytica, zooals saponine, lecythine en chinine deden.

De resistentie t.o.v. saponine-oplossingen ging ik als volgt na. Ik loste 20 mgr. saponine op in 100 c.c. physiologische keukenzoutoplossing. Deze oplossing werd steeds den dag, waarop een proef werd genomen, versch bereid. Ik maakte een reeks van 20 buisjes klaar. In ieder der buisjes werd 3 c.c. physiologisch water gedaan en bij het eerste buisje 0,05 c.c. van de saponine-oplossing, in het volgende 0,05 c.c. meer enz., zoodat wij een reeks saponine-oplossingen in physiologisch water hebben, waarvan het eerste buisje 0,010 mgr. saponine bevat, ieder volgend buisje 0,010 mgr. meer. Het laatste buisje bevat dus 0,200 mgr. saponine. Bij de saponine-oplossingen werd gevoegd 0,1 c.c. erythrocyten-suspensie, gemaakt door afgecentrifugeerde en 3 maal gewasschen erythrocyten, met tweemaal hun volume physiologische keukenzoutoplossing te verdunnen. Na schudden werden de buisjes gedurende 12 uur weggezet en dan afgelezen, zooals men dat gewend is te doen bij de bepaling der osmotische resistentie. Hierbij heb ik steeds normale erythrocyten vergeleken met die van pat.e J. Daarbij werden geen ver-

schillen gevonden. De haemolyse begon bij alle proeven in het buisje dat 0,050 mgr. saponine bevatte (dit is een oplossing van 1 op 65.000) en was volledig in het buisje dat 0,170 mgr. bevatte (dit is 1 : 22.000). Voor dit laatste cijfer werden bij normale erythrocyten schommelingen tusschen 0,110 mgr. en 0,180 mgr. gevonden ¹⁾.

Ik meen hieruit de conclusie te mogen trekken, dat de saponine-resistentie op deze wijze bepaald, bij de erythrocyten van pat.e J normaal is.

Deze proeven werden herhaald, waarbij 1 maal en 5 maal met physiologische keukenzoutoplossing gewasschen erythrocyten werden vergeleken. Het uitwasschen bleek op de saponine-resistentie geen aantoonbaren invloed te hebben.

Ook de *resistentie t.o.v. lecithine-oplossingen* werd op soortgelijke wijze nagegaan. Ik maakte een reeks oplossingen van lecithine in kleine reageerbuisen. Het eerste buisje bevatte 3 c.c. $2,5^0/_{00}$ lecithine-oplossing. Het volgende $1,25^0/_{00}$, het daaropvolgende $0,625^0/_{00}$ enz. In het totaal werden 10 buisjes gebruikt, waarvan het tiende dus 3 c.c. $0,00475^0/_{00}$ lecithine-oplossing bevatte. Bij ieder buisje werd weer 0,1 c.c. eener erythrocyten-suspensie gebracht, zooals die werd gebruikt bij de bepaling der saponine-resistentie.

De haemolyse van erythrocyten van pat.e J, zoowel als die van normale erythrocyten, begint in het 7de of 8ste buisje (dit is dus 0,039 of $0,078^0/_{00}$) en is volledig in het 2e of 3e buisje ($0,625$ of $1,25^0/_{00}$).

Iedere proef werd gelijktijdig met normale erythrocyten uitgevoerd, waarbij steeds dezelfde resultaten werden verkregen als met erythrocyten van patiente.

Alhoewel de hierboven beschreven proeven niet zoo scherp zijn af te lezen als die, welke werden gedaan ter bepaling van de resistentie t.o.v. saponine-oplossingen, meen ik op grond van zoeven-genoemde contrôle-proeven toch tot het resultaat te mogen besluiten, **dat ook t.o.v. lecithineoplossingen de erythrocyten van pat.e J zich niet anders gedragen dan normale erythrocyten.**

1) Bij de verschillende proeven vond ik voor dit cijfer de volgende waarden: 0,1; 0,17; 0,11; 0,130; 0,11; 0,11; 0,1; 0,1; 0,1; 0,1; 0,1; 0,18.

Wat tenslotte de *resistentie t.o.v. chinine-oplossingen* betreft, zoo maakte ik om deze te bepalen weer een reeks kleine reageerbuisjes klaar. In ieder dezer bevond zich 0,3 c.c. 0,9% keukenzoutoplossing.

Bij het eerste werd 0,05 c.c. van een 2% oplossing van hydrochloras chinini gevoegd, bij het volgende 0,1 c.c., dan 0,15 c.c., 0,2 c.c. etc., zoodat het eerste buisje 1 mgr. hydrochloras chinini bevat en ieder volgend buisje 1 mgr. meer. In het geheel bestond de reeks uit 20 buisjes. In ieder der buisjes werd weer 0,1 c.c. der erythrocyten-suspensie gebracht, zooals deze bij de bepaling der saponine-resistentie werd gebruikt. Daar de uitkomsten tendeele ook afhankelijk schijnen te zijn van de gebruikte concentratie der erythrocyten [zie WEISE⁽²⁰¹⁾] en deze in de literatuur zeer wisselt, is het moeilijk zich uit de literatuur een oordeel te vormen over de waarden welke bij normale erythrocyten worden gevonden. Dit was een reden te meer om ook deze bepalingen te verrichten in vergelijking met op precies dezelfde wijze behandelde normale erythrocyten. Ik vond, dat zoowel bij gebruik van erythrocyten van pat.e J als van normale erythrocyten de haemolyse begon in het buisje, dat 7 mgr. hydrochloras chinini bevatte en volledig was bij het buisje dat 14 of 15 mgr. bevatte. De haemolyse begint dus bij een chinineconcentratie van 0,7⁰/₀₀ en is volledig bij 4⁰/₀₀¹⁾.

Ook t.o.v. chinine blijken zich de erythrocyten van pat.e J niet anders te gedragen dan normale erythrocyten.

CHOLESTERINE- EN PHOSPHATIDE-GEHALTE DER ERYTHROCYTEN VAN PAT.E J.

Welke rol de lipoiden in de celwand spelen, vooral wat betreft haar doorlaatbaarheid, is bekend [lipoid-theorie, OVERTON^(145; 146), QUINCKE⁽¹⁶¹⁾]. Dat dit ook geldt voor de erythrocyten-membraan wordt o.a. waarschijnlijk door het feit, dat erythrocyten, die rijk zijn aan cholesterine (bijv. bij schapen en runderen) resistenter blijken te zijn t.o.v. saponine-oplossingen, dan de erythrocyten, welker cholesterine-gehalte (zooals bijv. bij het konijn) lager is dan

1) Deze cijfers komen ongeveer overeen met wat bijv. NOCHT⁽¹⁴³⁾ vindt. Volgens hem is 0,4⁰/₀₀ de grens-concentratie van de haemolytische werking van chinine. Hij gebruikte een 10% suspensie van erythrocyten in physiologische keukenzoutoplossing. RUSNYAK^(171; 172) geeft als grensconcentratie waarbij volledige haemolyse optreedt een oplossing van 1:200, (dit is 5⁰/₀₀) aan.

dat der eerstgenoemde diersoorten [MEYER⁽¹³⁰⁾, RYWOSCH⁽¹⁷³⁾ en PORT⁽¹⁵⁹⁾, RANSOM⁽¹⁶²⁾, WINDAUS⁽²¹²⁾, KOBERT⁽⁹⁴⁾]. Het is gebleken, dat het vooral de verhouding der cholesterine t.o.v. de phosphatiden is, welke hierbij van belang is.

Alhoewel gevonden was, dat de erythrocyten van pat.e J zich t.o.v. saponine-oplossingen niet anders gedragen, dan normale erythrocyten, achtte ik het toch van belang ook langs analytischen weg na te gaan, hoe het cholesterine- en phosphatide-gehalte der erythrocyten van deze patiente is.

Door medewerking van Dr. P. MULLER was ik in staat eenige cijfers hieromtrent te verkrijgen, welke ik hier laat volgen:

Cholesterine-gehalte der erythrocyten van pat.e J:

1,30; 1,47; 1,46; 1,37^{0/100}.

Cholesterine-gehalte van normale erythrocyten:

1,34; 1,95; 1,49^{0/100}.

De bepaling van het phosphatide-gehalte geeft de volgende uitkomsten:

Erythrocyten van pat.e J:

11,1; 13,7; 13,0. mgr. P. per 100 cc.

Normale erythrocyten:

11,0; 8,0; 12,1; 11,0. mgr. P. per 100 cc,

Wij zien, dat deze cijfers niet toelaten, een verschil in het cholesterine- of phosphatide-gehalte van de pathologische erythrocyten t.o.v. normale, aan te nemen, hetgeen dus in overeenstemming is met de resultaten, verkregen bij de bepaling der resistentie t.o.v. saponine-oplossingen.

Langs bovenbeschreven weg ben ik er niet in geslaagd eenige verandering in de chemische samenstelling, wat betreft het cholesterine- en het phosphatide-gehalte van pat.e J vast te stellen, noch eenig afwijkend gedrag t.o.v. enkele haemolytica.

GEDRAG DER ERYTHROCYTEN VAN PAT.E J IN CHOLESTERINE-RIJK SERUM.

Bij experimenteel onderzoek is gebleken, dat kunstmatige membranen o.a. bestaande uit lecithine en cholesterine [PASCUCCI⁽¹⁴⁷⁾] in hun gedragingen t.o.v. lipoidoplossende haemolytica vergelijkbaar zijn met erythrocyten. De werking van saponine op deze membranen wordt geremd door de aanwezigheid van cholesterine

in de omgevende vloeistof. RANSOM⁽¹⁶²⁾ toonde aan, dat ook de gevoeligheid van erythrocyten t.o.v. saponine-oplossingen omgekeerd evenredig is met het cholesterine-gehalte van het serum.

Indien nu het afwijkend gedrag van de erythrocyten van pat.e J t.o.v. serum zou berusten op een verandering der lipoiden, dan zou het mogelijk kunnen zijn, dat het cholesterine-gehalte van het aan de erythrocyten toegevoegde serum invloed zou kunnen oefenen op de haemolyse.

Om dit na te gaan, liet ik cholesterine-rijk serum gedurende 2 uur inwerken op erythrocyten van pat.e J, om te zien of er, onder dezelfde omstandigheden als met normaal serum van bekend en normaal cholesterine-gehalte, haemolyse zou optreden. Voor deze proef gebruikte ik als cholesterine-rijk serum, een serum dat $5,8\frac{0}{100}$ cholesterine bevatte. Als contrôle-sera werden die van normale personen gebruikt met o.a. de volgende cijfers voor het cholesterine-gehalte: 1,45; 1,41; 1,8; 1,6; 2,34; $1,92\frac{0}{100}$.

De erythrocyten bleken zich in alle onderzochte sera precies gelijk te gedragen. **Men mag dus aannemen, dat cholesterine-rijk serum de haemolyse van de erythrocyten van pat.e J bij 37° C niet remt.**

SAMENVATTING.

Samenvattende, wat in dit hoofdstuk werd gezegd, mogen wij dus aannemen, dat het *complement* evenals bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER datgene is, wat de haemolyse van de erythrocyten bij pat.e J teweeg brengt.

De erythrocyten van pat.e J blijken zich daarentegen geheel anders te gedragen dan die van een lijder aan koude-haemoglobinurie. Zonder voorafgaande afkoeling worden zij reeds bij 37° C gehaemolyseerd, zoowel door eigen, als door normaal serum. Dit geschiedt zonder dat eenige afwijking valt op te merken, wat betreft samenstelling of reactie t.o.v. eenige haemolytica. Daar de erythrocyten **uitsluitend** t.o.v. de complementwerking zich anders blijken te gedragen dan normale, achten wij het mogelijk, dat de erythrocyten **reeds zonder afkoeling gesensibiliseerd zijn.**

HOOFDSTUK VI

PROEVEN MET KOOLZUUR.

Zooals wij in de inleiding zagen, heeft HIJMANS VAN DEN BERGH in 1909 de aandacht gevestigd op de beteekenis, welke het koolzuur heeft voor de haemolyse, bij de koude-haemoglobinurie. Naar aanleiding van deze proeven heb ik nagegaan of ook bij pat.e J een werking van het koolzuur kon worden aangetoond. Tevens was ik in de gelegenheid de proeven van HIJMANS VAN DEN BERGH aan een geval van koude-haemoglobinurie te toetsen. Voordat ik echter overga tot de beschrijving dezer proeven, wil ik een kort overzicht over de literatuur hieromtrent laten voorafgaan.

OVERZICHT V. D. LITERATUUR.

Toen HIJMANS VAN DEN BERGH (84; 85; 86) zijn proeven over de werking van het koolzuur begon, geschiedde dit doordat hij op grond van vroeger genoemde overwegingen meende, dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER geen afdoende verklaring gaf voor hetgeen zich bij een aanval van koude-haemoglobinurie in het lichaam afspeelt. Hij kwam tot de overtuiging, dat in het lichaam momenten een rol spelen, welke vóór dien tijd buiten beschouwing waren gelaten. Hierbij dacht hij in de eerste plaats aan de rol die het koolzuur als normaal stofwisselingsproduct in het lichaam dien-aangaande zou kunnen vervullen. Dit leek hem des te waarschijnlijker, daar het immers bekend was, dat lijders aan koude-haemoglobinurie vaak vasomotorische afwijkingen vertoonen, waardoor sterke cyanose bij hen geen zeldzaam verschijnsel is. Dat het koolzuur een rol bij de haemolyse vervult, was bekend door de onderzoekingen van LANDOIS (103) en HAMBURGER. Deze laatste had vastgesteld, dat normale erythrocyten onder den invloed van koolzuur minder resistent zijn t.o.v. hypotonische keukenzoutoplossingen. HIJMANS VAN DEN BERGH brengt in herinnering, dat reeds vóór hem eenige onderzoekers aan de mogelijkheid hadden

gedacht, dat het koolzuur bij de koude-haemoglobinurie een rol zou spelen [MURRI (139), LÉPINE (110), CHVOSTEK (81)]. Ook onderzoekingen dienaangaande waren er reeds verricht. Zoo zou LÉPINE bij lijders aan koude-haemoglobinurie een resistentie vermindering der erythrocyten t.o.v. hypotonische keukenzoutoplossingen onder den invloed van koolzuur vastgesteld hebben, hetgeen later, zooals gezegd, door HAMBURGER ook voor normale erythrocyten werd gevonden. Bij MANNABERG en DONATH vinden wij proeven, waarbij zij koolzuurgas door bloed van een lijder aan koude-haemoglobinurie hebben geleid en inderdaad hierbij reeds spoedig haemolyse zagen optreden, ook echter bij één der 12 contrôleproeven met normale erythrocyten.

Na aanvankelijk zijn proeven op dezelfde wijze te hebben ingericht, ging HIJMANS VAN DEN BERGH er reeds spoedig toe over, inplaats van koolzuurgas door het bloed te leiden, open schaaltes met gedefibrineerd bloed in een koolzuuratmosfera te plaatsen. Steeds vond hij, dat bloed van een lijder aan koude-haemoglobinurie, dat 2 uur zonder voorafgaande afkoeling bij kamertemperatuur in een koolzuuratmosfera had vertoefd, sterk haemolytisch was geworden, terwijl dit bij bloed, dat niet afkomstig was van een dergelijken patient, nooit werd gezien.

Dezelfde proef herhaald bij 37° C, inplaats van bij kamertemperatuur, viel steeds negatief uit. Reeds bij geringe afkoeling onder 37° C (bijv. 30° C) werd weer haemolyse gezien.

Door een reeks van proeven kon HIJMANS VAN DEN BERGH aantonen, dat de aanwezigheid van complement voor het tot stand komen der haemolyse noodzakelijk was en dat de erythrocyten van den patient door normale erythrocyten konden worden vervangen, evenals DONATH en LANDSTEINER dit voor hunne reactie hadden gevonden. Een belangrijk verschil t.o.v. de reactie van DONATH en LANDSTEINER was echter, dat het HIJMANS VAN DEN BERGH niet gelukte geïnactiveerd serum door toevoeging van versch serum te reactivereen, terwijl hij toch moest aannemen, dat de amboceptor van DONATH en LANDSTEINER nog aanwezig was. De mogelijkheid, dat bij de koolzuur-haemolyse een ander haemolysine optreedt, was volgens hem dan ook niet uitgesloten.

Door KROKIEWICZ (98) konden in 1911 de proeven van HIJMANS VAN DEN BERGH worden bevestigd, later door DONATH en LAND-

STEINER ⁽⁴¹⁾ en HANNEMA en RYTMA ⁽⁷¹⁾. Deze laatste schrijvers vonden, dat serum onder inwerking van koolzuur een zoodanige verandering ondergaat, dat het nu ook zonder koolzuur-atmosfeer haemolyse veroorzaakt.

Of er werkelijk een principieel verschil bestaat tusschen het koolzuur-haemolysine en dat van DONATH en LANDSTEINER, wordt van verschillende zijden betwijfeld [DONATH en LANDSTEINER ⁽⁴¹⁾; SALÉN ⁽¹⁷⁴⁾; LINDBOM ⁽¹¹⁷⁾; KUMAGAI en ITO ⁽¹⁰¹⁾].

Toen HIJMANS VAN DEN BERGH een patient met „haemolytische icterus gepaard gaande met aanvallen van haemoglobinurie” onder behandeling kreeg, onderzocht hij ook bij dezen de werking van het koolzuur op het bloed. Hierbij werden geheel andere resultaten verkregen dan bij de koude-haemoglobinurie. In de eerste plaats waren het nu de erythrocyten die de aandacht trokken. Deze vertoonden nl. een verminderde resistentie t.o.v. koolzuur, zoodat zij onder de inwerking van koolzuur door versch normaal serum werden gehaemolyseerd bij kamertemperatuur (17° C), maar ook bij een temperatuur van 37° C. Met serum van den patient zelf geschiedde dit alleen bij 37° C. Merkwaardigerwijze bleek nu, dat acht dagen later zich een wijziging t.o.v. het te voren verkregen resultaat had voorgedaan, in dien zin, dat de erythrocyten van den patient thans ook zonder inwerking van koolzuur door normaal serum werden gehaemolyseerd bij kamertemperatuur en bij 37° C, terwijl t.o.v. het eigen serum het gedrag der erythrocyten niet veranderd was. Ook nu weer bleek complement voor deze haemolyse een noodzakelijke factor te zijn, terwijl het evenmin als bij de koude-haemoglobinurie gelukte, het geïnactiveerde serum te reactivereen.

Ik vestig nadrukkelijk de aandacht op de bevindingen bij dezen patient, daar, zooals wij later zullen zien, deze in zeer veel opzichten met de onze overeenkomen.

De proeven van HIJMANS VAN DEN BERGH ^(84; 85; 86) zijn in de literatuur weinig nagedaan. Vermeld zij, dat HIJMANS VAN DEN BERGH zelf melding maakt van een dergelijk geval, waarbij hij geen bevestiging der bovengenoemde proeven vond, terwijl ook BIFFI ⁽⁸⁾ en IGLAUER en FRENREISZ ⁽⁸⁹⁾ bij een soortgelijk geval de proeven niet konden reproduceeren.

PROEVEN BIJ PATIENT K.

Aan de beschrijving der koolzuurproeven met het bloed van patiente J wil ik laten voorafgaan in hoeverre ik de bevindingen van HIJMANS VAN DEN BERGH bij koude-haemoglobinurie heb kunnen bevestigen. Zooals wij zagen, heb ik bij een patient K met koude-haemoglobinurie de proef van DONATH en LANDSTEINER zonder eenig bezwaar verschillende malen kunnen reproduceeren.

De proeven met koolzuur werden begonnen, door den invloed hiervan na te gaan op een mengsel van serum en erythrocyten van pat. K bij verschillende temperaturen. Evenals bij de vorige proeven werden in verschillende bakjes 2 druppels erythrocyten-suspensie en 15 druppels serum gebracht en daarna onder glazen klokken geplaatst, welke bij een temperatuur van 0° C, 17° C en 37° C stonden. In deze klokken bevonden zich weer bakjes met water van dezelfde temperatuur als waarop de klok zich bevond. Telkens werden 2 klokken geplaatst bij de bovengenoemde temperaturen. Nadat de bakjes in de klokken waren gezet werd telkens één der twee klokken met koolzuur gevuld, dat uit een toestel van KIPP werd verkregen en dat door water was geleid. Wij krijgen dus de volgende reeks: bakjes waarin 2 druppels erythrocyten suspensie en 15 druppels serum 2 uren hadden gestaan bij

- 0° C
- 0° C in koolzuuratmosfeer
- 17° C
- 17° C in koolzuuratmosfeer
- 37° C
- 37° C in koolzuuratmosfeer.

Na 2 uren werden de bakjes weer uit de klokken gehaald en de inhoud gecentrifugeerd.

Nu bleek er in het bakje dat bij 17° C met koolzuur had gestaan, duidelijk haemolyse te zijn opgetreden, terwijl dit in geen der andere bakjes het geval was. Deze proefserie, die eenige malen met hetzelfde resultaat werd uitgevoerd, gaf dus een volkomen bevestiging van hetgeen door HIJMANS VAN DEN BERGH was gevonden. Ook verder waren wij in staat zijn bevindingen te bevestigen. Als wij deze proef nl. met normaal of geïnactiveerd serum herhaalden, werden in alle bakjes negatieve resultaten verkregen, terwijl evenals door HIJMANS VAN DEN BERGH was gevonden (en wat ook voor

de reactie van DONATH en LANDSTEINER geldt) de erythrocyten van den patient verwisselbaar waren met normale, zonder dat de uitkomsten der proeven hierdoor eenige verandering ondergingen.

Zooals ik reeds opmerkte, werd bij gebruik van geïnactiveerd serum van den patient nooit haemolyse gezien bij 17° C met koolzuur. Interessant was het nu, om na te gaan in hoeverre de bevindingen van HIJMANS VAN DEN BERGH, wat betreft het *reactiveeren*, ook bij pat. K bevestigd konden worden. Toen ik geïnactiveerd serum van pat. K trachtte te reactiveeren door er gelijke deelen normaal serum aan toe te voegen (het onderzochte mengsel bestond nu uit 2 druppels erythrocyten-suspensie K, 7 druppels geïnactiveerd serum K en 7 druppels versch normaal serum) ontstond ook hier bij 17° C met koolzuur geen haemolyse. Ook in het geval K slaagde ik er dus niet in het serum te reactiveeren. Daar ik echter bij vroegere proeven bij pat. e J had opgemerkt, dat een reeds betrekkelijk geringe verdunning van het serum de complementwerking niet tot uiting deed komen, was het van belang na te gaan, of het zooeven genoemde feit betreffende het serum van pat. K, niet ook op een verdunning van het serum, door de aanwezigheid van geïnactiveerd serum, zou berusten. De proef werd daarom als volgt ingericht:

2 druppels eryth. K met 7 druppels versch serum K, 7 druppels geïnactiveerd normaal serum, worden 2 uur bij 17° C in een koolzuuratmosfeer weggezet.

Terwijl er dus sprake van was, dat serum van den patient geïnactiveerd werd, kreeg ik toch geen haemolyse. Hieruit wil ik in het geheel niet de conclusie trekken, dat het serum voor de koolzuur-haemolyse wel reactiveerbaar is, doch alleen de aandacht erop vestigen, hoe groot de rol is, die de „verdunning” van het complement bij deze proef speelt.

Ik trachtte den invloed der verdunning verder na te gaan, door de bovenbeschreven proef met verschillende verdunningen uit te voeren. Wij krijgen de volgende uitkomsten:

Eryth. K met versch serum K (12 druppels) met geïnact. norm. serum (3 druppels)

bij 17° C met koolzuur (gedurende twee uur): geeft *haemolyse*.

Eryth. K met versch serum K (9 druppels) met geïnactiveerd norm. serum (6 druppels).

bij 17° C met koolzuur (gedurende twee uur): geeft *geen haemolyse*.

Eryth. K met versch serum K (7 druppels) met geïnact. norm. serum (7 druppels).

bij 17° C met koolzuur (gedurende twee uur): geeft *geen haemolyse*.

Eryth. K met versch serum K (6 druppels) met geïnact. norm. serum (9 druppels).

bij 17° C met koolzuur (gedurende twee uur): geeft *geen haemolyse*.

Reeds het vervangen van $\frac{2}{5}$ volumen van het serum door geïnactiveerd serum bleek dus de koolzuur-haemolyse te belemmeren. De reactie van DONATH en LANDSTEINER daarentegen viel nog positief uit bij het gebruik van gelijke deelen serum K en geïnactiveerd normaal serum. Of het complement dat voor de koolzuur-haemolyse noodig is, andere eigenschappen heeft dan hetgeen bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER werkzaam is (daargelaten of de concentratie van het complement, waar we nader op terug komen, hierbij van belang is) of dat, zooals HIJMANS VAN DEN BERGH dat mogelijk achtte, hierbij een ander lysine een rol speelt, is uit deze proef niet af te leiden. Door de volgende proef wordt deze laatste opvatting m.i. onwaarschijnlijk:

Serum K wordt op verschillende wijzen complementvrij gemaakt (complement-binding, bewaren, verwarmen op 56° C gedurende een half uur) terwijl door de reactie van DONATH en LANDSTEINER wordt vastgesteld, dat de amboceptor door deze bewerking niet is verloren gegaan. Nu krijgen wij toch:

Eryth. K met dit geïnactiveerde serum K (12 druppels) met versch normaal serum (3 druppels) bij 17° C met koolzuur (gedurende twee uur): *geen haemolyse*.

Hier kan ook van vernietiging van den amboceptor t.o.v. de koolzuur-haemolyse geen sprake zijn, hetgeen blijkt uit het feit, dat toevoeging van méér complement de haemolyse tevoorschijn doet komen.

Ik heb dus de proef van HIJMANS VAN DEN BERGH in alle opzichten kunnen bevestigen, zou echter de vraag willen stellen of het negatieve resultaat bij de poging tot reactiveren niet is ontstaan door een „verdunning” van het complement, waardoor dit (daargelaten of er één of meerdere complementen zijn) niet meer in staat is, aan de koolzuur-haemolyse deel te nemen. **Ik meen aangetoond te hebben, dat er verschil bestaat, wat betreft de „gevoeligheid” tegen verdun-**

ning bij de koolzuur-haemolyse en bij de koude-haemolyse, in dien zin, dat de laatste hiertegen minder gevoelig blijkt te zijn.

PROEVEN BIJ EEN PATIENT MET HAEMOLYTISCHE ICTERUS.

De koolzuurproeven, zooals ik die bij het geval K heb gedaan, werden ook verricht met het bloed van een lijder aan congenitalen haemolytischen icterus (verlaagde osmotische resistentie der erythrocyten, miltvergrooting, bilirubinaemie met negatieve directe reactie van H. v. D. B.). De erythrocyten en het serum van dezen patient bleken zich geheel als normale erythrocyten te gedragen.

PROEVEN BIJ PATIENTE J.

Bespreken wij thans de door mij verrichte koolzuurproeven bij pat.e J. Toen ik erythrocyten en serum van deze patiente op dezelfde wijze onderzocht als boven werd beschreven, zag ik bij 0° C geen haemolyse optreden, noch in, noch buiten de koolzuur-atmosfeer. De inhoud van het bakje in de klok die bij 17° C *zonder* koolzuur heeft gestaan, is ook niet gehaemolyseerd, wel echter de inhoud van het bakje dat bij 17° C *in* koolzuur heeft gestaan. Het bloed dat bij 37° C in gewone lucht heeft gestaan, is haemolytisch, evenals het bloed dat bij 37° C in de koolzuur-atmosfeer is geweest.

Wij kunnen dit als volgt weergeven:

Eryth. v. pat.e J	2 uur op	0° C	<i>zonder</i> koolzuur:	geen haemolyse.
„ „ „ „ „ „	„	0° C	<i>met</i> „	: geen haemolyse.
„ „ „ „ „ „	„	17° C	<i>zonder</i> „	: geen haemolyse.
„ „ „ „ „ „	„	17° C	<i>met</i> „	: wel haemolyse.
„ „ „ „ „ „	„	37° C	<i>zonder</i> „	: wel haemolyse.
„ „ „ „ „ „	„	37° C	<i>met</i> „	: wel haemolyse.

Wij zien dus, dat onder den invloed van koolzuur bij 17° C haemolyse optreedt, terwijl dit zonder koolzuur niet geschiedt. Over de werking van koolzuur bij 37° C kunnen wij door deze proef geen oordeel verkrijgen, daar wij zagen, dat de erythrocyten in serum bij 37° C ook zonder aanwezigheid van koolzuur sterk gehaemolyseerd worden. Wel kunnen, wij vaststellen, dat koolzuur de haemolyse bij 37° C niet heeft geremd. Als wij nu op dezelfde wijze zooals werd uiteengezet voor de haemolyse bij 37° C in gewone lucht het proces, dat onder invloed van koolzuur plaats vindt, gaan analyseeren, komen wij tot het resultaat, dat erythrocyten van pat.e J in normaal serum onder-

zocht, wat betreft de haemolyseerbaarheid in een koolzuur-atmosfeer zich gedragen, alsof zij in het serum van patiente zelf waren onderzocht, d.w.z. **voor de koolzuur-haemolyse is, evenals voor de haemolyse zonder koolzuur, het serum van pat.e J vervangbaar door normaal serum**, terwijl hierbij dezelfde opmerking moet worden gemaakt, wat betreft de werking van eventuele isolysinen.

Ook in het gedrag van bloed van pat.e J t.o.v. koolzuur zien wij dus belangrijke verschillen met dat van den patient, lijdende aan koude-haemoglobinurie. Weer blijkt in het geval J de erythrocyt degene te zijn, die anders reageert dan normaal, terwijl bij koude-haemoglobinurie het serum de afwijkende eigenschappen blijkt te bevatten. Evenmin als de haemolyse van erythrocyten van pat.e J plaats heeft als men deze erythrocyten in geïnactiveerd serum gedurende 2 uren aan een temperatuur van 37° C blootstelt, evenmin heeft de haemolyse in een koolzuur-atmosfeer bij genoemde temperatuur plaats, indien men geïnactiveerd serum gebruikt. Ook nu weer werd serum langs verschillende wegen complementvrij gemaakt (complement-binding, kaoline), waarbij weer bleek, dat op deze wijze bewerkt serum niet in staat was de erythrocyten van pat.e J te haemolyseeren, ook niet onder inwerking van koolzuur bij 17° of 37° C. Wij mogen met hetzelfde voorbehoud als vroeger aannemen, dat voor het tot stand komen van haemolyse in een koolzuur-atmosfeer, complement een noodzakelijke factor is. Wat betreft de vraag of het geïnactiveerde serum door toevoeging van complementhoudend serum weer in staat is onder invloed van koolzuur, haemolyse te veroorzaken, meen ik een bevestigend antwoord te kunnen geven. Evenals bij de koolzuurproeven bij pat. K, blijkt ook hier de verdunning van het serum een groote rol te spelen. Bij pat.e J blijkt de „gevoeligheid” voor verdunning van het complementhoudende serum met geïnactiveerd serum echter geringer te zijn, dan bij de koolzuurproeven bij pat. K. Bij pat.e J wordt bij aanwezigheid van gelijke deelen geïnactiveerd en versch serum nog duidelijk haemolyse gezien. **De „gevoeligheid” voor verdunning bij de koolzuurproeven met bloed van pat.e J komt dus ongeveer overeen met de „gevoeligheid” bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER bij pat. K.**

Een verklaring voor de koolzuurwerking uitsluitend langs osmo-

tischen weg is, gezien de rol die het complement bij de koolzuur-haemolyse vervult, wel zeer onwaarschijnlijk.

De koolzuurproeven werden ook met sera van bekend normaal en hoog cholesterine-gehalte herhaald. **Het cholesterinegehalte van serum bleek op de uitkomsten der koolzuurproeven geen invloed te hebben.**

Daar ik had gevonden, dat koolzuur een sterken invloed uitoefent op de haemolyse der erythrocyten van pat.e J, moest nagegaan worden of verschillende resultaten verkregen werden bij het werken met bloed uit de *gestuwde vene* en uit de *vingertop*. Hiertoe werd bloed afgenomen uit een gestuwde vene, uit een niet gestuwde vene en uit den vingertop. De drie soorten erythrocyten bleken zich bij de beschreven techniek op geheel dezelfde wijze te gedragen. Het is dus gerechtvaardigd bij de proeven veneus en capillair bloed te gebruiken, zonder dat bij de beoordeeling der resultaten hiermede rekening gehouden behoeft te worden.

Nu de bevorderende werking van koolzuur op de haemolyse was vastgesteld, lag het voor de hand na te gaan of ook invloed van *zuurstof* op de haemolyse vast te stellen zou zijn. Hiertoe werden de proeven zoo herhaald, dat die klokken welke met koolzuur gevuld waren, thans met zuurstof werden gevuld. **De uitslag van deze proeven was, dat geen invloed op de haemolyse, noch in bevorderenden, noch in remmenden zin kon worden aangetoond. Het bloed in zuurstofatmosfeer gedroeg zich precies als in lucht.**

De werking van *verschillende concentraties koolzuur* op de erythrocyten werd hierna onderzocht. Op de gebruikelijke wijze werden de erythrocyten-serummengsels gezet in klokken, waarin zich mengsels van koolzuur en lucht in verschillende verhoudingen bevonden. De klokken werden op 17° C gebracht en daarop 2 uren gelaten. De eerste klok bevatte een gasmengsel dat bestond uit 1 volumen koolzuur en 4 volumina lucht. De tweede bevatte 2 volumina koolzuur en 3 volumina lucht, de derde 3 volumina koolzuur en 2 volumina lucht, de vierde 4 volumina koolzuur en 1 volumen lucht. Er bleek een duidelijk verschil in haemolyse te zijn opgetreden. In het gasmengsel dat $\frac{1}{5}$ volumen koolzuur bevatte, was de haemolyse het geringst. Hierin was slechts een spoor haemolyse te zien. In ieder volgend bakje was de haemolyse sterker, naarmate het

koolzuurgehalte van het gasmengsel waarin het bakje had gestaan hooger was. De haemolyse in onverdund koolzuur was het sterkst, terwijl in de contrôleproef, waarbij het bakje in lucht had gestaan, onder overigens dezelfde omstandigheden, geen spoor van haemolyse was te zien. **Hieruit volgt dus, dat de haemolyse onder invloed van koolzuur sterker is, naarmate het koolzuurgehalte hooger is.**

Dit resultaat is niet in overeenstemming met hetgeen WEISE⁽²⁰¹⁾ heeft gevonden voor de inwerking van verschillende koolzuurconcentraties op erythrocyten, die met chinine in aanraking waren gebracht. WEISE zag nl. dat kleinere koolzuurconcentraties (20 % en 50 %) de chinine-haemolyse, zelfs in vergelijking met lucht, maar ook in vergelijking met een koolzuuratmosfeer, remmen.

SAMENVATTING EN CONCLUSIE DER KOOLZUURPROEVEN.

Zoowel bij bloed van pat. K met koude-haemoglobinurie, als bij bloed van pat.e J met een atypische haemoglobinurie, werd een invloed vastgesteld van koolzuur op de haemolyse.

Bij de koude-haemoglobinurie bleek het serum van den patient onder inwerking van koolzuur, eigen erythrocyten, maar ook normale, te haemolyseeren. Dit geschiedde bij 17° C, echter niet bij 0° C of bij 37° C.

Bij pat.e J daarentegen zagen wij dat de temperatuur en het koolzuur in dezelfde richting werken. Bij 17° C ontstaat alleen haemolyse bij aanwezigheid van koolzuur, terwijl bij 37° C, met en zonder koolzuur, haemolyse ontstaat. Dat deze twee factoren elkander inderdaad in hun werking versterken, hooren wij later (zie hoofdstuk VIII). Hier blijkt nl. dat in een bepaald stadium der ziekte, de erythrocyten alleen door samenwerking van beide factoren (37° C en koolzuur) worden gehaemolyseerd.

Als wij ons afvragen of de verschijnselen in beide gevallen (nl. koude-haemoglobinurie en atypische haemoglobinurie van pat.e J) langs denzelfden weg te verklaren zijn, dan kunnen wij ons de volgende voorstelling maken.

Bij de koude-haemoglobinurie wordt bij 17° C zeer weinig amboceptor aan de erythrocyten gebonden, zoodat sensibilisatie meestal niet aantoonbaar is. Bij 0° C bindt de amboceptor zich het sterkst, bij 37° C practisch in het geheel niet.

Het complement, dat zijn optimum heeft bij 37° C, werkt ook nog bij 17° C, alhoewel in geringe mate.

Het koolzuur nu is in staat een zoodanigen invloed op het complement uit te oefenen, dat de „affiniteit” van het complement tot gesensibiliseerde erythrocyten grooter wordt, d.w.z. dat het complement ook bij lagere temperatuur, waarbij het anders onwerkzaam zou zijn, haemolyse van gesensibiliseerde erythrocyten teweeg brengt, terwijl reeds een mindere mate van sensibilisatie voldoende is, om het complement te laten aangrijpen. Dat bij 37° C met koolzuur bij de koude-haemoglobinurie geen haemolyse plaats heeft, zou dan te verklaren zijn, doordat bij 37° C de sensibilisatie te gering is, bij 0° C daarentegen is de complementwerking te gering.

Bij pat.e J is de sensibilisatie der erythrocyten naar wij ons voorgesteld, reeds geschied. Hier versterkt het koolzuur bij 37° C nog de bij die temperatuur reeds sterke complementwerking, zoodat het voorkomt dat bij pat.e J uitsluitend haemolyse wordt gezien bij 37° C met koolzuur. Bij 17° C waarbij zonder koolzuur gewoonlijk geen haemolyse optreedt, geschiedt dit met koolzuur wèl, omdat het koolzuur de werking van het complement versterkt. **Uit de proeven bij pat.e J blijkt dus dat het koolzuur uitsluitend het complement beïnvloedt, zoodanig, dat dit ook bij lagere temperaturen en(of) op zwakker gesensibiliseerde erythrocyten inwerkt, dan het zonder koolzuur zou doen.**

De „gevoeligheid” die de koolzuurhaemolyse bij pat.e J. t.o.v. verdunning van het complement vertoont, komt ongeveer overeen met die, welke werd gevonden voor de reactie van DONATH en LANDSTEINER bij koude-haemoglobinurie. Daarentegen is de „gevoeligheid” van de koolzuur-haemolyse bij de koude-haemoglobinurie grooter, d.w.z. reeds bij geringere verdunning van het complementhoudende serum komt geen haemolyse meer tot stand, onder dezelfde voorwaarden, waaronder dit serum onverdund wel haemolyse geeft.

OPMERKING.

Toen de patient met koude-haemoglobinurie (pat.K) en de patiente met de atypische haemoglobinurie (pat.e J) eenige dagen gelijktijdig in de kliniek verbleven, ging ik na, hoe zich het serum van pat. K gedroeg t.o.v. de erythrocyten van pat.e J. Bij het verrichten van

de proef van DONATH en LANDSTEINER bleek wederom, dat de erythrocyten van pat.e J samengebracht met serum van pat. K reeds zonder voorafgaande afkoeling, op 37° C haemolyse vertoonden. Het serum van pat. K gedroeg zich dus t.o.v. de erythrocyten van pat.e J als normaal serum. Ook bij herhaling van de koolzuurproeven met serum van pat. K en erythrocyten van pat.e J werden dezelfde resultaten verkregen als bij het gebruik van normaal serum in gelijke omstandigheden of van serum van pat.e J. Ook thans trad bij 37° C sterke haemolyse op. Omgekeerd gedroegen zich de erythrocyten van pat. K gelijk aan normale erythrocyten in het serum van pat.e J, d.w.z. onder geen voorwaarde trad haemolyse op.

HOOFDSTUK VII

HAEMOLYSE EN STOLLING.

Wij hebben gezien dat de erythrocyten van pat.e J bij 37° C door versch serum worden gehaemolyseerd. De vraag doet zich voor, waarom worden de erythrocyten dezer patiente in het lichaam niet steeds gehaemolyseerd? Inderdaad zijn toch in het lichaam alle factoren aanwezig, die wij in vitro noodzakelijk en voldoende hebben gevonden voor het ontstaan van haemolyse, te weten: bloed en een temperatuur van 37° C. Toch treedt gewoonlijk in vivo geen haemolyse op, zoodat zich de vraag voordoet: hebben er veranderingen plaats in het bloed als dit het lichaam verlaat? Het ligt voor de hand, wat betreft deze verandering, in de eerste plaats aan de stolling te denken en na te gaan of wij eenig verband kunnen vaststellen tusschen het proces der stolling en dat der haemolyse.

OVERZICHT DER LITERATUUR.

Bij de bespreking der reactie van DONATH en LANDSTEINER zagen wij dat HIJMANS VAN DEN BERGH (84; 85; 86) reeds gedacht heeft aan een nauw verband tusschen beide processen. Weliswaar was vóór hem door verschillende onderzoekers [SALLE (178), HAYEM (74; 75), SIREDEY (192), GRAFE en MÜLLER (67), WIDAL (208)] opgemerkt, dat het stollingsproces tijdens den aanval van koude-haemoglobulinurie anders verliep (snelle stolling, geringe retractie van de bloedkoek, fibrinolyse) dan in de periode tusschen de aanvallen. WIDAL bracht dit in verband met zijn theorie van de *auto-anaphylactische shock*. Het was echter HIJMANS VAN DEN BERGH, die langs experimenteelen weg ook tusschen de aanvallen een samenhang tusschen haemolyse en stolling vaststelde. Zooals wij vroeger zagen vond deze schrijver, dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER, die positief uitvalt met serum dat bij 37° C is ontstaan, negatief uitvalt met serum dat bij kamertemperatuur is uitgeperst. HIJMANS VAN DEN BERGH kon dit niet verklaren door aan te nemen, dat de

amboceptor uit het serum, bij kamertemperatuur aan de erythrocyten in het stolsel gebonden zou zijn, op grond van de volgende overwegingen. Immers ware deze meening juist, dan moest:

1° het bij 17° C gestolde bloed, later bij een temperatuur van 37° C gebracht, haemolyse vertoonen, hetgeen het nièt deed;

2° de bloedkoek met versch serum voorzien bij 37° gehaemolyseerd worden, ook dit geschiedde niet;

3° de temperatuur van 17° C laag genoeg zijn om binding van den amboceptor uit serum, dat bij 37° C was ontstaan, te bewerken.

De reactie van DONATH en LANDSTEINER waarbij inplaats van tot 0° C slechts tot 17° C werd afgekoeld, viel echter negatief uit.

Volgens HIJMANS VAN DEN BERGH is voor het door hem gevonden verschijnsel geen andere verklaring mogelijk, dan dat de amboceptor bij stolling op een temperatuur van 37° C ontstaat.

Deze proeven zijn later verscheiden malen herhaald en hebben steeds bevestiging gevonden [ROSIN (¹⁶⁹), LINDBOM (¹¹⁷), KUMAGAI (⁹⁹; ¹⁰⁰), SALÉN (¹⁷⁴), DONATH en LANDSTEINER (⁴¹), WEIL en STIEFFEL (¹⁹⁹; ²⁰⁰), HANNEMA en RYTMA (⁷¹)]. Geen der genoemde schrijvers wenscht echter de consequentie welke HIJMANS VAN DEN BERGH uit deze proeven trekt, te onderschrijven, alhoewel hun argumenten hiertegen niet overtuigend zijn. Zoo achten sommigen deze veronderstelling onjuist, omdat zij, werkende met plasma in plaats van serum, de reactie van DONATH en LANDSTEINER wel positief vonden. Ook de oorspronkelijke proeven van DONATH en LANDSTEINER (³⁶) werden ten deele met oxalaat-plasma verricht. ROSIN en WEINBERG nemen een binding van de amboceptor met de bloedkoek, of met de daarin aanwezige erythrocyten aan. DONATH en LANDSTEINER achten een verzwakking van het haemolysine door stolling bij 17° C waarschijnlijker.

De uitkomsten van de reactie van DONATH en LANDSTEINER met plasma blijken — gelijk wij reeds vermeldden — zeer tegenstrijdig. HIJMANS VAN DEN BERGH (⁸⁴; ⁸⁵; ⁸⁶) vindt de reactie steeds negatief als hij met oxalaat-bloed werkt, hetgeen zeer goed met zijn hypothese in overeenstemming is. Ook SALÉN (¹⁷⁴) vindt, dat erythrocyten, die in het plasma worden afgekoeld niet, of althans zeer weinig, worden gesensibiliseerd. Hij heeft de proeven van HIJMANS VAN DEN BERGH geheel kunnen bevestigen en evenmin als laatstgenoemde gevonden, dat de bloedkoek, die bij 17° C is ontstaan, zich als gesen-

sibiliseerd gedraagt. Hij neemt aan, dat bij stolling bij deze lagere temperatuur zoodanige physische veranderingen in het bloed optreden, dat de sensibiliseerende eigenschappen (amboceptor) hiervan verloren gaan.

Dat veranderingen in het complement door stolling bij deze temperatuur zouden kunnen ontstaan, zooals LINDBOM die veronderstelt, meent SALÉN te kunnen uitsluiten, omdat toevoeging van versch serum de resultaten niet verandert. WEIL en STIEFFEL (198; 199; 200) vinden, als zij met plasma werken, nu eens wél dan weer géén positieve reactie van DONATH en LANDSTEINER, terwijl deze met serum verricht, steeds positief uitvalt.

PROEVEN BIJ PATIENT K.

Bij mijn patient met koude-haemoglobinurie heb ik de resultaten van HIJMANS VAN DEN BERGH kunnen bevestigen. Ook bij dezen patient viel de reactie van DONATH en LANDSTEINER steeds negatief uit als ik met oxalaat-plasma werkte. Eveneens vielen de koolzuurproeven, met plasma verricht, geheel negatief uit. Als oxalaat wordt toegevoegd aan serum dat bij 37° C is ontstaan, ziet men ook weer de haemolyse (die anders bij 17° C met koolzuur optreedt) uitblijven, m.a.w. ook de koolzuurhaemolyse wordt door toevoeging van oxalaat geremd. Wij kunnen dus zeggen dat oxalaat-serum (of -plasma) zich bij de koolzuurhaemolyse evenals serum gedraagt dat bij 17° C is ontstaan en evenals oxalaat-plasma, bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER. Hoe wij ons dit gebeuren voorstellen, zullen wij aan de hand van daartoe bij pat.e J verrichte proeven, uiteenzetten.

Bij de *atypische gevallen* van haemoglobinurie vindt men over het verband tusschen stolling en haemolyse geen mededeelingen, die eenig licht op dit vraagstuk werpen. In de meeste gevallen wordt na stolling bij 37° C geen haemolyse gevonden. Alleen ENNEKING⁽⁵¹⁾ vermeldt in dit opzicht zeer uiteenlopende resultaten: soms vindt hij na stolling bij 37° C haemolyse, dan weer niet. Ook bij het onderzoek van erythrocyten met serum van zijn patient bij 37° C, vindt hij den eenen keer haemolyse een anderen keer weer niet. In ieder geval moet opgemerkt worden, dat hij met citraat-bloed werkende (hiervan publiceert hij twee proeven) nooit haemolyse heeft gezien.

PROEVEN BIJ PATIENTE J.

Reeds in het begin van het onderzoek bij pat.e J was het opgevallen dat de haemolyse niet tot stand kwam, als met oxalaat-bloed werd gewerkt. Dit was de reden, dat ik voor de proeven inplaats van oxalaat-bloed steeds gewasschen erythrocyten en serum gebruikte. Ook bleek eenige malen in bepaalde perioden van de ziekte (zie Hoofdstuk VIII) bloed van pat.e J, dat bij 37° C gestold was, haemolytisch serum te hebben uitgeperst, terwijl in een mengsel van erythrocyten en serum, dat bij 17° C was ontstaan, bij dezelfde temperatuur, geen haemolyse optrad.

Uitgaande van de veronderstelling, dat de stolling invloed heeft op de haemolyse, onderzocht ik de werking van *stoffen die de stolling remmen*, zooals natrium oxalaat, natrium citraat, natrium fluoride, hirudine en heparine. Inderdaad bleek hetgeen voor oxalaat reeds was gevonden ook voor alle andere genoemde stoffen van toepassing, alhoewel de wijze, waarop deze middelen de stolling remmen, zeer uiteenloopt. Welke dezer stoffen ook aan bloed werd toegevoegd, nooit was er een spoor van haemolyse in het plasma waar te nemen, ook al liet men het bloed gedurende 2 uren bij 37° C staan. De haemolyse door koolzuur werd eveneens geheel geremd. Men zou deze haemolyse-remmende werking kunnen toeschrijven aan een verandering der erythrocyten onder den invloed van deze stoffen. Zoo zou men zich kunnen voorstellen, dat de erythrocyten-membraan er een soort looiing door ondergaat of dat de amboceptor, er zoodanig door veranderd wordt, dat hij niet meer in staat is zijn werk te verrichten. Indien dit waar was, dan zouden de erythrocyten echter na in zulk plasma vertoefd te hebben, ook niet meer haemolyseerbaar moeten zijn in serum, waarin zich geen stolling-remmende stoffen bevinden. Om na te gaan of dit zoo is, pipetteerde ik het plasma, waarin zich telkens een der stolling-remmende middelen bevond, af en verving dit door versch serum, zonder dat dus de erythrocyten waren uitgewasschen. De op deze wijze behandelde erythrocyten van pat.e J bleken zich t.o.v. versch serum in het geheel niet anders te gedragen dan direct in physiologische keukenzoutoplossing opgevangen en uitgewasschen erythrocyten. De erythrocyten van pat.e J ondergaan dus door de aanwezigheid van stolling-remmende stoffen in het plasma geen invloeden welke hun gedrag t.o.v. serum doen veranderen.

Het is bekend, dat hypertonische zoutoplossingen een remmenden invloed uitoefenen op de haemolyse door serum, zoodat het niet onmogelijk lijkt, dat de remmende invloed, dien sommige stoffen op de haemolyse hebben, het gevolg is van hun osmotische werking. Zooals vanzelf spreekt, hebben de gebruikte zouten, zooals natriumoxalaat -fluoride en -citraat, een, alhoewel geringe osmotische werking. Voor heparine en hirudine zal de osmotische werking zeker geen rol spelen.

Ik ging de osmotische werking der door mij gebruikte zouten na, door hen in de gebruikte concentraties toe te voegen aan een reeks van erythrocyten-suspensies in hypotonische keukenzoutoplossingen, zooals bij resistentie-bepalingen gebruikelijk is. Toevoeging van oxalaat bleek geen invloed op de resistentie te hebben. Daarna werd de osmotische werking der gebruikte stoffen door middel van de haematocrit-methode onderzocht. Daarbij bleek serum, dat 0,2 % oxalaat bevatte, een duidelijke vermindering van het volume der erythrocyten (12 %) te hebben teweeg gebracht. Voegde ik echter bij 5 c.c. door defibrineeren verkregen plasma, 10 mgr heparine of hirudine (hetgeen veel meer is dan ooit voor de haemolyseproeven was gebruikt, waarbij steeds 10 mgr aan ongeveer 20 c.c. bloed waren toegevoegd), dan was nooit eenige schrompeling van de erythrocyten waar te nemen. Wij mogen dus wel aannemen, dat de haemolyse-remmende werking noch van heparine, noch van hirudine verklaard kan worden langs osmotischen weg.

Wij zagen, dat stolling-remmende middelen de haemolyse, die bij 37° C, maar ook die welke bij 17° C, onder inwerking van koolzuur op erythrocyten en serum van pat.e J ontstaat, remmen. Deze remming wordt ook waargenomen, wanneer na stolling aan het serum (van pat.e J of aan normaal serum) één dezer remmende stoffen wordt toegevoegd. De erythrocyten ondergaan geen verandering door toevoeging van een dezer stoffen. De stolling-remmende stoffen moeten dus wel hun werking *op het serum* uitoefenen.

Deze werking kan daarin bestaan, dat zij het ontstaan van een stof bij stolling verhindert, welke stof voor de haemolyse noodzakelijk is. Dit is echter onwaarschijnlijk, daar door toevoeging van deze stoffen aan het reeds ontstane serum de haemolyse ook geremd wordt. Hierdoor wordt het waarschijnlijk dat de stoffen, welke

stolling-remmenden invloed uitoefenen, zulks op een in het serum aanwezige stof doen. Wij zagen dat complement de stof is, die de haemolyse van de erythrocyten van pat.e J bewerkt, zoodat het voor de hand ligt aan te nemen, dat de stoffen welke de stolling remmen de haemolyse daardoor tegen gaan, *dat zij het complement in zijn werking belemmeren*. Natuurlijk valt hier niet uit af te leiden, dat het complement bij stolling zou ontstaan of iets met de stolling te maken zou hebben, daar het zeer goed mogelijk is, dat de genoemde stolling-remmende middelen een gemeenschappelijke eigenschap bezitten, waardoor zij de stolling tegengaan, terwijl dezelfde of een andere eigenschap ook het complement remt, zonder dat het complement en de bij stolling benodigde stof identiek behoeven te zijn. Toch is het verleidelijk tusschen beide processen verband aan te nemen, alhoewel het bewijs dienaangaande ontbreekt.

Reeds BORDET⁽¹⁶⁾, GENGOU⁽⁵⁹⁾ en GAY⁽¹⁷⁾ kenden de anticomplementaire werking van natrium citraat. Later is deze werking o.a. door de studie van HIRSCHFELD en KLINGER^(78; 79) en HERZFELD en KLINGER⁽⁷⁷⁾ duidelijker geworden. Volgens deze onderzoekers hangt de complementwerking ten nauwste samen met de colloïd-chemische stabiliteit der verschillende complement-bestanddeelen, zoodat zeer vele eigenschappen van het complement verklaard kunnen worden door verandering in de stabiliteit der eiwitten, welke het complement-middenstuk en -eindstuk vormen. O.m. zouden die invloeden, welke de stabiliteit verhoogen, de complementwerking tegengaan. Ook de werking van citraat en oxalaat zou volgens deze schrijvers berusten op een stabiliseerenden invloed, die deze stoffen op de bestanddeelen van het complement uitoefenen. Volgens hen verhinderen deze zouten de persensibilisering d.w.z. het neerslaan van het complement middenstuk op de gesensibiliseerde erythrocyten. Doordat volgens FUCHS^(57; 58) het complement-middenstuk identiek zou zijn met het prothrombine, zou het de gemeenschappelijke factor kunnen zijn, welke zoowel voor stolling, als voor haemolyse aansprakelijk is. Indien deze veronderstelling waarheid bevat, dan zouden we dus in het complement-middenstuk de stof moeten zien, welke in haar werking wordt belemmerd, wanneer men middelen toevoegt, welke de stolling remmen.

Hoe dit ook zij, ik meen te mogen zeggen, dat **de werking der stof-**

fen, welke ik gebruikte om stolling te remmen, moet worden toegeschreven aan de werking, welke zij op het complement uitoefenen. Daardoor is het complement, zelfs onder inwerking van koolzuur, niet meer in staat de erythrocyten van pat.e J te haemolyseeren.

Zijn de andere feiten, welke bij de patienten K en J gevonden werden, met deze veronderstelling in overeenstemming?

Wij zagen immers dat de reactie van DONATH en LANDSTEINER gedaan met oxalaat-bloed van pat. K, negatief uitviel; dit kan door remming van het complement worden verklaard.

Bloed van pat.e J dat bij 37° C stolde, was haemolytisch, terwijl erythrocyten van pat.e J gebracht in eigen serum dat bij 17° C was gestold, bij 37° C geen haemolyse vertoonen. Ik heb dit herhaalde malen kunnen waarnemen. Deze bevindingen zouden er voor kunnen pleiten, dat er zich minder complement (middenstuk) in het serum (ontstaan bij een temperatuur van 17° C) bevindt, of dat het serum, dat bij een temperatuur van 17° C is uitgeperst, complement bevat, dat minder actief is dan hetgeen zich in serum bevindt, dat bij 37° C is ontstaan. **Het wordt dus waarschijnlijk, dat door stolling bij 17°C een quantitative of kwalitatieve verandering van het complement optreedt.**

De werkzaamheid van het complement wordt niet uitsluitend bepaald door de temperatuur waarbij de stolling plaats heeft gehad, maar ook door de werking van toegevoegde stoffen, zooals diegene welke stolling remmen.

Toch zijn er nog meer factoren, welke op de werkzaamheid van het complement invloed uitoefenen; zooals wij vroeger zagen behoren daartoe ook de aard of de graad van sensibiliseering der roode bloedlichaampjes.

Hiervoor pleit, dat de complementwerking, zooals deze in het haemolytisch systeem tot uiting komt, geen merkbaren invloed ondergaat, wanneer een middel wordt toegevoegd, dat de stolling remt.

CONCLUSIE, NAAR AANLEIDING VAN BEKENDE FEITEN BETREFFENDE KOUDE-HAEMOGLOBINURIE.

De vraag is thans in hoeverre kunnen wij eenig verband vinden van de feiten, welke ons bekend zijn omtrent een samenhang tus-

schen haemolyse en stolling bij gevallen van koude-haemoglobinurie, met die, welke wij bij de atypische haemoglobinurie van pat.e J hebben leeren kennen.

In het begin van dit hoofdstuk zagen wij, dat eenige waarnemingen aan bloed van pat.e J, betreffende den samenhang tusschen stolling en haemolyse konden worden bevestigd.

Bij toevoeging van oxalaat viel de reactie van DONATH en LANDSTEINER evengoed negatief uit met bloed van pat. K, als de haemolyse van bloed van pat.e J hierdoor achterwege bleef.

De koolzuurhaemolyse werd zoowel bij pat. K als bij pat.e J geremd, wanneer men stoffen toevoegde, welke de stolling tegen gaan of indien men met plasma werkte.

Wij herinneren ons, dat bij koude-haemoglobinurie de reactie van DONATH en LANDSTEINER negatief kan uitvallen, indien deze gedaan wordt met serum *dat bij 17° C is ontstaan*, terwijl de reactie met serum *dat bij 37° C is uitgeperst* dan positief is. In overeenstemming daarmee kon ik aantoonen, dat bloed van pat.e J hetwelk *bij 37° C gestold was*, haemolytisch serum had uitgeperst, terwijl haar erythrocyten welke (na te zijn gewasschen) met eigen serum, *dat bij 17° C was ontstaan*, werden samengebracht, later bij een temperatuur van 37° C geen haemolyse vertoonden.

Het is dus niet uit de lucht gegrepen, als wij veronderstellen dat bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER, evenals bij de haemolyse van bloed van pat.e J bij 37° C, soortgelijke processen in het spel zijn. Wij willen nu zien in hoeverre de voorstelling, die wij ons naar aanleiding van de proeven bij pat.e J gemaakt hebben, ook van toepassing zijn op de koude-haemoglobinurie. Bij pat.e J bleek de invloed, dien de stolling-remmende middelen op de haemolyse uitoefenen, te berusten op hunne werking op het complement.

Wat nu de koude-haemoglobinurie betreft, zoo is de negatieve uitslag der reactie van DONATH en LANDSTEINER, indien stolling-remmende middelen worden toegevoegd, op dezelfde wijze te verklaren als bij pat.e J, daar de remmende werking dezer stoffen op het complement, ook de haemolyse bij de reactie van DONATH en LANDSTEINER verhindert.

Ook voor de koolzuurhaemolyse is complement noodig, zooals door HIJMANS VAN DEN BERGH werd aangetoond. Dat dit comple-

ment ook bij onze koolzuurproeven bij pat. K door stolling-remmende middelen wordt geremd, spreekt vanzelf.

Hoe is het te verklaren, dat het bij 17° C gevormde serum van een lijder aan koude-haemoglobinurie soms een negatieve reactie van DONATH en LANDSTEINER geeft, terwijl de reactie met serum dat op 37° C is ontstaan, positief uitvalt? Ook dat kan m.i. door een verandering van het complement worden verklaard.

Dat dit verschijnsel niet berust op een binding van de amboceptor bij 17° C aan de bloedkoek kon reeds HIJMANS VAN DEN BERGH waarschijnlijk maken. Hierdoor kwam hij tot de hypothese dat de amboceptor door stolling bij 37° C zou ontstaan. Als wij nu een overeenkomst met het geval van atypische haemoglobinurie (pat.e J) mogen veronderstellen, waarbij ik, zooals gezegd, een soortgelijk verschijnsel heb waargenomen, dan wordt de hypothese, dat de amboceptor bij de stolling ontstaat zeer onwaarschijnlijk. Wij zagen immers, dat bij pat.e J de werking van de stolling-remmende middelen beperkt is tot een werking op het complement, terwijl het voor de reeds met amboceptor beladen erythrocyten, dus ook voor de amboceptor zelf, geheel onverschillig moet zijn, bij welke temperatuur het serum ontstaan is en of er al dan geen stolling-remmende middelen werden toegevoegd. Want, ten overvloede zij dit nog eens opgemerkt, de erythrocyten die met stolling-remmende middelen in aanraking zijn geweest, vertoonen geen verandering van gedrag t.o.v. serum, dat deze stolling-remmende middelen niet bevat.

De volgende waarneming van LINDBOM⁽¹¹⁷⁾ is geheel in overeenstemming met de voorstelling, dat het verschil in gedrag van serum, dat bij 37° C is ontstaan t.o.v. dat hetwelk bij 17° C is uitgeperst, berust op een verandering van het complement. Deze schrijver zag n.l. de reactie van DONATH en LANDSTEINER in een geval van koude-haemoglobinurie slechts zwak positief uitvallen, indien deze reactie met serum werd verricht, dat bij 17° C was ontstaan; voegde hij echter complement toe, dan viel de reactie van DONATH en LANDSTEINER sterk positief uit.

Dat SALÉN⁽¹⁷⁴⁾ er niet in slaagde door toevoeging van complement aan het serum, dat bij 17° C is ontstaan, zijn volledige werking terug te geven, kan op twee oorzaken berusten: ten eerste vermeldt hij niet bij welke temperatuur het toegevoegde serum is ontstaan,

zoodat dit wel dezelfde eigenschappen zou kunnen missen, t.o.v. de complementfunctie, als het serum van de patient met koude-haemoglobinurie, dat bij 17° C is ontstaan; ten tweede kan het zijn dat SALÉN te weinig complement toevoegde (hij voegde slechts $\frac{1}{5}$ volumen toe).

SAMENVATTING EN CONCLUSIE.

Niettegenstaande er bij oppervlakkiger beschouwing een groote tegenstelling bestaat wat betreft het gedrag van bloed van een patient aan koude-haemoglobinurie en dat van pat.e J, met atypische haemoglobinurie, is het nu gebleken, dat er toch verschillende punten van overeenkomst bestaan. Wij zouden dit kort zoo kunnen formuleeren, dat bij bloed van pat.e J de *erythrocyten reeds gesensibiliseerd* zijn, terwijl dit bij de koude-haemoglobinurie eerst onder inwerking van afkoeling geschiedt. Voor beide gevallen moet worden aangenomen, **dat het verband dat er bestaat tusschen haemolyse en stolling, gezocht moet worden in het complement** en dat de werking, die de stolling-remmende middelen op de haemolyse in beide gevallen uitoefenen, moet worden opgevat als een werking op het complement. Deze werking berust wellicht op een minder werkzaam maken van het complement (stabiliseeren), terwijl het complement in serum, dat bij lagere temperatuur is ontstaan, minder werkzaam is dan dat op 37° C is uitgeperst.

INVLOED VAN EENIGE ORGAAN-EXTRACTEN OP DE HAEMOLYSE.

Dezelfde remmende werking als voor oxalaat, fluoride, citraat, heparine en hirudine was gevonden, vond ik ook voor een bepaald *leverextract* nl. het *campolon*. Andere leverextracten, zooals pernaemon en leverextract van CHOAY, bleken deze werking merkwaardigerwijze niet te bezitten.

Daar, zooals bekend, de milt in het algemeen bij haemolytische processen een belangrijke rol speelt en tevens in vele opzichten als antagonist van de lever wordt beschouwd, ging ik na of er een invloed van *miltextracten* op de haemolyse der erythrocyten van pat.e J was aan te toonen. Nadat ik mij ervan overtuigd had, dat 6 druppels miltextract CHOAY, toegevoegd aan 2 druppels normale erythrocyten-suspensie in 15 druppels normaal serum bij 0° C, 17° C en

37° C (al dan niet in een koolzuuratmosfera), deze erythrocyten niet haemolyseerden, herhaalde ik dezelfde proeven met de erythrocyten van pat.e J. Het bleek dat de toevoeging van 6 druppels miltextract, noch een remmenden, noch een bevorderenden invloed op de haemolyse had.

BLOEDINGSTIJD EN STOLLINGSTIJD.

Naar aanleiding van het verband tusschen de bloedstolling en de haemolyse van de erythrocyten van pat.e J leek het van belang na te gaan of bij deze patiente met de gebruikelijke methoden afwijkingen konden worden gevonden wat betreft den bloedingstijd en den stollingstijd. Ik bepaalde den stollingstijd door middel van de capillair methode. De stolling begon na \pm 2 minuten en was volledig na \pm 8 minuten. De bloedingstijd werd met de methode van DUKE bepaald en met die bij normale personen vergeleken. Ik vond steeds dat de bloedingstijd iets verlengd was t.o.v. normale personen van gelijk geslacht en ongeveer denzelfden leeftijd. Terwijl de bloedingstijd bij normale personen zelden langer dan $\frac{1}{2}$ tot 1 minuut werd gevonden, bleek deze bij pat.e J steeds ongeveer 4 minuten te bedragen.

HOOFDSTUK VIII

VERLOOP DER ZIEKTE BIJ PATIENTE J.

Tot nu toe hebben wij ons, na een korte beschrijving van het klinische beeld dat pat.e J vertoonde, vooral bezig gehouden met de vraag, in hoeverre zich bij serologisch onderzoek van deze patiente afwijkende verschijnselen hebben voorgedaan t.o.v. normalen en t.o.v. lijders aan koude-haemoglobinurie. Wij zagen, hoe in het beschreven geval de afwijkingen, die aanleiding hadden gegeven tot een haemoglobinurie, in de erythrocyten worden aangetroffen, in tegenstelling met hetgeen voor de koude-haemoglobinurie was gevonden, waarbij de specifieke afwijking in het serum optrad. Wij zullen ons in dit hoofdstuk bezig houden met het verloop van de ziekte, zooals wij die bij pat.e J in staat waren waar te nemen.

Zooals gezegd, had pat.e J die 29 September 1932 in de kliniek werd opgenomen wegens aanvalsgewijs optredende haemoglobinurie, den eersten aanval in December 1928 doorgemaakt. Den tweeden aanval zou zij volgens haar zeggen December 1931 gehad hebben, de daaropvolgende een jaar later in Januari 1932. Hierna herhaalden zich de aanvallen ongeveer om de 3 maanden, zoodat zij in Maart, Juni en September een aanval van haemoglobinurie had doorgemaakt, toen zij, kort na den laatsten aanval, in de kliniek werd opgenomen.

Zooals gezegd, werden er bij opname geen duidelijke afwijkingen gevonden, met name bevatte de urine geen bloedkleurstof of derivaten daarvan. Wel bracht het serologisch bloedonderzoek het afwijkende gedrag van de erythrocyten t.o.v. serum bij 37° C en bij 17° C met koolzuur aan het licht. Zij bleken bij deze voorwaarden zonder voorafgaande afkoeling gehaemolyseerd te worden, terwijl dit niet gebeurde bij 0° C (met of zonder koolzuur) en bij 17° C, zonder koolzuur. Deze eigenschappen werden herhaalde malen op-

nieuw vastgesteld. Ook werd dagelijks de urine onderzocht. Nooit werden hierin bloedkleurstof of derivaten daarvan aangetroffen, totdat patiente in den morgen van 28 December 1932 om 6 uur zeer donkere urine loosde. Patiente voelde zich „griepig”, de temperatuur steeg tot 38° C. Zij vertoonde een lichtgele tint, ook de sclerae waren eenigszins geel. De urine bevatte duidelijk haemoglobine, slechts een spoor methaemoglobine; de urobiline-reactie was zwak positief.

Om 7,30 uur loosde patiente opnieuw urine, waarin geen spoor haemoglobine, of derivaten daarvan meer waren te vinden, evenmin als in de later op dezen dag geloosde urine.

Den volgenden morgen bleek de urine, die om 4,30 uur geloosd was, weer zeer donker, evenals die van 6 uur. Om 8,30 uur was in de urine geen spoor van haemoglobine meer te zien. Dit bleef zoo tot des namiddags 15,30 uur, toen de urine wederom zeer donker gekleurd was. De porties, die om 17,50 uur en 19,— uur waren geloosd, hadden dezelfde kleur. Ook de ochtend-urine van den 30sten bevatte weer bloedkleurstof, alhoewel niet in zoo sterke mate, als dit de vorige dagen het geval was geweest. Dien dag om 11 uur was de urine weer geheel helder, ook spectroscopisch werden geen afwijkingen gezien. Nadat ten slotte de urine, die om 15,50 uur geloosd werd, weer eenige kleurstof bevatte, bleef de urine geheel normaal tot in den nacht van 1 op 2 Januari 1933 om 1,30 uur de urine weer zeer donker gekleurd was. Den 2den Januari werd door patiente tot 10 uur donkere urine geloosd. Na dien dag werden geen kleurveranderingen in de urine meer gezien.

In overeenstemming met wat SCHEEL⁽¹⁸²⁾ e.a. hadden gevonden, was het ook mij opgevallen, dat de urobilinereactie in die porties urine, die geen haemoglobine of derivaten daarvan bevatten, zeer sterk positief was.

Alle haemoglobine-houdende porties urine werden nauwkeurig gesedimenteerd en op de aanwezigheid van erythrocyten onderzocht. Het sediment bevatte nooit vormbestanddeelen. In die urineporties, die haemoglobine bevatten, was de kookproef op eiwit positief. Ook werd naast haemoglobine in de urine koproporphyrine aangetoond.

Ik ging onder het microscoop de werking van haemoglobine-houdende urine op de erythrocyten van patiente en van normale

personen na, om te zien of deze urine genoemde erythrocyten zou haemolyseeren of anderszins veranderen. Dit bleek niet het geval te zijn. De erythrocyten werden door de urine niet zichtbaar aangestast, het soortelijk gewicht van de urine bij een aanval bedroeg 1018.

ONDERZOEK NAAR HET BESTAAN VAN HAEMOGLOBINAEMIE TIJDENS DEN AANVAL.

Tijdens den aanval werd patiente bloed afgenomen, gedeeltelijk ter verkrijging van serum, gedeeltelijk werd het in physiologische keukenzoutoplossing opgevangen, zooals ik dat gewend was te doen. Het bloed werd direct bij 0° C weggezet, waar het bleef staan totdat voldoende serum bleek uitgeperst. Na stolling op 0° C bleek het uitgeperste serum niet haemolytisch te zijn. Naar aanleiding van deze waarneming moet een enkel woord gezegd worden omtrent de beteekenis, die aan het vinden van haemoglobinaemie, vooral bij de koude-haemoglobinurie is toegekend.

Reeds in de inleiding zagen wij hoe KOBERT en KUESSNER^(95; 102) de eersten waren, die vrij haemoglobine in het bloed bij een patient met koude-haemoglobinurie tijdens den aanval vonden en hoe deze vinding een grooten invloed op de voorstelling over het ontstaan van de haemoglobinurie uitoefende. Terwijl bij de meeste oudere theorieën, wat betreft de plaats waar de haemolyse tot stand kwam, aan de nieren werd gedacht, kreeg nu „de haematogene theorie” meer aanhangers. Nog meer werd men van den haematogenen oorsprong overtuigd door de proef van EHRLICH, en toen tenslotte DONATH en LANDSTEINER het haemolysine aantoonde, dat bij de koude-haemoglobinurie zoo'n groote rol speelt, waren zelfs de meest hardnekkige tegenstanders van de „haematogene theorie” (HAYEM e.a.) voor deze gewonnen. Toch gelukte het lang niet steeds in het serum of plasma tijdens den aanval haemoglobine aan te toonen [HAYEM^(74; 75), LÉPINE^(110; 111), CHOROCHLOW⁽³⁰⁾, HIJMANS VAN DEN BERGH^(84; 85; 86), HERTZ en MAMROTH⁽⁷⁶⁾, ROSIN⁽¹⁶⁹⁾, GILBERT, CHABROL en BÉNARD^(63; 64)] zooals men dit zou verwachten als men aanneemt, dat de haemolyse in de bloedbaan plaats heeft.

Als wij ons afvragen, welke bevinding meer waarde heeft, het wel of het niet vinden van haemoglobine in het serum bij den aanval,

dan blijkt, dat bij het verkrijgen van beide uitkomsten, fouten gemaakt kunnen worden.

Bij het wèl vinden van haemoglobine kan een fout daardoor gemaakt worden, dat de „haemoglobinaemie” in vitro ontstaat door de wijze, waarop het bloed is behandeld. Het kan nl. vóór of tijdens de stolling aan meer of mindere afkoeling blootgesteld zijn geweest, zoodat dan onwillekeurig de reactie van DONATH en LANDSTEINER werd gedaan. Toch zijn er een aantal onderzoeken verricht, waarbij deze technische fout zeker werd vermeden en toch haemoglobinaemie werd gevonden (KUMAGAI en INOUÉ^(99; 100), GRAFE en MÜLLER⁽⁶⁷⁾, MEYER en EMMERICH^(133; 134), SALÉN⁽¹⁷⁴⁾ e.a.).

Ook bij het niet vinden van haemoglobinaemie kunnen echter fouten gemaakt worden. Vooral door de onderzoeken van JONES⁽⁷¹⁾ en KAZNELSON⁽⁹³⁾ blijkt, dat indien er vrij haemoglobine in het serum circuleert, dit er zeer spoedig weer uit verdwenen kan zijn door uitscheiding en omzetting in bilirubine. Het tijdstip, waarop het onderzoek gebeurt, moet dus zoo gekozen zijn, dat de kortdurende haemoglobinaemie juist wordt aangetroffen. Wacht men met onderzoek totdat de haemoglobinurie voor den dag komt, dan is het niet uitgesloten, dat het haemoglobine reeds uit het serum verdwenen is.

Een geheel andere vraag is die: bewijst het vinden van haemoglobinaemie, dat er inderdaad haemolyse in de bloedbaan plaats heeft? Zeer waarschijnlijk niet. Bij de marsch-haemoglobinurie, waarbij de meeste onderzoekers een locale oorzaak voor de haemolyse in de nieren aannemen, wordt zeer vaak haemoglobinaemie gevonden. De voorstelling, dat door een plaatselijke haemolyse het haemoglobine in de circulatie kan geraken, kan zeker niet buiten beschouwing worden gelaten.

Wij zien dus, dat het al of niet vinden van haemoglobinaemie ons niet verder brengt, wat betreft het opsporen van de plaats waar de haemolyse geschiedt. De afwijkingen, die bij de koude-haemoglobinurie in het serum zijn gelegen, maar vooral de proef van EHR-
LICH pleiten ervoor, dat het bloed zeer zeker factoren bevat, die bij het ontstaan van de haemoglobinurie een rol spelen.

De nierverschijnselen, zooals pijn in de lendenen, albuminurie en cylindrurie, zouden allen reeds door uitscheiding van haemoglobine kunnen worden verklaard, daar zij immers ook bij de vroeger toegepaste schapenbloedtransfusies werden waargenomen. Den laat-

sten tijd zijn er echter feiten aan het licht gekomen, die pleiten voor een actieve rol, die de nier bij de uitscheiding van haemoglobine speelt. BINGOLD (^{9; 10; 11}) toonde nl. aan, dat bij haemoglobinurie het uitgescheiden haemoglobine, wat betreft belangrijke eigenschappen, verschilt van het haemoglobine dat in de bloedbaan circuleert. Volgens dezen schrijver is het uitgescheiden haemoglobine katalase-arm d.w.z. bij toevoeging van waterstofperoxyde heeft er geen, althans zeer weinig, ontleding hiervan plaats, terwijl haemoglobine, hetwelk niet de nier gepasseerd is, sterk ontledende werking op waterstofperoxyde uitoefent. BINGOLD (^{9; 10; 11}) neemt aan, dat ook onder physiologische omstandigheden, de nier een belangrijke rol speelt bij de afbraak van haemoglobine.

Het onderzoek naar haemoglobinaemie bij atypische haemoglobinurie kent soortgelijke moeilijkheden, als bij de koude-haemoglobinurie zijn genoemd. De technische fouten, die gemaakt kunnen worden bij de beoordeeling hiervan, zijn echter eenigszins verschillend van die bij de koude-haemoglobinurie, reden waarom ik even hierbij wil stilstaan.

Uit den aard der zaak speelt een onopzettelijke afkoeling als bron van fouten hierbij geen rol, integendeel, wij hebben bij pat.e J gezien, dat er soms haemolyse bij stolling op 37° C optreedt, zonder dat wij hieruit tot een haemoglobinaemie mogen concludeeren, daar wij zagen dat gelijktijdig afgenomen bloed dat bij 0° C gestold was, geen haemoglobine bevatte. Alle opgaven in de literatuur, waarbij geen vrij stollingstemperatuur werd vermeld of waarbij niet met oxalaatbloed of met zeer snel gecentrifugeerd bloed is gewerkt, zijn dus aan kritiek onderhevig, wat betreft de conclusie over het al dan niet bestaan van haemoglobinaemie. ENNEKING (⁵¹) bijv. concludeert als volgt: „nu blijkt duidelijke haemoglobinaemie te bestaan. Het bij 37° C gestolde bloed heeft sterk rood gekleurd serum uitgeperst”. Ook in andere gevallen zien wij hieromtrent onduidelijke mededeelingen [IGLAUER en FRENREISZ (⁸⁹), GIFFIN (⁶¹)].

Een tweede verschil t.o.v. de koude-haemoglobinurie is, dat men niet in staat is bij de atypische haemoglobinurie een aanval op te wekken, zoodat het praktisch zeer moeilijk wordt (vooral als de aanvallen eenigszins onregelmatig optreden, zooals dit bij pat.e J het geval was) bij het allereerste begin van den aanval het bloed op haemoglobinaemie te onderzoeken. Een negatief resultaat, ver-

kregen na het loozen van de eerste haemoglobinehoudende portie, is m.i. waardeloos, daar wij zagen, hoe snel het haemoglobine reeds niet meer vrij in de circulatie wordt aangetroffen [JONES⁽⁹¹⁾]. Toch is bij de atypische haemoglobinurie, haemoglobinaemie zonder twijfel aangetoond door SALÉN. Ook bij de atypische haemoglobinurie zijn feiten bekend, die erop wijzen, dat ook hierbij de nier een belangrijke rol speelt. Zoo wordt in bijna alle gevallen, waarbij obductie heeft plaats gehad, een sterke siderosis in de nieren aangetroffen, terwijl een siderosis van lever en milt ontbreekt. [MACHIAFAVA^(126; 127; 128), BARTA en GÖRÖG⁽⁵⁾, SALÉN, ENNEKING⁽⁵¹⁾].

Als wij tot de bespreking der *eigen resultaten van het onderzoek bij pat.e J* overgaan, dan moet direct worden opgemerkt, dat in dit geval het genoemde bezwaar, dat de aanvallen zeer onregelmatig optraden, een overwegende rol gespeeld heeft. Ik ben er nl. uit bovenstaande reden niet in geslaagd, bloed te onderzoeken, voordat de eerste haemoglobinehoudende portie urine werd geloosd. Bij bloedonderzoek, hetwelk zooals gezegd na de haemoglobinurie geschiedde, heb ik geen haemoglobine kunnen vinden, hetgeen met het oog op den korten tijd dat haemoglobine vrij in de bloedbaan kan circuleeren, mij niet rechtvaardigt hieruit eenige conclusie te trekken. Het bilirubine-gehalte van het bloed na den aanval was op 31 December 0,89 E. (directe reactie van H. v. D. B. negatief). Het morphologisch bloedonderzoek, verricht tijdens den aanval, vertoont geen verandering t.o.v. dat, wat bij opname was gedaan.

Eenmaal was ik in staat na te gaan, in hoeverre zich de urine van pat.e J tijdens een aanval van haemoglobinurie anders zou gedragen t.o.v. waterstofperoxyde, dan urine waaraan gehaemolyseerd bloed in ongeveer dezelfde concentratie was toegevoegd. Nu bleek, dat deze laatste na toevoeging van gelijke hoeveelheid waterstofperoxyde zeer veel meer schuim produceerde, dan de haemoglobinehoudende urine van pat.e J. Quantitatief heb ik tot nu toe de katalase nog niet bepaald. Het zal zeker van belang zijn dit bij allerlei vormen van symptomatische en essentiele haemoglobinurie en ook bij de atypische haemoglobinurie te verrichten.

ONDERZOEK VAN DE ERYTHROCYTEN TIJDENS EN NA DEN AANVAL.

Ik herhaalde met de erythrocyten, afgenomen tijdens een aanval

van haemoglobinurie de vroeger beschreven proeven, ook die met koolzuur. Bij deze erythrocyten, in serum van patiente zelf onderzocht, werd bij 0°C geen haemolyse gezien, evenmin bij 0°C met koolzuur. Anders was dit echter bij 17°C . Bij deze temperatuur werd vóór den aanval geen haemolyse gezien. Bij den aanval bleek er duidelijke haemolyse op te treden, evenals bij 17°C met koolzuur, 37°C en 37°C met koolzuur. Tijdens den aanval krijgt men dus het volgende:

Eryth. pat.e J met serum pat.e J bij	0°C :	geen haemolyse.
” ” ” ” ” ” ” ” ”	0°C met koolzuur:	geen haemolyse.
” ” ” ” ” ” ” ” ”	17°C :	wel haemolyse.
” ” ” ” ” ” ” ” ”	17°C met koolzuur:	wel haemolyse.
” ” ” ” ” ” ” ” ”	37°C :	wel haemolyse.
” ” ” ” ” ” ” ” ”	37°C met koolzuur:	wel haemolyse.

Dat dit verschil in uitkomsten van de proeven vóór en tijdens den aanval veroorzaakt werd door een verandering, die had plaats gevonden aan de erythrocyten en niet aan het serum, kon gemakkelijk worden aangetoond door dezelfde proeven te herhalen, maar daarbij in plaats van serum van pat.e J, normaal serum te gebruiken. Ook nu weer bleek, gelijk bij alle voorafgaande proeven, dat het serum van patiente vervangbaar was door normaal serum, zonder dat de uitkomsten van de proeven daardoor veranderden.

Tijdens den aanval bleken dus de erythrocyten van pat.e J door serum te worden gehaemolyseerd bij 17°C zonder koolzuur, terwijl dit vóór den aanval bij deze temperatuur alleen gebeurde in een koolzuuratsfeer.

Toen de aanval voorbij was, voelde patiente zich binnen eenige dagen weer geheel hersteld. De urine bevatte geen afwijkingen meer. De urobiline-reactie werd zeer zwak positief, tenslotte negatief. De eerste maal, dat na den aanval weer op gebruikelijke wijze de koolzuurproeven werden verricht, zag ik tot mijn verbazing, dat in geen der bakjes een spoor van haemolyse was te zien, behalve in dat, hetwelk in de koolzuur atmosfeer bij 37°C had gestaan. Ook bij 37°C en bij 17°C met koolzuur, waarbij tot nu toe zonder

uitzondering haemolyse was gevonden, was nu geen spoor meer daarvan waar te nemen. Hoe was dit te verklaren?

Bij de koude-haemoglobinurie worden de proeven van DONATH en LANDSTEINER wel eens negatief gevonden, hetgeen zooals wij zagen o.a. door gebrek aan complement kon worden verklaard. Dezelfde verklaring zou ook in ons geval van haemoglobinurie bij pat.e J kunnen gelden, ware het niet, dat bij gebruik van normaal serum in plaats van serum van pat.e J volledig hetzelfde resultaat werd verkregen. **Ik kom dus weer tot de slotsom, dat ook de veranderingen, die na den aanval zijn opgetreden, hun oorsprong vinden in een verandering van de erythrocyten, terwijl ook thans weer het serum in niets blijkt te verschillen van normaal serum.**

Gedurende de volgende dagen werden de proeven regelmatig herhaald. Den 18den Januari bleek bij 17° C met koolzuur een spoor van haemolyse op te treden, bij 37° C met koolzuur was de haemolyse weer sterk positief, terwijl in alle andere bakjes geen haemolyse was te zien.

Den 6den en 10den Februari werden dezelfde resultaten verkregen. Na dien tijd bleef de haemolyse in alle bakjes, behalve in datgene, wat bij 37° C onder koolzuur had gestaan, negatief. Begin April begon patiente zich niet goed te gevoelen. Zij had lichte temperatuursverhooging (tot 38° C) en klaagde over wat pijn in den rug. Bij bloedonderzoek werd niets bijzonders gevonden: het bakje bij 37° C onder koolzuur vertoonde haemolyse.

Toen ik echter eenige dagen later de proeven herhaalde, bleek dat nu een duidelijke haemolyse optrad bij 17° C met koolzuur en bij 37° C. De urine vertoonde geen afwijkingen, zij bevatte geen haemoglobine. Eenige dagen later gevoelde patiente zich weer geheel hersteld, de temperatuur werd normaal.

Het is mogelijk, dat wij hier te doen hebben gehad met een lichten aanval, waarbij het echter niet tot haemoglobinurie is gekomen, terwijl aan het bloed veranderingen werden vastgesteld, die deden denken aan wat bij den aanval in December was gevonden. Sinds dien waren ongeveer 3 maanden verlopen.

Ik vervolgde het verloop van het bloedonderzoek in den komende tijd. Reeds eenige dagen nadat patiente zich weer gezond gevoelde, veranderden de resultaten, nu weer in den zin als vroeger gevonden was, zoodat nu alleen haemolyse optrad in de bakjes die

bij 17° C onder koolzuur en bij 37° onder koolzuur hadden gestaan.

Half Mei was in de bakjes bij 17° C onder koolzuur slechts een spoor van haemolyse te zien. Begin Juni kon hierin weer duidelijke haemolyse worden waargenomen. Den 22sten Juni leerde het bloedonderzoek wederom veranderingen kennen, alhoewel patiente geen klachten had. Het bleek nl. dat nu alleen in die bakjes, welke bij 0° C zonder- en bij 0° C met koolzuur hadden gestaan geen haemolyse optrad. In alle andere bakjes was haemolyse opgetreden en wel bij 17° C zonder koolzuur een spoor; sterke haemolyse echter bij 17° C met koolzuur, bij 37° C zonder- en bij 37° C met koolzuur.

Zooals wij zien waren sinds den laatsten keer, dat de erythrocyten van patiente soortgelijke veranderingen hadden vertoond, weer ongeveer 3 maanden verstreken (begin April tot einde Juni).

Begin Juli werd weer in geen der bakjes haemolyse gevonden, behalve in die, welke onder koolzuur stonden, bij 17° C en bij 37° C. In deze periode werd, zooals wij in het hoofdstuk over haemolyse en stolling reeds zeiden, opgemerkt, dat het verschil uitmaakte of met natief bloed van patiente, dan wel met uitgewasschen erythrocyten en serum werd gewerkt. In het laatste geval trad in deze periode bij 37° C geen haemolyse op, terwijl serum, dat op een temperatuur van 37° C was uitgeperst, duidelijk haemolytisch bleek te zijn.

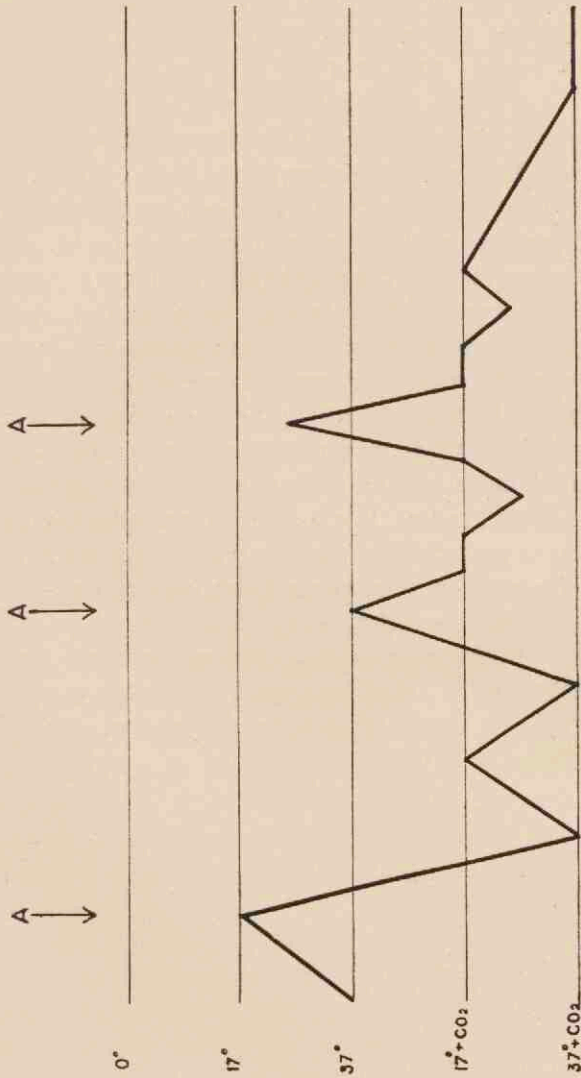
Patiente werd September 1933 uit het ziekenhuis ontslagen. Zij gevoelde zich gezond. Behalve het gedrag van haar erythrocyten t.o.v. koolzuur bij 37° C waren er bij patiente in het geheel geen afwijkingen te vinden.

Na haar ontslag werd patiente nog maandelijks gecontroleerd. Zij hervatte hare werkzaamheden en gevoelde zich daarbij gezond. Het bloedonderzoek dat eenmaal per maand gedurende ongeveer 1 jaar werd verricht, leverde steeds hetzelfde resultaat op: bij 37° C met koolzuur duidelijke haemolyse, bij 17° C met koolzuur wisselde de uitslag eenigszins: dan weer was er wel haemolyse, dan weer niet.

Den 24sten Juli 1934 heeft patiente na eenige maanden niet onder contrôle te zijn geweest, thuis een lichten haemoglobinurie-aanval doorgemaakt. Deze aanval duurde drie nachten. Ik ben niet in staat geweest patiente tijdens dezen aanval te observeeren.

Wij hebben dus bij deze patiente door middel van de beschreven koolzuurproeven een periodieke verandering in het bloed kunnen aantoonen. Deze blijkt te zetelen in de erythrocyten en niet in het serum. Indien het geoorloofd is de vroeger geopperde voorstelling, wat betreft het reeds gesensibiliseerd zijn der erythrocyten van pat.e J aan te nemen, dan zou de graad der sensibilisatie de factor zijn die wisselt. Er zijn aanwijzingen voor, dat althans gedurende den tijd, dat patiente in de kliniek vertoefde, een zekere periodiciteit bestond in dien zin, dat ongeveer om de 3 maanden de erythrocyten sterker gesensibiliseerd waren en daardoor t.o.v. de gebruikte „resistentie reeks” (0° C zonder, 0° C met koolzuur, 17° C zonder, 37° C zonder, 17° C met koolzuur, 37° C met koolzuur) een verlaagde resistentie vertoonden (zie figuur). Ook vóór de opname kwam deze periodiciteit voor den dag aangezien de aanvallen zich in dien tijd ongeveer om de 3 maanden voordeden.

Het zij geoorloofd hier erop te wijzen dat resistentie-bepalingen t.o.v. koolzuur bij verschillende temperatuur zooals hierboven werden beschreven, wellicht bij soortgelijke gevallen zullen kunnen blijken van *diagnostisch* belang te zijn. Wij zagen immers bij onze patiente, dat er perioden waren, waarin als eenige afwijking, die kon worden aangetoond, een haemolyse van erythrocyten door haar serum (of door normaal serum) bij 37° C met koolzuur kon worden gevonden. Het zal wellicht aanbeveling verdienen ook bij andere ziektoestanden, al dan niet gepaard gaande met haemoglobinurie, de resistentie der erythrocyten op soortgelijke wijze te bepalen, natuurlijk in het bijzonder bij die ziekten waar een pathologische bloedafbraak een rol schijnt te spelen.



NOV.'32 DEC.'32 JAN.'33 FEBR MAART APRIL MEI JUNI JULI AUG. SEPT. OCT NOV. DEC.'33.

HOOFDSTUK IX

THERAPIE.

Patiënte kreeg van 6 Februari tot 13 April 1933 dagelijks 60 c.c. 3 % oplossing van cholesterine (MERCK) in olijfolie, per os. (door een misverstand werd deze therapie in Maart 10 dagen onderbroken). Daarna werd de cholesterine toediening gestaakt. 28 Juli werd haar opnieuw eenzelfde dosis cholesterine tot 18 Augustus toegediend en toen weer van 28 September tot 5 October. Aan het einde van deze periode werd nagegaan of het serum van patiënte, die toen ongeveer 7 dagen de genoemde hoeveelheid cholesterine had gebruikt, een remmende werking op de haemolyse der erythrocyten uitoefende. Dit werd gedaan door de „temperatuur- en de koolzuurresistentie” naast elkaar te bepalen met dit serum van patiënte en met normaal serum. Het serum van patiënte bleek geen andere uitkomsten te geven dan normaal serum. Ook was het cholesterine-gehalte der erythrocyten na 14 dagen cholesterine-gebruik niet aantoonbaar hooger geworden.

De vraag of het uitblijven van de aanvallen, die begin April en einde Juni verwacht werden, al of niet aan het gebruik van cholesterine is toe te schrijven, durf ik niet te beantwoorden.

SAMENVATTING EN BESPREKING VAN DE BELANGRIJKSTE RESULTATEN.

De resultaten van ons onderzoek kunnen wij als volgt samenvatten. Wij hebben door het urine-onderzoek vastgesteld, dat onze pat.e J niet aan pseudo-haemoglobinurie lijdt, doch ware haemoglobinurie heeft. Symptomatische haemoglobinurie kon tevens worden uitgesloten. Wij concludeeren mitsdien, dat pat.e J lijdende is aan essentiële haemoglobinurie. Het ziektebeeld van onze pat.e werd vergeleken met de verschijnselen van koude-haemoglobinurie van een andere patiënt. Beide onderscheiden zich door essentiële kenmerken van elkaar: koude is bij onze pat.e J geen oorzaak van het optreden van haemoglobinurie; de aanvallen treden daarentegen des nachts in bed op. Wat de eigenlijke ziekteverschijnselen betreft, deze komen tot een zeker punt in beide gevallen met elkaar overeen: lichte rillerigheid, geringe temperatuursverhoging, pijn in de ledematen en in de streck van de lendenen.

Het serologisch onderzoek daarentegen leverde zeer groote verschillen tusschen beide ziekten. In tegenstelling met de meeste gevallen van koude-haemoglobinurie zijn bij pat.e J alle luesreacties negatief. Bij koude-haemoglobinurie komt in het serum een specifieke amboceptor voor; deze bindt zich bij lage temperatuur aan de roode bloedlichaampjes, onverschillig, of deze bloedlichaampjes aan de patiënt dan wel aan een normaal persoon toebehooren. Zijn de bloedlichaampjes eenmaal gesensibiliseerd, dan worden zij door het complement bij een temperatuur van 37° C. gehaemolyseerd.

Daartegenover staat, dat de erythrocyten van onze pat.e J zich ook zonder voorafgaande afkoeling als gesensibiliseerd gedragen. Voor de haemolyse bij onze pat.e J is complement noodig; het is echter onverschillig of dit complement uit eigen, dan wel uit vreemd serum afkomstig is. De haemolyse van de erythrocyten heeft in serum bij 37° C. plaats. Het mocht nog niet gelukken de erythrocyten van onze pat.e J zoodanig te veranderen, dat zij zich als normale roode bloedlichaampjes gedragen.

Verschillen in gedrag tegenover koolzuur. De erythrocyten van onze patiënt met koude-haemoglobinurie en, zooals bekend, ook normale erythrocyten in het serum van zoodanige patiënten, worden door koolzuur gehaemolyseerd bij 17° , niet echter bij 0° of 37° C.

Bij pat.e J vindt haemolyse door koolzuur plaats, waarbij niet de erythrocyten, wel echter het serum door normaal serum vervangen kan worden. Hieruit blijkt opnieuw, dat de erythrocyten van onze patiënte de eigenlijke zieke elementen zijn; zij kunnen zoowel in eigen als in vreemd serum door koolzuur bij veel meer uiteenlopende temperaturen en bij een ander temperatuuroptimum, dan bij koude-haemoglobinurie gehaemolyseerd worden. Door verschillend gedrag bij verschillende temperatuur was het mogelijk een weerstandsschaal op te stellen, door de erythrocyten bij verschillende temperatuur, al dan niet onder toevoeging van koolzuur, te onderzoeken. (0° , 17° en 37° C., telkens met en zonder toevoeging van koolzuur). Hierbij bleek, dat beide factoren, temperatuur en koolzuur, elkander versterken. In het verloop der ziekte namen de roode bloedlichaampjes niet steeds dezelfde plaats op deze weerstandsschaal in. Deze schommelingen der resistentie vertoonen gedurende een zekeren tijd een bepaald rhythme van ongeveer 3 maanden. In het serum daarentegen verandert het haemolyseerend vermogen niet.

Het is niet waarschijnlijk, dat het mechanisme van de koolzuurwerking op de erythrocyten bij koude-haemoglobinurie en bij onze pat.e J principieel van anderen aard zou zijn. Ik heb derhalve gepoogd een werkhypothese op te stellen, om beide verschijnselen op eenzelfde wijze te verklaren. Ik veronderstel, dat koolzuur de „affiniteit” van het complement tot de gesensibiliseerde erythrocyten verhoogt en daardoor de temperatuurbreedte van de complementwerking verruimt.

Haemolyse en bloedstolling. Stoffen, die de bloedstolling remmen, remmen bij pat.e J steeds ook de haemolyse; bij koude-haemoglobinurie is dit, zooals uit de literatuur blijkt, niet steeds het geval. In het ééne geval, hetwelk ik kon onderzoeken, heb ik weliswaar steeds remming van de haemolyse door stoffen, die de stolling beletten, gevonden. Bij koude-haemoglobinurie geeft een serum, hetwelk door stolling bij 37° C. is ontstaan, de reactie van

DONATH EN LANDSTEINER, terwijl dit serum na stolling bij 17° deze reactie soms niet geeft. In sommige perioden van de ziekte van mijn pat.e J kon ik deze verschillen in de werking van sera, afkomstig van stolling bij verschillende temperatuur, op de haemolyse ook vinden. Wij hebben hieruit het volgende afgeleid: de amboceptor is, zooals reeds gezegd, eens en vooral aan de erythrocyten gebonden en mitsdien werken stolling, alsmede stollingremmende middelen niet, zooals men vroeger somwijlen veronderstelde, op de amboceptor, maar op het complement. Het is trouwens geenszins uitgesloten, dat bloedstolling en haemolyse een gemeenschappelijke factor bevatten. Al kunnen wij ook onze opvatting niet voor koude-haemoglobinurie bewijzen, zoo lijkt het mij toch waarschijnlijk, dat ze ook voor deze ziekte geldt.

Bij welke groep van haemoglobinurieën behoort ons geval? Tusschen ons geval en koude-haemoglobinurie bestaat, niettegenstaande principieele verschillen, een zeker verwantschap; zulk een verwantschap bestaat echter zeker niet tusschen ons geval van atypische haemoglobinurie en marsch-, als mede paralytische haemoglobinurie. Daarentegen is er verregaande overeenstemming tusschen ons geval van pat.e J en de zgn. nacht-haemoglobinurie; want ook bij pat.e J treden de aanvallen meestal des nachts op. In beide gevallen spelen noch lues, noch koude eenige rol en is de reactie van DONATH EN LANDSTEINER steeds negatief. Het is helaas nog niet mogelijk het serologische gedrag van beide ziekten met elkander te vergelijken, alhoewel enkele waarnemingen bij pat.e J met enkele gegevens uit de literatuur aangaande nacht-haemoglobinurie overeenkomen. Voor de gevoeligheid van de erythrocyten tegen koolzuur geldt hetzelfde. Aangaande de periodiciteit van de aanvallen, alsmede de periodiciteit in het gedrag van de erythrocyten, vinden wij voor nacht-haemoglobinurie in de literatuur niets vermeld. Mocht echter bij deze ziekte deze periodiciteit voorkomen, dan ware het mogelijk hierdoor sommige wisselingen en tegenstrijdigheden in de resultaten, zooals die o.a. door HIJMANS VAN DEN BERGH, SALÉN en ENNEKING werden verkregen, te verklaren.

Voorts is het niet mogelijk het ziektebeeld der nacht-haemoglobinurie te onderscheiden van hetgeen door ROSENTHAL „haemolytische anaemie met haemoglobinurie” werd genoemd. Vroeger

werden deze gevallen vaak als haemolytische icterus met haemoglobinurie opgevat. Het geval van pat.e J levert ons argumenten tegen de opvatting dat de „haemolytische anaemie met haemoglobinurie” een verkregen haemolytische icterus met haemoglobinurie zou zijn.

Er zijn nl. voor haemolytische icterus bij pat.e J slechts zeer weinig aanknoopingspunten te vinden: wij vonden immers géén verlagings van de osmotische resistentie der erythrocyten, géén microcytose, slechts geringe vergrooing van de milt en een nauwelijks verhoogd bilirubine-gehalte van het serum. Natuurlijk kan de mogelijkheid, dat tusschen haemolytische icterus en onze vorm van haemoglobinurie slechts quantitative verschillen bestaan niet worden uitgesloten, zoolang over de aetiologie van beide ziekten niet meer bekend is dan thans. Het is zeer wel mogelijk, dat de verkregen haemolytische icterus slechts als symptomen-complex moet worden opgevat, terwijl de congenitale haemolytische icterus een aetiologische eenheid zou zijn.

Het is niet mogelijk slechts op den grondslag van het feit, dat de aanvallen uitsluitend des nachts optreden, de nacht-haemoglobinurie van het genoemde ziektebeeld van ROSENTHAL te scheiden. Nacht-haemoglobinurie komt nl. ook verder zeer goed met de „haemolytische anaemie met haemoglobinurie” overeen. Ook het geval van IGLAUER en FRENREISZ, dat als „haemolytische anaemie met nachtelijke haemoglobinurie” beschreven werd, steunt onze meening.

Over de aetiologie van ons geval van atypische haemoglobinurie weten wij nog niets. Misschien hebben wij hier te maken met een storing van de normale bloedafbraak. Op deze mogelijkheid t.o.v. koude-haemoglobinurie wijst SALÉN. Iets zekers dienaangaande weten wij niet. Wij hopen echter, dat voortgezet onderzoek over dergelijke gevallen ertoe zal bijdragen, het vraagstuk van de normale bloedafbraak te helpen oplossen.

ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER WICHTIGSTEN ERGEBNISSE.

Die im Vorhergehenden mitgeteilten Untersuchungen und Auseinandersetzungen können wir wie folgt zusammenfassen.

Wir haben durch Harnuntersuchung festgestellt, dass unsere Patientin J nicht an Pseudohaemoglobinurie, sondern an echter Haemoglobinurie leidet. Symptomatische Haemoglobinurie konnte gleichfalls ausgeschlossen werden. Wir können daher annehmen, dass Patientin J an essentieller Haemoglobinurie leidet.

Das Krankheitsbild unserer Patientin wurde mit demjenigen eines an Kältehaemoglobinurie leidenden Patienten verglichen: beide unterscheiden sich durch wesentliche Merkmale voneinander. Erstens ist bei unserer Patientin J Kälte keine Ursache für das Auftreten von Haemoglobinurie. Die Anfälle treten vielmehr mit Vorliebe des Nachts im Bette auf. Was die eigentlichen Krankheitsercheinungen betrifft, so stimmen diese bis zu einem gewissen Grade in beiden Fällen mit einander überein: leichtes Frösteln, geringe Temperaturerhöhung, Schmerz in den Gliedern und in der Lendengegend.

Die serologische Untersuchung ergab jedoch sehr grosse Unterschiede zwischen beiden Erkrankungen. Im Gegensatz zu den meisten Fällen von Kältehaemoglobinurie sind bei Patientin J alle Luesreaktionen negativ.

Bei Kältehaemoglobinurie kommt im Serum ein spezifischer Ambozeptor vor, der sich bei niederen Temperaturen an die roten Blutkörperchen bindet, gleichgültig, ob diese Blutkörperchen dem Patienten oder einer normalen Person angehören; diese sensibilisierten Körperchen werden sodann durch das Komplement bei einer Temperatur von 37°C . haemolysiert.

Die Erythrocyten von unserer Patientin J dahingegen verhalten sich auch ohne vorhergehende Abkühlung als sensibilisiert.

Für die Haemolyse bei unserer Patientin ist Komplement nötig, es ist aber gleichgültig, ob dieses aus eigenem oder fremdem Serum stammt. Die Haemolyse der Erythrocyten findet in Serum bei 37°C . statt. Es ist noch nicht geglückt die Erythrocyten unserer Patientin so zu verändern, dass sie sich wie normale rote Blutkörperchen verhalten.

Unterschiede im Verhalten gegenüber Kohlensäure. Die Erythrocyten unseres Patienten mit Kältehaemoglobinurie und, wie bekannt, auch normale Erythrocyten in Serum eines solchen Patienten, werden durch Kohlensäure bei 17°C . haemolysiert, nicht aber bei 0° oder 37°C .

Bei Patientin J findet Haemolyse durch Kohlensäure statt, wobei nicht die Erythrocyten, wohl aber das Serum durch normales ersetzt werden kann. Wieder erweisen sich die Erythrocyten unserer Patientin als das spezifisch kranke Element; sie können sowohl in eigenem als in fremdem Serum durch Kohlensäure, bei wesentlich grösserer Temperaturbreite und anderem Optimum als bei Kältehaemoglobinurie haemolysiert werden. Hierdurch war es möglich eine Art Widerstandsskala dadurch aufzustellen, dass die Erythrocyten bei verschiedenen Temperaturen, unter Hinzufügung von Kohlensäure oder nicht, untersucht wurden (0° , 17° und 37° C. je ohne und mit Kohlensäurehinzufügung).

Hierbei ergab sich, dass beide Faktoren, Temperatur und Kohlensäure, einander verstärken. Im Verlaufe der Krankheit nahmen die roten Blutkörperchen nicht immer den gleichen Platz auf unserer Resistenzskala ein. Diese Resistenzschwankungen zeigten während einiger Zeit einen bestimmten Rhythmus von ungefähr drei Monaten. In derselben Zeit veränderte sich das haemolysierende Vermögen des Serums nicht.

Da ich es nicht für wahrscheinlich hielt, dass die Kohlensäurewirkung auf die Erythrocyten bei Kältehaemoglobinurie sich auf Grund eines völlig anderen Mechanismus entfalte, als bei unserer Patientin J, habe ich versucht eine Hypothese aufzustellen, um beide Erscheinungsarten auf gleiche Weise zu erklären. Ich nehme daher an, dass Kohlensäure die „Affinität“ des Komplements zu den sensibilisierten Erythrocyten erhöht und dadurch die Temperaturbreite der Komplementwirkung erweitert.

Haemolyse und Blutgerinnung. Bei Patientin J hemmen gerinnungshemmende Stoffe stets die Haemolyse; bei Kältehaemoglobinurie ist das, wie ich der Literatur entnehme, nicht stets der Fall; in dem von mir untersuchten Falle habe ich allerdings immer Hemmung der Haemolyse durch gerinnungshemmende Stoffe gefunden. Bei Kältehaemoglobinurie gibt ein Serum, welches durch Gerinnung bei 37° C. entstanden ist, die Reaktion von DONATH UND LANDSTEINER, während das Serum nach Gerinnung bei 17° C. diese Reaktion zuweilen nicht gibt. Diese Unterschiede in der Wirkung von Sera, die durch Gerinnung bei verschiedenen Temperaturen entstanden sind, auf die Haemolyse, konnte ich bei meiner Patientin J in manchen Perioden ihrer Krankheit auch finden.

Hieraus haben wir das folgende deduziert: der Ambozeptor ist, wie gesagt, ein für allemal an die Erythrocyten gebunden und demnach wirken Gerinnung und gerinnungshemmende Mittel nicht, wie man früher zuweilen annahm auf den Ambozeptor, sondern auf das Komplement. Es ist übrigens keineswegs ausgeschlossen, dass Blutgerinnung und Hämolyse einen gemeinschaftlichen Faktor besitzen. Obwohl wir unsere Auffassung nicht für Kältehaemoglobinurie beweisen können, scheint es mir doch wahrscheinlich, dass sie auch für diese Krankheit gilt.

Zu welcher Gruppe von Haemoglobinurien gehört unser Fall?

Während zwischen unserem Fall und der Kältehaemoglobinurie, trotz prinzipieller Unterschiede, eine gewisse Verwandtschaft bestehen kann, besteht eine solche sicherlich nicht zwischen unserem Falle von atypischer Haemoglobinurie und Marsch- sowie paralytischer Haemoglobinurie.

Dahingegen besteht weitgehende Übereinstimmung zwischen dem Falle unserer Patientin J und der sogenannten Nachthaemoglobinurie. Denn auch bei Patientin J treten die Anfälle vorwiegend in der Nacht auf. In beiden Fällen spielen weder Lues noch Kälte irgendwelche Rolle und die Reaktion von DONATH UND LANDSTEINER ist stets negativ. Leider ist es nog nicht möglich beide Krankheiten nach ihrem serologischen Verhalten miteinander zu vergleichen, obwohl einige Beobachtungen an Patientin J mit einigen Angaben in der Literatur über Nachthaemoglobinurie übereinstimmen.

Für die Empfindlichkeit der Erythrocyten gegen Kohlensäure gilt das Gleiche. Über Periodizität der Anfälle, sowie über die Periodizität des Verhaltens der Erythrocyten findet sich für Nachthaemoglobinurie in der Literatur nichts vermeldet. Sollten jedoch auch bei dieser Krankheit jene Periodizitäten vorkommen, so könnte man dadurch gewisse Schwankungen und Unstimmigkeiten in den Resultaten, wie sie unter anderen durch HIJMANS VAN DEN BERGH, SALÉN und ENNEKING erhalten wurden, erklären.

Weiterhin kann man das Krankheitsbild der Nachthaemoglobinurie nicht scharf unterscheiden von demjenigen, welches durch ROSENTHAL „haemolytische Anaemie mit Haemoglobinurie“ genannte wurde. Früher hat man diese Fälle öfters als haemolytischen Icterus mit Haemoglobinurie aufgefasst; der Fall J gibt uns ein

Argument gegen die Auffassung, dass die „haemolytische Anaemie mit Haemoglobinurie“ ein erworbener haemolytischer Icterus mit Haemoglobinurie sei. Für haemolytischen Icterus nämlich sind bei Patientin J sehr wenig Anhaltspunkte zu finden: wir fanden keine Erniedrigung des osmotischen Widerstandes der Erythrocyten, keine Mikrocytose, nur geringe Milzvergrößerung und kaum erhöhten Bilirubingehalt des Serums. Die Möglichkeit, dass zwischen haemolytischem Icterus und unserer Form von Haemoglobinurie nur quantitative Unterschiede bestehen, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, solange über die Aetiologie beider Krankheiten nicht mehr bekannt ist. Vielleicht muss der erworbene haemolytische Icterus lediglich als Symptomenkomplex aufgefasst werden, während der kongenitale haemolytische Icterus eine aetiologische Einheit ist.

Es geht nicht an, lediglich auf Grund der Tatsache, dass die Anfälle ausschliesslich nachts auftreten, die Nachthaemoglobinurie von dem genannten Krankheitsbild von ROSENTHAL zu trennen. Nachthaemoglobinurie stimmt nämlich auch im Übrigen sehr gut mit der „haemolytischen Anaemie mit Haemoglobinurie“ überein. Auch der Fall von IGLAUER UND FRENREISZ, der als „haemolytische Anaemie mit nächtlicher Haemoglobinurie“ beschrieben wird, unterstützt unsere Auffassung.

Über die Aetiologie unseres Falles von atypischer Haemoglobinurie wissen wir noch nichts. Vielleicht haben wir es hier zu tun mit einer Störung des normalen Blutabbaues. Diese Möglichkeit erwähnt SALÉN bezüglich der Kältehaemoglobinurie. Sicherer hierüber wissen wir nicht. Wir hoffen aber, dass fortgesetzte Untersuchungen über entsprechende Fälle dazu beitragen werden die Frage des normalen Blutersatzes zu lösen.

SUMMARY AND DISCUSSION OF THE MOST IMPORTANT RESULTS.

This research can be summarised as follows. Urine examination of our female patient J has proved, that she is not suffering from pseudo-haemoglobinuria, but from genuine haemoglobinuria. Symptomatic haemoglobinuria can also be ruled out. We have therefore

come to the conclusion that this may be a case of essential haemoglobinuria.

This clinical picture was compared with the symptoms of cold-haemoglobinuria of another patient. They both differ from one another in essential features: coldness does not provoke haemoglobinuria in our case; the attacks appear during the night as a rule. As far as the true symptoms of the disease concerned, these two pictures coincide in different respects: slight shivering, slight rise of temperature, pains in the extremities and in the loins.

Serological examination however reveals very great differences between both diseases. In contradiction to most of the cases of cold-haemoglobinuria the syphilitic reactions are negative in our female patient. J. A specific amboceptor appears in the serum of cases of cold-haemoglobinuria; this amboceptor combines with the red blood corpuscles at a low temperature, whether these corpuscles are derived from a normal person or from the patient. Once these erythrocytes are sensitized, the complement causes haemolysis at a temperature of 37° C.

On the contrary the erythrocytes of our female patient behaves as being sensitized without previous cooling. In this case complement is necessary for haemolysis, indifferently whether this complement is from our patient or derived from a foreign sample of serum. The haemolysis of the erythrocytes appears in the serum at a temperature of 37° C. Hitherto we did not succeed however to influence the erythrocytes of our female patient in such a way as to behave like normal red blood corpuscles.

Differences in character as to carbonic acid gas. As is known normal erythrocytes as well as those of our patient with cold-haemoglobinuria become haemolysed in the serum of our patient by carbonic acid gas at 17° C. and not at 0° C. or 37° C. Haemolysis by carbonic acid gas in our female case appears, whereby the serum can be substituted by normal serum, but not the erythrocytes. This again proves that the erythrocytes in our case are the morbid elements. These elements can be haemolysed in their own as well as foreign serum by carbonic acid gas at much more diverging temperatures as mentioned above; they also have a different optimum of temperature, which is not the case in cold-haemoglobinuria. On account of their different behaviour at dif-

ferent temperatures the erythrocytes could have been examined at different temperatures with or without addition of carbonic acid gas. Thus it was possible to construct a scale of resistance (at 0°C ., 17°C ., 37°C .: with and without carbonic acid gas). From this it seems, that both factors, temperature and carbonic acid gas, strengthen one another in action. During the course of the disease the red blood corpuscles do not take up a constant place on our scale of resistance. These fluctuations of resistance occurred in a definite rhythm of about 3 months, during a certain lapse of time. The serum, however, does not change its haemolytic power.

It is quite likely that the mechanism of carbonic acid gas action on the erythrocytes is the same in both cases of cold-haemoglobinuria and our female patient. Author has therefore endeavoured to postulate a working hypothesis in order to explain both phenomena in the same way, presuming that carbonic acid gas increases the „affinity” of the complement to the sensitized erythrocytes and therefore extends the range of temperature of the complement action.

Haemolysis and blood coagulation. Substances retarding blood coagulation also decreases haemolysis in our female patient. This is not always the case for cold-haemoglobinuria, according to the literature. In one case, which I examined, it was found that haemolysis was retarded by substances, which prevent coagulation. In cases of cold-haemoglobinuria the serum, which is produced by coagulation at a temperature of 37°C . yields a positive reaction of DONATH AND LANDSTEINER whereas this reaction is sometimes negative in the serum, collected after coagulation at 17°C . During certain periods in the course of the disease of our female patient, the different action of sera derived from coagulation at different temperature, could also be found on haemolysis. This led us to the conclusion, that the amboceptor, as is already mentioned above, is attached to the erythrocytes and that coagulation, as well as coagulation inhibiting factors, act on the complement and not on the amboceptor as was previously accepted. It is nevertheless not impossible, that coagulation and haemolysis contain a common factor. And although this presumption cannot be proved for cold-haemoglobinuria it seems very propable that it also holds for this disease.

To which group of haemoglobinuria does our case belong? There is a certain relation between our case and cold-haemoglobinuria notwithstanding fundamental differences. This relation certainly does not exist between our case of atypic haemoglobinuria and march- or paralytic haemoglobinuria. On the contrary our case resembles the so-called nocturnal haemoglobinuria to a very great extent, because the attacks of our female patient also appear during the night as a rule. In both last cases syphilis and coldness do not play any part, and the reaction of DONATH AND LANDSTEINER is always negative. It does not yet seem possible to compare the serological properties of these two diseases. Some observations in our patient could be compared with some data about nocturnal haemoglobinuria from the literature. The same holds for the sensitivity of the erythrocytes for carbonic acid gas, but as far as the periodicity of the attacks and that in the behaviour of the erythrocytes are concerned, no information from the literature could be gathered for nocturnal haemoglobinuria. If this periodicity may happen to appear for this disease it might become possible to explain certain fluctuations and contradictions in the results obtained from authors, such as HIJMANS VAN DEN BERGH, SALÉN and ENNEKING.

Furthermore it is not possible to differentiate nocturnal haemoglobinuria from ROSENTHAL'S „haemolytic anaemia with haemoglobinuria". In the past these cases were generally accepted for haemolytic jaundice with haemoglobinuria. From our female case we can raise arguments against the conception that the haemolytic anaemia with haemoglobinuria is an acquired haemolytic jaundice with haemoglobinuria.

The diagnosis of haemolytic jaundice can almost be dropped in our case, for there is no decreased osmotic resistance of the erythrocytes, no microcytosis, only a slight enlargement of the spleen, and practically no increased bilirubin content of the serum. As long as the aetiology of both diseases is, as yet, unknown it is possible that there are quantitative differences between haemolytic jaundice and our form of haemoglobinuria. It is very possible that the acquired form of haemolytic jaundice must be considered as a complex of symptoms, whereas the congenital haemolytic jaundice constitutes an aetiological unity.

Although the attacks appear exclusively during the night, it is

impossible to separate nocturnal haemoglobinuria from the above mentioned ROSENTHAL'S disease, on that fact only. For the rest nocturnal haemoglobinuria resembles „haemolytic anaemia with haemoglobinuria". Authors opinion is furthermore affirmed by the publication of a case of haemolytic anaemia with nocturnal haemoglobinuria by IGLAUER AND FRENREISZ.

The aetiology of our case of atypic haemoglobinuria remains unknown. Perhaps it is due to a disturbance in the normal procedure of blood destruction. SALÉN emphasizes this possibility for cold-haemoglobinuria but nothing definite is known about this. It is to be hoped that further research will be continued on similar cases and that it will co-öperate in the solution of the problem of normal blood destruction.

LITERATUURLIJST

- 1 ACHARD en FEUILLIÉ. Compt. Rend. de la Societé de Biol. 13 Maart 1909. I p. 429.
- 2 — — Compt. Rend. de la Societé de Biol. 3 en 10 Juni 1911. I p. 898.
- 3 — en SAINT GIRONS. Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris 16 Febr. 1912 (Sem. Medical 1912 No. 95).
- 4 BALLEZ. Sem. Medical 1888 p. 226.
- 5 BARTA en GÖRÖG. Virch. Arch. 273. 1929.
- 6 BERTHIER. Arch. de Med. Experim. 1896. No. 5. (gecit. volgens Centralbl. Inn. Mediz. 1897, p. 455).
- 7 BETTMAN. Münch. med. Woch. No. 23, p. 791. 1900.
- 8 BIFFI. Riforma medica. 1915 (gecit. volgens ROSENTHAL).
- 9 BINGOLD. Klinische Wochenschrift 5 August. 1933, p. 1201.
- 10 — — Z.f. klin. Med. 126. p. 233 (1933).
- 11 — — Klinische Wochenschrift 1934.
- 12 BITTORF. Verh. deutsch. Kongr. f. inn. Med. 1914.
- 13 BLANCHARD en LEFROU. Bull. de la Soc. de Pathol. Exotique. 1923, p. 726.
- 14 — — Bull. de la Soc. de Pathol. Exotique. Oct. 1932, p. 700.
- 15 BOAS. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 32. p. 355.
- 16 BORDET. Zeitschrift für Immunitäts f. I Teil Orig. 12de Band 1912, p. 601.
- 17 BORDET en GAY. Studies in Immunity. Uitg. Wiley and Sons. 1909.
- 18 BRAHMACHARI en SEN. Indian J. of med. Research 1925. Vol. 13. No. 2.
- 19 — — Indian J. of med. Research. 1926. Vol. 13. No. 3.
- 20 BRISTOWE en COPEMAN. Lancet 1889 II 256.
- 21 — — Soc. de med. London. 1889. (ref. in Sem. Med. 1889, p. 151).
- 22 BURCKHARDT. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 57. 1903, p. 621 (ref. W.klin. Woch. 1903, p. 1068).
- 23 CAMUS. These Paris 1903.
- 24 CAMUS en PAGNIEZ. Compt. Rend de la Soc. de Biol. 20 Oct. 1900.
- 25 — — Compt. Rend de la Soc. de Biol. 16 Juli 1901.
- 26 — — Soc. Med. des Hôp. 25 April 1911.
- 27 CHAUFFARD en TROISIÉRE. Soc. Med. des Hôp. de Paris 30 Oct 1908. (Sem. Med. 1908, p. 539).
- 28 CHAUFFARD en VINCENT. Semaine Médicale. 1909. No. 51, p. 604.
- 29 CHIARUTTINI. Arch. per la Scienze Med. XXLV 1900.
- 30 CHOROCHELOW. Deutsche Zeitschr. f. klin. Med. 64. 1907, p. 431.
- 31 CHVOSTEK. Über das Wesen der Kälte-haemoglobinurie. Deuticke. Leipzig. 1894.

- 32 COMBY. *Medic. infantile*. 1895, p. 321.
- 33 CZERNECKI. *Wien. klin. Woch.* 1908. No. 42.
- 34 DICKINSON. *Med. chir. Transact. London.* 1865, p. 175.
- 35 DONATH. *Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. 52. H. 1-2. p. 22. 1904.
- 36 DONATH en LANDSTEINER. *Münch. med. Woch.* 1904. No. 36, p. 1590.
- 37 ——— *Zeitschr. f. klin. Med.* 54. H. 5-6. 1905.
- 38 ——— *Zeitschr. f. klin. Med.* 58. 173. 1906.
- 39 ——— *Wien. klin. Woch.* 1908, p. 1565.
- 40 ——— *Zentr. f. Bakteriolog.* 1908 XLV, p. 205.
- 41 ——— *Erg. der Hygiene etc.* 1925.
- 42 DRESSLER. *Virchow's Arch.* 6. 264. 1854.
- 43 EASON. *J. of Path. a. Bact.* Vol. XI. Maart 1906.
- 44 ——— *Edinbourg Med. J.* 1906. XLX. p. 43.
- 45 EHRLICH. *Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. 3. 383. 1881.
- 46 ——— *Charité Annalen* 1885.
- 47 — en MORGENROTH. *Berl. kl. Woch.* 1899. No. 1, p. 6.
- 48 ——— *Berl. kl. Woch.* 29 Mei 1899, p. 481. No. 22.
- 49 ——— *Berl. kl. Woch.* 1900, p. 453.
- 50 ELLIOTSON. *Lancet* 1831—1832. Vol. I. p. 500 (gecit. n. LEGG).
- 51 ENNEKING. *Ned. Tijdschrift v. Geneesk.* 1925. 69. 1526.
- 52 ——— *Klin. Woch.* 1928, p. 2045.
- 53 FEIGL. *Bioch. Zeitsch.* 76. 88. 1916.
- 54 FLEISCHER. *Berl. klin. Woch.* 1881, p. 691.
- 55 FOIX en SALIN. *Gaz. des Hôpitaux.* 1910, p. 20.
- 56 FÖRSTER. *Münch. med. Woch.* 1919, p. 554.
- 57 FUCHS. *Z.f. Immunitäts f.* 69. 330. 1931.
- 58 ——— *Z.f. exp. Med.* 83. 626. 1932.
- 59 GENGOU. *Soc. de Biol.* 62. 409 en 736.
- 60 GERGERÈS. *Gaz. Med. Paris.* 1838, p. 151.
- 61 GIFFIN. *Arch. int. Med.* 31. 573. 1923.
- 62 GILBERT en CHABROL. *Compt. Rend de la Soc. de Biol.* 20 Mei 1911
(*Sem. Med.* 1911, p. 262).
- 63 ——— en BÉNARD. *Bull. de la Soc. de Biol.* 1911 en 1912.
- 64 ——— ——— *Paris Medical* 6 Juli 1912.
- 65 GLAESSNER en PICK. *Zeitschr. f. exp. Pathol. en Therapie.* Bd. 9, 1911.
- 66 GRAFE. *Deutsch med. Woch.* No. 44, p. 2035, 1911.
- 67 GRAFE en MÜLLER. *Arch. f. exp. Pathol. en Pharmacol.* Bd. 59. 1908.
- 68 GREENHOWE. *Trans. clin. Soc. London.* 1868. I, p. 40.
- 69 GULL. *Lancet* 1866. XII. 381.
- 70 GÜNTHER. *Münch. med. Woch.* 1923, p. 517.
- 71 HANNEMA en RYTMA. *Lancet* 203. No. 24. p. 1217. 1922.
- 72 HARLEY. *Med. chir. transact. London.* 1865.
- 73 HASSAL. *Lancet* 1865. II, p. 368.
- 74 HAYEM. *Semaine Medic.* 1888, p. 74 en p. 281.
- 75 ——— *Semaine Medic.* 1889, p. 86.

- 76 HERTZ EN MAMROT. Arch. de Med. Exper. Sept. 1912, p. 561.
 77 HERZFELD EN KLINGER. Bioch. Zeitschr. 87. 36. 1918.
 78 HIRSCHFELD EN KLINGER. Berl. Klin. Woch. 1914, No. 25.
 79 ——— Bioch. Zeitschr. 70, p. 404.
 80 HITZENBERGER. Wien. Gesell. inn. Med. 1931. 7. V.
 81 HÖGLUND. Acta med. Scardin. Vol. LXVI. 1927, p. 33.
 82 HOOVER EN STONE. Arch. of internal Med. 2. 392. 1908.
 83 HIJMANS VAN DEN BERGH. Ned. Tijd. v. Geneesk. 1904. Dl. I, p. 726.
 84 ——— Ned. Tijd. v. Geneesk. 1909. 2e helft. No. 3, p. 188.
 85 ——— Berl. kl. Woch. 1909. No. 27, p. 1251.
 86 ——— Berl. kl. Woch. 1909. No. 35, p. 1609.
 87 ——— Revue de Med. 1911.
 88 ——— Strassbourg Medic. 5 Oct. 1926. Tom. I, fasc. IX. No. 19.
 89 IGLAUER EN FRENREISZ. Klin. Woch. 1934. No. 24, p. 880.
 90 JEHLÉ. Wien. klin. Woch. 1913, p. 325.
 91 CH. EN B. JONES. Arch. int. Med. 29. 669. 1922.
 92 KAST. Deutsch. med. Woch. 1884, p. 840.
 93 KAZNELSON. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 138, 1922.
 94 KOBERT. Beitr. z. Kenntn. der sapon. Subst. Stuttgart. 1904.
 95 — EN KÜSSNER. Berl. klin. Woch. 28 Oct. 1878, p. 635.
 96 KONDO. J. of Med. Assoc. Formosa. 1926.
 97 KRETZ. Wien. klin. Woch. 1903, p. 528 en p. 545.
 98 KROKIEWICKS. Wien. klin. Woch. 1911. No. 14, p. 487.
 99 KUMAGAI EN INOUÉ. Deutsch med. Woch. 1912, 361.
 100 ——— Mitt. a.d. med. Fakult. d. K. Univ. z. Tokio X 1912. 243.
 101 KUMAGAI EN ITO. Mitteil. a.d. med. Facult. d. K. Univ. z. Tokio 1916.
 T XVI. No. 2, p. 227.
 102 KÜSSNER. Deutsch. med. Woch. 1879. 475. No. 10.
 103 LANDOIS. (gecit. n. STRÜBING).
 104 LANDSTEINER. Münch. med. Woch. 1902. No. 46.
 105 ——— Münch. med. Woch. 1903. No. 42.
 106 ——— EN JAGIC. Münch. med. Woch. 1903. No. 18.
 107 LANGSTEIN. Med. Klin. 1905. No. 45, p. 1140.
 108 ——— Berl. klin. Woch. 1905. No. 34.
 109 LEGG. St. Barthol. Hospit. Reports. London. 1874. X, p. 71.
 110 LÉPINE. Rev. Mensuelle de Méd. et de Chirur. Paris 1880. T IV 722.
 111 ——— Soc. Méd. Hôp. de Paris. 24 Febr. 1888 (Sem. Med. 1888).
 112 LEVY EN VALENSI. Gazette d. Hôpit. 1910. 527.
 113 LICHTENSTEIN. Transact. of the Eighth Congr. of the Far Eastern
 Assoc. of Tropical Med. Bangkok Dec. 1930.
 114 LICHTHEIM. Volkmann's Samml. klin. Vortr. 1878. No. 134, p. 1147.
 115 LICHTMANN. Med. Klin. 26. 735. 1930.
 116 LICHTWITZ. Berl. klin. Woch. 1916. No. 46. 1233.
 117 LINDBOM. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 79, p. 147. 1913.
 118 LOMMEL. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 109.

- 119 LUDKE. Kongr. inn. Med. 1914. 623.
- 120 LUZATTI en SORGENTE. Arch. f. Kinderheilkunde 1901. Bd. 32.
- 121 MAKENZIE. Lancet 1879. II. p. 116—155.
- 122 ——— Virch. Hirsch. Jahr. Berichte f. 1880.
- 123 ——— Lancet 1884. I 156, 198, 243.
- 124 MACKENZIE. Medicin. 8. 1929 (ref. Kongr. Z. Blatt. Bd. 54, p. 585).
- 125 MANNABERG en DONATH. Deutsch. Arch. f. klin. Med. LXV. 1899.
- 126 MARCHIAFAVA. Policlinico 35. H. 3. 109. 1928.
- 127 ——— Policlinico 36. No. 40. 1419. (1928).
- 128 ——— Policlinico 38. 5. 1931.
- 129 MATTIROLLO en TEDESCHI. Wien. med. Woch. 1904, p. 258.
- 130 MEYER. Hofmeisters Beiträge. 1908. B. 11.
- 131 ——— Bethe's Handbuch der Physiologie 6. 586. 1928.
- 132 MEYER-BETZ. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 101. 86. 1911.
- 130 MEYER en EMMERICH. Berlin. klin. Woch. 1909, p. 231.
- 134 ——— Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 96. 287. 1909.
- 135 MILLARD. Bull. et Mem. d.l. Soc. med. Hôpit. de Paris. 13 April 1888,
p. 175. (Semaine Medic. 1888, p. 156).
- 136 MORO en NODA. Berl. klin. Woch. 1909, p. 231.
- 137 ——— en BENJAMIN. Münch. med. Woch. 1909. XI, p. 545.
- 138 MURRI. Riv. clin. di Bologna 1879. T IX.
- 139 ——— Dell' Emoglobinuria da freddo Bologna 1880.
- 140 ——— Riv. clin. di Bologna 1885. T IV, p. 5.
- 141 ——— Allg. Wien. med. Zeit. 1885. No. 25-32.
- 142 NÆGELI. Blutkrank. u. Blutdiagn. 1931.
- 143 NOCHT. Verh. d. Deutsch. Kolonial. Kongr. 1905. 218. (gecit. n. WEISE).
- 144 ——— en KIKUTH. Arch. f. Schiffs u. Tropenhygiene 1929. Bd. 33, p. 355.
- 145 OVERTON. Vierteljahrschrift Naturforsch. Gesellsch. Zürich 40. 1. 1895.
- 146 ——— Vierteljahrschrift Naturforsch. Gesellsch. Zürich 44. 88. 1899.
- 147 PASCUCCI. Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6. 543.
1905.
- 148 PATRICK MANSON. A treatise on tropical diseases 1896.
- 149 PAUL. Wien. Arch. f. inn. Mediz. 7. 531. 1924.
- 150 PEL en BURGERHOUT. Ned. Tijdschr. van Geneeskunde 1907, p. 1593.
- 151 PLEHN. Virch. Arch. B. 174. 1903. Heft 3.
- 152 ——— Arch. f. Schiffs- v. Tropenhygiene 1920. Bd. 24. No. 11.
- 153 PONFICK. Virch. Arch. Bd. 62. Heft 3.
- 154 ——— Berl. klin. Woch. 1874. No. 28.
- 155 ——— Kongr. inn. Med. 1883. p. 205.
- 156 POPPER. Östeir. Zeitschr. f. prakt. Heilk. 1868. p. 657.
- 157 PORGES en STRISOWER. Wien. klin. Woch. 1913. No. 5. p. 193.
- 158 ——— Deutsch. Arch. f. klin. Med. 117. 13. 1915.
- 159 PORT. D. Arch. f. klin. Med. Bd. 99-259. 1910.
- 160 PRINGSHEIM. Münch. med. Woch. 1912. No. 32. 1757.
- 161 QUINCKE. Annal. d. Physik u. Chemie. N. F. 35. 580. 1888.

- 162 RANSOM. Deutsch. med. Woch. 27. 1901. 194.
 163 RISAK. Z. f. klin. Med. Bd. III. p. 472.
 164 ROBIN. Bull. Soc. med. d. Hôpit. 24 Febr. en 13 April 1888. (Sem. Med. 1888, p. 156).
 165 ——— Bull. Soc. med. d. Hôpit. 25 Mei 1888. (Sem. Med. 1888, p. 225).
 166 ROHRER. Zeitschr. f. Ohrenheilk. Bd. 39. 1901. (Gecit. n. BURCKHARDT).
 167 ROSENBACH. Berl. klin. Woch. 1880. XVII. p. 132.
 168 ROSENTHAL. Zeitschr. f. klin. Med. 119. 449. 1932.
 169 ROSIN. Kongr. inn. Med. 1910. 454.
 170 VAN ROSSUM. Diss. Amsterdam 1877.
 171 RUSZNYAK. Bioch. Zeitschr. 104, p. 9.
 172 ——— Bioch. Zeitschr. 105. 117. 1920.
 173 RYWOSCH. Pflüg. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 116. p. 229. 1907.
 174 SALÉN. Acta, med. Scandinav. Suppl. XI. 1925.
 175 ——— Acta med. Scandinav. 1925. Bd. 62. p. 621.
 176 ——— Acta med. Scandinav. 1927. Bd. 66. H. 6. p. 566.
 177 ——— Acta med. Scandinav. 1931. Bd. 75.
 178 SALLE. Bull. Soc. med. Hôpit. Paris. 13 April 1888, p. 169.
 179 SALVIOLI. Arch. f. Schiff. u. Tropenhygiene 1922. Bd. 26. No. 1.
 180 SAXL. Wien. Gesell. inn. Med. Mei 1928.
 181 SCHADE. Bethe's Handbuch der normalen und pathol. Physiol. XVII. p. 419.
 182 SCHEEL. Norsk. Mag. Laegevidensk. 1925. p. 248.
 183 VAN DER SCHEER. Ned. Tijd. van Geneesk. 1904. I, p. 878.
 184 SCHELLONG. Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 34. p. 82. 1923.
 185 SCHEUBE. Die Krankheiten der warmen Länder. p. 152. 1900.
 186 SCHOEPS. Deutsch. med. Woch. 30 Sept. 1932, p. 1563.
 187 SCHÜFFNER. Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indie 1918. Dl. 58.
 188 SECCHI en LEBERT. Berl. klin. Woch. 1872. No. 20, deel IX, p. 237.
 189 SILVESTRINI. Spallanz. Modena 1881. X 65.
 190 — en CONTI. Spallanz. Modena. 1880. IX. 472.
 191 ——— Sperimentale Firenze 1881. LVII. 478.
 192 SIREDEY en GARNIER. Bull. et Mem. Soc. med. Hôpit. Paris. 7 Juni 1895.
 193 SOUTHY. St. Barthol. Hosp. Reports 1880. Vol. XVI. p. 16.
 194 STEWARD. (Gecit. n. LEGG).
 195 STRÜBING. Deutsch. med. Woch. 1881. No. 1.
 196 VIOLA. (Gecit. n. CHIARUTTINI).
 197 WEIL en CHEVALLIER. Compt. Rend. d.l. Soc. de Biol. 29 Nov. 1913, p. 475.
 198 WEIL EN STIEFFEL. Compt. Rend. d.l. Soc. med. des Hôpit. 11 Dec. 1925.
 199 ——— Compt. Rend. d.l. Soc. med. des Hôpit. 16 April 1926, p. 587.
 200 ——— Sang I. No. 2. 123.
 201 WEISE. Abhandl. aus d. Gebiete der Auslandkunde Hamburg Univ. Bd. 26. Reih. D. Med. B. 2.

- 202 WICHELS. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 102 H 4/5. p. 484. 1925.
203 WIDAL. Soc. de Biol. 11 Maart 1905.
204 WIDAL, ABRAMI. Les Reins. 1927.
205 WIDAL, ABRAMI en BRISSAUD. Bull. d.l. Soc. de Biol. 12 Nov. 1913.
206 ——— Bull. d.l. Soc. de Biol. 6 Dec. 1913.
207 ——— Bull. d.l. Soc. de Biol. 20 Dec. 1913.
208 ——— Sem. Medicale. 24 Dec. 1913.
209 WIDAL en ROSTAINE. Compt. Rend d.l. Soc. de Biol. 1905.
210 ——— Compt. Rend d.l. Soc. de Biol. 24 Febr. 1906, p. 407.
211 WILKS. Med. Times and Gazette 1879. T II. p. 207.
212 WINDAUS. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 42. 238. 1909.
213 YERSIN. Soc. de Biol. 8 Juni 1895.
214 ZONDEK. Münch. med. Woch. 1920. 810.

STELLINGEN

I

De cutane kippeneiwit-reactie van MORO heeft slechts weinig belang voor de diagnostiek der eczemen bij kinderen.

II

De intraveneuse toediening van natriumnitriet met natriumhyposulfiet bij cyaanwaterstof vergiftiging verdient aanbeveling.

III

De Nervus recurrens behoort bij minstens de zevende kieuwboog zenuw.

IV

Bij bloedsuikerbepalingen bij patienten met anaemie dient rekening te worden gehouden met het volumen der erythrocyten ten opzichte van het plasma.

V

Het onderzoek aangaande de therapeutische werking van herhaalde lumbaalpuncties bij retinitis albuminurica verdient de aandacht.

VI

Het verdient aanbeveling bij de Röntgendiagnostiek van aandoeningen in de schedel-bijholten de gebruikelijke contrast-middelen, die slechts toestaan in één vlak het beeld van het slijmvlies te ontleden, te vervangen door contrast-middelen, die zich in een dunne laag aan het slijmvlies oppervlak hechten en daardoor een plastisch beeld geven.

VII

Bij hyperemesis gravidarum is het verhoogde acetongehalte van het bloed een aanwijzing voor het instellen van een glycose-insuline behandeling.



U
19