Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

De polyphenoloxydase : voorkomen en localisatie in de Grandry-lichaampjes, veranderingen tijdens de- en regeneratie der zenuwschijf na doorsnijding der zenuwen, verband met de protoplasmastofwisseling, met mitochrondrien en glycogeen

https://hdl.handle.net/1874/321437

Acq. 192, 1935

DE POLYPHENOLOXYDASE

VOORKOMEN EN LOCALISATIE IN DE GRANDRY-LICHAAMPJES. VERANDERINGEN TIJDENS DE- EN REGENERATIE DER ZENUWSCHIJF NA DOORSNIJDING DER ZENUWEN. VERBAND MET DE PROTOPLASMASTOFWISSELING, MET MITOCHRONDRIEN EN GLYCOGEEN

F. PAUW

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

DE POLYPHENOLOXYDASE

Diss. Utrecht 1935

DE POLYPHENOLOXYDASE

VOORKOMEN EN LOCALISATIE IN DE GRANDRY-LICHAAMPJES. VERANDERINGEN TIJDENS DE- EN REGENERATIE DER ZENUWSCHIJF NA DOORSNIJDING DER ZENUWEN. VERBAND MET DE PROTOPLASMASTOFWISSELING, MET MITOCHRONDRIEN EN GLYCOGEEN

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. H. BOLKESTEIN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TE VERDEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE OP DINSDAG 2 JULI 1935, DES NAMIDDAGS TE 5 UUR DOOR

FRITS PAUW, ARTS

GEBOREN TE VUGHT

1935

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan mijne Ouders.

VOORWOORD.

Ter gelegenheid van de beëindiging van mijn proefschrift wensch ik U allen, Hoogleeraren en Docenten van de medische faculteit der Utrechtsche Universiteit, ten zeerste dank te zeggen voor het onderwijs, dat ik van U heb mogen ontvangen.

Deze dankbaarheid geldt zeker in de eerste plaats U, Hooggeleerde B o e k e, Hooggeachte Promotor. Toen ik ongeveer negen jaren geleden mijne intrede deed op Uw laboratorium, om mijne belangstelling voor de Histologie om te zetten in meer daadwerkelijke beoefening, vermoedde ik niet, dat het contact met de spheer, die ik daar aantrof, voor mij van steeds grooter beteekenis zou worden en een stempel zou drukken op mijne geheele wetenschappelijke vorming. Uwe voortdurende belangstelling en vormende kritiek en de groote vrijheid, die gij mij steeds liet, heb ik immer op hoogen prijs gesteld. Hebt dank voor den raad en de hulp, die ik van U mocht ontvangen bij de oplossing van soms groote moeilijkheden, die niet steeds in direct verband stonden met de studie. Hebt dank ook voor het assistentschap, dat gij te mijner beschikking steldet en waardoor de bewerking van dit proefschrift mogelijk werd. Uwe opdracht, tot het brengen van een bezoek aan het laboratorium van Professor Dr. Marinesco te Boekarest, heb ik naar mijn beste weten volbracht. Dit alles heeft veel van blijvende waarde achtergelaten, wat mij niet meer ontnomen kan worden.

Hooggeleerde L a m e r i s, dat gij mij na de beëindiging van mijne studie in de gelegenheid steldet, assistent te worden in Uwe kliniek, beschouw ik als een zeer groot voorrecht. Ik zal mijne beste krachten blijven wijden aan het klinische werk en

aan de studie van de problemen, welke daarmede verband houden.

Ook aan U, Zeergeleerde Berkelbach van der Sprenkel, mijn hartelijken dank voor alles, wat gij voor mij deedt. In al die jaren heb ik niet éénmaal tevergeefs aan de deur van Uwe werkkamer geklopt; steeds vond ik U bereid, om Uwe kennis en ervaring te mijner beschikking te stellen. De velerlei gedachtewisseling op allerlei gebied heb ik steeds zeer op prijs gesteld.

Moge ik ook een woord van hulde en eerbied wijden aan de nagedachtenis van wijlen Mejuffrouw Dr. van Herwerden. Zij was het eigenlijk, die mijne eerste schreden op het pad der Histologie leidde. Ik ben dankbaar voor de belangstelling, den raad en de hulp, die ik, vooral bij vroegere onderzoekingen, van haar heb mogen ontvangen.

Zeergeleerde Akkeringa, gij hebt mede richting gegeven aan mijn werk. Uwe uitgebreide kennis, ook op het terrein der Cytologie, en Uwe voortdurende belangstelling waren voor mij van zeer veel beteekenis.

Zeergeleerde Dijkstra, dat ik Uwe onderzoekingen van nabij heb kunnen volgen, was voor mij van veel waarde. Ik dank U en ook U, Zeergeleerde Frederikse, voor de vele blijken van vriendschap, welke ik van U mocht ontvangen.

Waarde Keidel, ik geloof niet, dat ik de vele gesprekken op Uwe kamer nog ooit zal vergeten.

Mejuffrouw Plantinga, ten zeerste mijn dank voor de zorgvuldige wijze, waarop gij U met de bereiding van een deel der preparaten hebt willen belasten.

Den Heer de Bouter dank ik voor de vele aanwijzingen bij de vervaardiging van de teekeningen.

Geachte van Doorne en Buisman, de aangename wijze, waarop gij mij steeds behulpzaam waart, heb ik zeer op prijs gesteld. U, Buisman, dank ik ook voor Uw onuitputtelijk geduld en de groote toewijding bij de behandeling en de verzorging der proefdieren.

INHOUD.

INLEIDING.

Meer en meer dringt, nu we er door steeds verder gaande perfectioneering van de methoden van zilver- en goudimpregnatie na aan toe zijn de meest periphere zenuweindigingen te hebben zichtbaar gemaakt en we de fijnste fibrillenstructuren zich hebben zien oplossen in het protoplasma van daarmede in verband staande cellen, zich de vraag aan ons op, of er ook iets zichtbaar gemaakt kan worden van processen, die afloopen in aansluiting aan de verwerking van expressievelijk aangebrachte prikkels aan daarvoor ontvankelijke perceptoren. Voortbouwend op eventueel belangrijke vondsten op dit gebied zullen we wellicht eerlang in staat zijn, ons een eenigermate duidelijke voorstelling te vormen over het wezen der prikkelperceptie en de verwerking daarvan langs de zenuw naar het bijbehoorende centrum.

Voor de studie van dit vraagstuk verdiende het aanbeveling om een gemakkelijk verkrijgbaar, eenvoudig gebouwd en voor ingrepen van verschillenden aard goed toegankelijk zenuweindapparaat te kiezen; en zeer geschikt leken ons hiervoor de lichaampjes van Grandry in de snavelhuid van de eend. Dit substraat bood bovendien het voordeel, zeer uitvoerig in zijn bouw en zijn relatie met de innerveerende zenuwen te zijn bestudeerd; terwijl de doorsnijding van deze laatste aanleiding geeft tot het zich voordoen van een reeks verschijnselen, die vooral op ons laboratorium herhaaldelijk en uitvoerig zijn onderzocht. Die bijzonderheden in samenhang te releveeren, ligt niet in de lijn van dit onderzoek; verschillende malen zal ik genoodzaakt zijn op enkele daarvan de aandacht te vestigen en ik volsta dus met overigens

te verwijzen naar de litteratuurlijst aan het eind van mijn verslag.

We zijn uitgegaan van de veronderstelling, dat wanneer een prikkel wordt aangebracht aan het eindorgaan, bij de verwerking daarvan en het transport op de innerveerende zenuw alle bestanddeelen van dat eindorgaan een rol spelen. In de eerste plaats zal daarom de celstofwisseling ter sprake moeten komen; hoe moeilijk dat speciaal in dit geval ook zal zijn, waar het immers gaat om een systeem van ver van elkaar verwijderde, onderling niet samenhangende, cellen. Ik wil mij dan ook bepalen tot een onderdeel daarvan; de rol der oxydase. Hiervan moet dan vooreerst worden vastgesteld, of ze ook in de Grandry-lichaampjes voorkomt en verder of, wat menigmaal verondersteld wordt, die oxydase („granulations dites oxydasiques" van Hollande) werkelijk in verband gebracht mag worden met de stofwisselingsprocessen en ook of zij inderdaad gelocaliseerd moet gedacht worden in bepaalde bestanddeelen van het protoplasma, waarbij ik dan aanleiding heb, vooral aan de mitochondrien te denken.

Ook de celkern zal ter sprake komen en wel in het bijzonder haar zoo wisselende ligging in de tastcellen onder verschillende omstandigheden.

In een tweede, afzonderlijk deel van dit verslag zal het gaan over de veranderingen, die het chondrioom der Grandry-lichaampjes vertoont bij de regeneratie na doorsnijding van de innerveerende zenuw. De veranderingen bij de degeneratie zijn reeds door Lawrentjew (50) op dit laboratorium onderzocht.

Dan nog gingen onze gedachten uit naar eventueel voorkomend glycogeen, dat, voor zoover ik heb kunnen nagaan, in Gandry-cellen nog nimmer aangetoond werd; evenmin trouwens als in andere zenuwcellen, behalve dan onder pathologische omstandigheden.

KRITIEK EN BESCHOUWINGEN.

De waarde van elke histologische reactie op oxydasen wordt door verschillende factoren bepaald, die men in twee groote groepen zou kunnen indeelen. In de eerste groep moeten dan die factoren worden ondergebracht, welke den aard der reactie bepalen: de gebruikte reagentia, het gevormde eindproduct en in het bijzonder hiervan de localisatie in het protoplasma en de oplosbaarheid in bepaalde protoplasmabestanddeelen; eindelijk ook de omstandigheden, waaronder de reactie verliep en de snelheid van dat verloop. In de tweede groep zouden die factoren kunnen worden ondergebracht, welke de plaats bepalen, welke de oxydasen innemen in de celhuishouding, hun rol bij de celfunctie en celstofwisseling.

In de reeds vrij uitgebreide literatuur over dit onderwerp zijn talrijke publicaties te vinden, waaruit blijkt, dat niet steeds met al deze factoren werd rekening gehouden, waardoor vele bevindingen zijn geboekstaafd, die met andere in vaak flagrante tegenspraak zijn; hierdoor valt de waardeering der verschillende uitkomsten zeer moeilijk.

De bijna uitsluitend gevolgde methode voor het aantoonen der oxydase is die, aangegeven door von Gierke, later gemodificeerd door Gräff (34) en Marinesco (54), waarbij gebruik gemaakt wordt van een mengsel van gelijke deelen aequimoleculaire oplossingen van a-Naphthol en Dimethylparaphenyleendiamine onder aanwezigheid van zuurstof. Een vriescoupe van b.v. versch hartspierweefsel, in deze vloeistof gebracht, vertoont na één à twee minuten een intensieve blauwkleuring, terwijl het mengsel zelf nog geheel of bijna geheel kleurloos is; microscopisch ziet men dan een

zeer rijke korreling in de vezels. Deze granula liggen in overlangs verloopende reeksen tusschen de fibrillen en op daarvoor gunstig getroffen gedeelten ziet men ook een oriënteering in dwarse richting, overeenkomend met de dwarsstreeping. Deze aanpassing aan de microscopische structuur der spiervezels maakt het reeds onwaarschijnlijk, dat we hier te doen zouden hebben met eenvoudige neerslagvorming van indophenolblauw. Ook is het niet aannemelijk dat, zooals Dietrich (18) verkondigt, deze blauwe korrels lipoïddruppels zouden zijn, gekleurd door absorptie van het indophenolblauw, dat gevormd werd bij de spontane oxydatie van het mengsel. Het is wel zeer onwaarschijnlijk, dat de in verloop van slechts zeer weinige minuten gevormde sporen indophenolblauw in staat zouden zijn de cellipoïden zoo intens en zoo massaal blauw te kleuren. De kleurstof moet in hooge concentratie ter plaatse zijn ontstaan. Het veel gebruikte tegenargument, dat indophenolblauw in weefselvetten met violette kleur oplost (Fiessinger en Roudowska (24) durf ik niet zonder meer te laten gelden. Door langdurige inwerking van het oxydasemengsel worden namelijk de buitenste epidermislagen van de snavelhuid van de eend zuiver blauw gekleurd. Er bestaan dus ook vetachtige stoffen, eventueel complexen daarvan, waarin het indophenolblauw met blauwe kleur oplost. Dat het vet zich onder verschillende omstandigheden verschillend kleurt blijkt ook daaruit, dat de violette kleur van vetdruppels na inbedding van de coupe in glycerine plaats maakt voor een meer roodachtige; terwijl levervet na fixatie volgens Orth door een oplossing van indophenolblauw in diacetine weer vrijwel zuiver blauw gekleurd wordt.

Theoretisch mogelijk blijft zeker, dat een kleine vetdruppel van de grootteorde der oxydasegranula na verloop van tijd zooveel kleurstof in zich opneemt, dat zij niet meer van een oxydasekorrel valt te onderscheiden. Maar als zulks plaats vindt binnen de hoogstens 15 minuten, gedurende welken tijd de coupes voor het tot stand komen der oxydasereactie in het

mengsel moeten verblijven, dan geloof ik dat men veilig mag aannemen, dat in loco die groote hoeveelheid indophenolblauw werd gevormd, en dus ter plaatse van het vetdruppeltje oxydase aanwezig was. En practisch komt het er dus op neer, dat we het vetdruppeltje als een oxydase„granulum" beschouwen kunnen.

Menigmaal heb ik ook waargenomen in preparaten, welke te lang in het oxydasemengsel hadden gelegen, waardoor ook vetdruppels waren medegekleurd, dat tegen sommige daarvan een oxydasegranulum was gelegen, intensief blauw gekleurd. Vooral in de kapsel der H e r b s t-lichaampjes heb ik deze nauwe relatie tusschen vet en oxydase kunnen bestudeeren. Ik waag het niet hiervan een interpretatie te geven (oxydatieve vetsplitsing?). Steeds was het intensief blauw gekleurde oxydasegranulum duidelijk van het veel lichter, meer violetblauw, gekleurde vetdruppeltje te onderscheiden. Dat in dit geval het vet zoo weinig affiniteit vertoonde voor de kleurstof, neergeslagen op het oxydasegranulum is overigens wel merkwaardig in verband met de waarschuwing van enkele onderzoekers, dat uit een slechts zwak positief, of zelfs negatief uitvallen van de oxydasereactie in leverweefsel niet mag geconcludeerd worden, dat de lever slechts weinig oxydase bevat, juist omdat op de oxydasegranula neergeslagen indophenolblauw daaraan direct weer door het celvet wordt onttrokken, waardoor de granula nauwelijks of niet meer zichtbaar zijn (G r ä f f 33).

Menigmaal vond ik in de litteratuur de aanwijzing, om steeds naast de oxydasereactie ter controle afzonderlijke coupes met Sudan III of Scharlachrot op vet te kleuren. Maar zooals uit het bovenstaande volgt, acht ik dit overbodig, als men het oxydasemengsel steeds eerst vlak voor gebruik gereed maakt, de concentratie der reactiecomponenten zoo laag mogelijk kiest (1—3000 is voldoende!) en men de coupes niet langer dan noodzakelijk voor het tot stand komen der reactie in het mengsel laat vertoeven. Overigens zijn aan een dergelijke methode toch verschillende bezwaren verbonden:

1. Gräff (33) wijst er op, dat de geringe affiniteit van het gevormde indophenolblauw tot zijn primair oplosmiddel een vergelijking met Sudan III-preparaten zeer moeilijk maakt.

2. Het is zeer wel mogelijk, dat die zeer kleine, volgens sommigen tot verwarring aanleiding gevende, vetdruppels in het Sudan III-reagens oplossen [1]).

3. Het is nog onbekend of het indophenolblauw een even algemeen en even specifiek vetkleurmiddel is als Sudan III en Scharlachrot. Er bestaat integendeel aanleiding tot de veronderstelling, dat indophenolblauw ook een geringe affiniteit vertoont voor andere in granulairen vorm voorkomende bestanddeelen van het protoplasma. Hierover later meer.

Dat ik op geenerlei wijze er in slaagde om in de lichaampjes van Grandry de aanwezigheid van vet aan te toonen, was eindelijk een reden te meer om van de vervaardiging van controlecoupes met vetkleuring af te zien.

Door het lang laten liggen van de coupes in het oxydasemengsel kunnen zich nog twee andere complicaties voordoen. Eerstens is het mogelijk, dat onder bepaalde omstandigheden de oxydasegranula weder ontkleurd worden (Zweibaum 70). Ten tweede moeten we dan rekening houden met de vorming van uiterst fijne indophenolblauwkorrels in het spontaan aan de lucht oxydeerende mengsel. Het versch bereide oxydasemengsel wordt door spontane oxydatie reeds na enkele minuten blauw gekleurd. De vloeistof blijft echter aanvankelijk volkomen helder; de eerste sporen indophenolblauw blijven in oplossing. Geleidelijk neemt de helderheid af en als men na verloop van 45—60 minuten een druppel microscopisch onderzoekt, dan ziet men hoe daarin tallooze

---

[1]) Door oplossing van het Scharlachrot in diacetine (Grosz 37), waarin de weefselvetten niet of nauwelijks oplosbaar zijn, zou men aan dit bezwaar tegemoet kunnen komen. Inderdaad kon ik met behulp van een Scharlachrot-diacetineoplossing in de lever van de muis veel meer vet aantoonen dan met een oplossing van Scharlachrot in alcohol. Ook met een verzadigde oplossing van indophenolblauw in diacetine, vervolgens verdund met een gelijk volume water, laat het vet zich goed kleuren.

bolletjes van indophenolblauw zweven ter grootte van de oxydasegranula. De dispersiteit van de aanvankelijk colloïdale oplossing neemt dus af en de deeltjes bereiken een grootte van naar schatting 0,5—1 μ. Ze hebben dan de uitgesproken neiging om zich overal tegen af te zetten: op den bodem en de wanden van het vat, aan het oppervlak van de vloeistof, tegen de onderzijde van een horizontaal daarin geplaatst dekglas, maar ook tegen eventueel aanwezige weefselcoupes. Ze dringen hierbij diep in de oorspronkelijk met weefselvocht gevulde, maar nu leeggespoelde weefselspleten en rangschikken zich langs celoppervlakken en vezels; en zoo is licht een verwisseling met oxydasegranula mogelijk. Deze geheele vormingswijze van het indophenolblauw vindt niet onder alle omstandigheden even snel plaats. Men kan de opeenvolging der phasen verlangzamen door verhooging van de PH. van het milieu; terwijl door temperatuursverhooging en verder door de toevoeging van een stukje versch weefsel, of van sporen van verschillende zouten (vooral zware metaalverbindingen) het proces meer of minder versneld kan worden.

Vrijwel algemeen wordt aan de oxydasereactie localisatorische waarde toegekend; het gevormde indophenolblauw slaat ter plaatse neer, c.q. aan de oppervlakte van bepaalde celgranula, die dus als de dragers van het ferment worden beschouwd. Door hun lipoïdgehalte (?) kan de kleurstof ook in de granula diffundeeren.

In verband hiermede is het noodzakelijk op twee andere mogelijkheden te wijzen. Eerstens het door Hollande (40) geïntroduceerde begrip: „oxydase non figurée". Volgens deze opvatting zou het oxydaseferment in de cel diffuus verbreid voorkomen. Het indophenolblauw, door deze diffuus verspreid voorkomende oxydase gevormd, zou direct in lipoïd bevattende „indophenophile granula" diffundeeren. Het manifest worden van de oxydase zou dus afhankelijk zijn van de aanwezigheid van deze granula; maar ook zou uit het gehalte aan deze granula geen enkele conclusie getrokken mogen worden omtrent localisatie van de oxydasefunctie. Maar deze

gedachtegang moet onjuist zijn. Hollande kon slechts in enkele celsoorten „indophenophile granula" vinden, terwijl toch door andere onderzoekers de granulaire indophenoloxydase in de meeste weefsels gevonden werd en beschreven (Gräff 33, Katsunuma 45). Daarenboven is het nog onzeker, of op die plaatsen, waar deze oxydase tot nu toe niet gevonden werd, zij durante vita ook niet voorkomt. Wij zien ook nooit het indophenolblauw diffuus aan de oppervlakte der cel neerslaan (Fiessinger en Jamin 23). Nooit ook wordt op plaatsen, waar geen „indophenophile granula" aanwezig zijn, het door een eventueel toch aanwezige „oxydase non figurée" gevormde indophenolblauw zichtbaar door het optreden van een diffuus blauwe kleur of een diffuus verspreid blauw neerslag. Ook is men er, naar ik meen, nog niet in geslaagd in die granula lipoïd op eenigerlei andere wijze aan te toonen (spierweefsel, gangliencellen). De aanwezigheid van een eenvoudige physische affiniteit der granula voor indophenolblauw acht ik ten minste twijfelachtig, en waar die toch mocht blijken door de coupes gedurende langen tijd (½—1 uur) te laten vertoeven in een vlak voor gebruik met water verdunde alcoholische oplossing van indophenolblauw (zie Hollande), mag zij nog niet, zooals schrijver doet voorkomen, gelden als argument voor de juistheid van zijn theorie. Ook Fiessinger en Jamin (23) maken, alleen reeds wegens dit groote tijdverschil, onderscheid tusschen de kleurreactie met het eindproduct (indophenolblauw) en de zuivere oxydasereactie.

Ten tweede is het mogelijk, dat indophenolblauw, gevormd door spontane oxydatie van het mengsel aan de lucht, diffundeert in korrels, die op dat oogenblik geen drager meer zijn van het ferment; hetzij, doordat dit middelerwijl te gronde is gegaan, wat reeds korten tijd na het afsterven van de cel plaats vindt, of doordat de protoplasmastofwisseling ter plaatse in een rusttoestand verkeert. Ik geloof niet, dat in de betreffende granula het ferment steeds in actieven toestand aanwezig is; maar dat het daarin verschijnt en verdwijnt in

aansluiting aan den steeds wisselenden functietoestand van de beschouwde cel of van het beschouwde celdeel. Maar ook nu loopen we dit gevaar pas, als we geen geheel versch oxydasemengsel gebruiken van zoo gering mogelijke concentratie en als we er de coupes langer in laten liggen dan noodzakelijk voor het tot stand komen der oxydasereactie. Ik heb telkens weer ervaren, dat door een te langdurig verblijf der coupes in het mengsel het mogelijk was beelden te verkrijgen, geheel gelijk aan echte oxydasepreparaten. Ik bracht lichaampjes van Vater-Pacini, geïsoleerd uit het mesenterium van de kat, in een oxydasemengsel, dat 10 uren van tevoren bereid en sedert dien onder vrijen toevloed van de zuurstof uit de lucht volledig geoxydeerd was. Voor gebruik werd de vloeistof nog door een grof filter gefiltreerd. Na 24 uren werden de lichaampjes in 70 % alcohol gebracht ter verwijdering van het diffuus granulair gepraecipiteerde indophenolblauw; ten slotte volgde inbedding in glycerine. De preparaten bleken volkomen te vergelijken met de teekeningen en te beantwoorden aan de beschrijvingen, welke Marinesco (57, blz. 9—10, 54, blz. 378—379) van de oxydase in deze eindlichaampjes geeft. Terwijl naar mijn ervaring de oxydasepreparaten van zenuweindlichaampjes, ook in glycerine, niet houdbaar zijn, konden de op bovenbeschreven wijze bereide preparaten zeer goed worden bewaard.

Hetzelfde geldt voor de Meisznerʼsche lichaampjes in den vingertop van den mensch en van Macacus resus. Zelfs na fixatie in Müller-formol gedurende 10 uren konden met behulp ook van het oxydasemengsel volgens Schulze (toebereid met KOH, PH. ± 9) preparaten worden verkregen, volkomen gelijk aan die van Marinesco (57, blz. 8). Ook in de lichaampjes van Grandry en van Herbst was het, zelfs na maandenlange fixatie in neutrale formol en evenzeer in Müller-formol gedurende 24 uren, mogelijk, fijne korrels te kleuren. Deze vertoonden ook naar hun localisatie in de zenuwschijf en in de tastcellen zeer veel overeenstemming met de echte oxydasegranula. De granulocyten vertoonden geen

oxydasereactie meer en in de in Müller-formol gefixeerde preparaten was een chromeering der erythrocyten reeds duidelijk zichtbaar.

Hoewel Marinesco waarschijnlijk met recht wees op de nauwe samenhang tusschen de oxydasefunctie en de intensiteit van de stofwisseling der cel, geloof ik niettemin, dat de toepassing van een niet geheel juiste techniek hem in menig opzicht op een dwaalspoor geleid heeft, en meer in het bijzonder betwijfel ik, of de door hem in deze eindlichaampjes beschreven vrij grove korrels oxydasegranula zijn. De overal langs de bindweefselfibrillen, langs de zenuwvezels en diffuus in de epidermis verspreid geteekende, vrij grove korrels wekken het vermoeden, dat Marinesco de coupes gedurende geruimen tijd, wellicht 1—1½ uur lang in het oxydasemengsel liet liggen. Ik wil dus allerminst ontkennen, dat ook in de lichaampjes van Meiszner en van Vater-Pacini, evenals in de lichaampjes van Grandry de polyphenoloxydase voorkomt. Ik heb ze trouwens, zij het bij uitzondering in de Meiszner'sche lichaampjes als uiterst fijne granula in het spiraalvormige verloop van de neuriet en, spaarzamer, in de lemnoblasten kunnen vinden. Maar deze beelden beantwoorden niet aan die, welke Marinesco er van geeft.

Ik meen dus, dat de door Marinesco geteekende korrels eensdeels granula zijn van eiwitachtigen, mogelijk ook van lipoïden aard, gekleurd met indophenolblauw, maar daarom nog niet drager van het oxydaseferment, andersdeels neerslag van bolvormige indophenolblauwdeeltjes tegen cellen en vezels aan. Hoe wij ons die affiniteit van deze granula voor het indophenolblauw moeten indenken, is moeilijk uit te maken. Wellicht is het een kleurproces van aan eiwit gebonden vetachtige stoffen, die aan de behandeling met alcohol en benzol hebben weerstand geboden. De aanwezigheid van vet of van lipoïd in deze korrels heb ik op eenigerlei andere wijze echter niet kunnen vaststellen.

Wellicht ook hebben we hier met een geheel ander proces te doen, namelijk een katalytische ijzerfunctie. Volgens

Warburg (o.a. 1921) komt ijzer mozaïksgewijze verspreid voor aan de oppervlakte van celgranula, die gelocaliseerd zijn als de polyphenoloxydase. Ook Katsunuma (46) spreekt van histosiderine, gebonden aan celgranula, die gelocaliseerd zijn als de oxydasegranula. Zooals verder algemeen bekend, wordt door verschillende onderzoekers aan dit gemaskeerde ijzer een belangrijke rol toegeschreven bij de oxydatieprocessen der cellen (Warburg 1921, Batelli en Stern, Schade, Euler 1920—'21) [1]). Het is hier dus van groot belang, dat waarschijnlijk na ophouden der oxydasefunctie door afsterven van het protoplasma dat ijzer nog aanwezig zijn en de oxydatie van het oxydasemengsel ter plaatse katalytisch versnellen kan. We zouden hier dus een reactie op gemaskeerd ijzer voor ons hebben.

Ik wijs er nadrukkelijk op, dat, willen we met behulp der oxydasereactie een inzicht verkrijgen in de stofwisselingsprocessen van de cel, we de reactie op de intacte oxydase scherp gescheiden moeten houden niet alleen van kleuring van vetten en vetachtige stoffen in fijn verdeelden vorm, maar ook van alle andere stoffen, die het indophenolblauw in zich kunnen oplossen of het om zich heen kunnen doen neerslaan. We kunnen niet volstaan met het aantoonen van het „complémentaire active seu stabile" met zijn katalytische ijzerfunctie (Bertrand). Eerst de aanwezigheid van het „complémentaire activante seu labile" stempelt het geheel tot actief oxydaseferment. Het is dit co-ferment, dat de reactie reeds in 10—15 minuten doet verloopen. Van de celsoort, die we in onderzoek hebben, hangt af in welke mate dit co-ferment door zijn wisselende vulnerabiliteit ons parten kan spelen. Hoe

---

[1]) Reeds vroeger was de activeerende werking van zwaarmetaalionen (Fe., Mn., Cu., Zn., Ca.) voornamelijk bij plantenoxydasen gevonden (Bertrand 4, Gessard 27, Bach 3). Ook werden complexe ijzerverbindingen met oxydasewerking bereid, die door geringe verandering in de samenstelling, in de gebruikte PH., of het gebruikte co-ferment nu eens als oxydase en dan weer als peroxydase op verschillende substraten konden worden afgestemd.

grooter die is, hoe meer uitgebreid wij onze voorzorgen moeten nemen. Zoo is de oxydase in spierweefsel zeer gemakkelijk aan te toonen, zelfs als het weefsel niet meer geheel versch is. Het is niet noodzakelijk een isotonisch oxydasemengsel te gebruiken of zorg te dragen voor een optimale PH. De preparaten zijn bestand tegen inbedding in glycerine en ook vrij goed tegen nakleuring met verschillende basische kleurstoffen, zooals erythrosine en pyronine. Ook een fixatie in lugol en lithiumcarbonaat verdragen ze vrij goed. De oxydase echter in gangliencellen en in regenereerende zenuwen bleken mij veel minder bestand tegen het chemisch ingrijpen en het aantoonen der oxydase in de lichaampjes van Grandry mislukte aanvankelijk zelfs geheel.

Ook Marinesco wees reeds op dit wisselende gedrag der polyphenoloxydase in verschillende weefsels, maar uitgewerkt heb ik deze gedachte nergens kunnen vinden. Het lijkt mij alleszins plausibel om in deze richting de verklaring te zoeken voor de onderlinge tegenstrijdigheid veler beschrijvingen in de litteratuur, juist omdat in een en hetzelfde granulum zoo verschillende functies in voortdurend wisselende mate kunnen zijn vereenigd.

Het is dus wel merkwaardig dat, ondanks het nemen van tallooze voorzorgen en het toepassen van allerlei kleine variaties in de techniek van de reactie, ik in verschillende weefsels de oxydase kon vinden, alleen in de zenuweindlichaampjes niet. Het gebruik van geheel versch materiaal natuurlijk vooropgesteld, leverde het werken bij verschillende waterstofionenconcentraties van PH. 7—9 geen resutaat op; evenmin het varieeren van de concentratie der reactiecomponenten a-naphthol en dimethylparaphenyleendiamine en het gebruik van versche en oudere mengsels; noch ook het werken bij verschillende temperaturen en het vermijden van elk inbeddingsmedium en van elke nakleuring. De coupes werden in een druppel oxydasemengsel op een objectglas gebracht en onmiddellijk microscopisch onderzocht. Hoewel de steeds aanwezige leucocyten na verloop van een paar minuten een in-

tensieve reactie vertoonden, bleven de lichaampjes van Grandry ledig. Hier waren twee mogelijkheden: òf de polyphenoloxydase komt in zenuweindlichaampjes (c.q. Grandry-lichaampjes) niet voor, òf de gevolgde methode was ontoereikend en het oxydasemengsel niet gevoelig genoeg. In dit laatste geval bleef nog over te trachten door toevoeging van ionen, die de zuurstofoverdracht versnellen, zooals dit van Fe., Cu., Mn. en Zn. bekend is, de gevoeligheid van het mengsel te verhoogen. Voor wat betreft Fe., Mn. en Zn. had dit onmiddellijk resultaat en kon ik in de lichaampjes van Grandry fijne oxydasegranula vinden. Telkenmale herhaald, waarbij van een enkel stukje snavelhuid coupes werden gebracht in oxydasemengsel zonder en mengsel met toevoeging van die ionen, werd steeds een zelfde resultaat verkregen en wel in dien zin, dat, eenigermate schematisch uitgedrukt, in het mengsel met een spoor ijzer- (mangaan- enz.) zout òf alle lichaampjes positief reageerden òf alle negatief en dus niet het eene lichaampje wel en het andere geen oxydase bleek te bevatten. Deze bijzonderheid, waarbij dus bij enkele eenden de oxydasereactie in alle lichaampjes van Grandry negatief uitviel, dwong tot het zoeken van een verklaring. Hierover later meer.

In de litteratuur vond ik later deze bevordering van de oxydatie van het oxydasemengsel bevestigd; zoo spreken Gräff (35), Katsunuma (44, 46), Harrison (38) van activeering door toevoeging van sporen metaalzout. Ook in vitro is deze versnelling waar te nemen. Waarschijnlijk hebben we ook hier een katalytische werking voor ons, want er behoeven slechts uiterst geringe hoeveelheden metaalzout te worden toegevoegd (b.v. 0,02 $^0/_{00}$ $FeCl_3$). Voor het daarbij optreden van een rose verkleuring van de oplosssing van dimethylparaphenyleendiamine heb ik geen verklaring kunnen vinden.

Tot slot moge ik nog wijzen op de restrictie, die wij ons hebben op te leggen overal daar, waar we uit het gehalte aan oxydasegranula van een cel of van een celdeel conclusies

willen trekken aangaande den plaatselijken functietoestand. We mogen nimmer vergeten, dat we het onderzoek verrichten met behulp van celvreemde agentia en methoden in afstervende of reeds afgestorven cellen, dat we dus het oxydaseferment uitlichten uit het geheel van alle, ons grootendeels nog onbekende, stofwisselingsprocessen en ontdaan van allerlei factoren, die een remmenden of bevorderenden invloed kunnen doen gelden (Loele 51, Chodat en Rouge 15). Ik denk hier vooral aan een mogelijk in het spel zijnde dehydrasewerking (Wieland), en aan een anticatalase (Stern 67), aan permeabiliteitsveranderingen van het protoplasma, aan den invloed der waterstofionenconcentratie. We moeten dus de eindconclusie van Gräff: „Die Nadireaktion gibt sicheren Aufschlusz über die oxydative Leistungsfähigkeit der lebenden Zelle" vooral zóó interpreteeren, dat daarbij niets wordt gezegd over de intensiteit der werkelijk in gang zijnde oxydatieprocessen, maar enkel over het oxydatieve vermogen van de cel.

TECHNIEK.

De benoodigde reagentita a-Naphthol en Dimethylparaphenyleendiamine werden door mij betrokken van de firma E. Merck in Darmstadt. In zuiveren toestand is het a-Naphthol een wit en het D.p.p.diamine [1]) een roodgrijs poeder. De laatste stof is zeer hygroscopisch en ontleedt gemakkelijk, welk proces door licht wordt bevorderd; ik bewaarde haar hierom in de ijskast, ingesmolten in kleine ampulles van bruin glas. Met water moet een rose oplossing ontstaan; een violette kleur wijst op ontleding, de substantie is dan voor de reactie niet meer geschikt.

Als solvens gebruikte ik steeds leidingwater en niet gedestilleerd water. Eenerzijds bevat dit laatste relatief weinig zuurstof en is de aciditeit door zijn gehalte aan vrij CO_2 meest vrij hoog (vaak PH. 4,4). Daarentegen is het Utrechtsche leidingwater zeer zuiver en bevat naar mijn bevindingen geen stoffen, die storend inwerken op het tot stand komen der oxydasereactie; zijn zuurstofgehalte is zeker veel hooger, dan in gedestilleerd water gemeenlijk wordt aangetroffen, terwijl zijn PH. vrijwel constant 7,1—7,3 is. Door zijn gering gehalte aan, voornamelijk als bicarbonaat gebonden, kalk is het feitelijk een zeer zwak geconcentreerde bufferoplossing, die in staat is, door het glas tijdens den korten duur van de reactie afgegeven, sporen alkali op te vangen. Het gelukte dan ook met leidingwater beter dan met aqua destillata, door toevoeging van enkele druppels van een daarvoor geschikte

---

[1]) Dimethylparaphenyleendiamine.

base de PH. op het, voor het snel tot stand komen van de oxydasereactie, optimale niveau van 7,6—7,8 te brengen en hier eenigen tijd op te houden.

Dit zijn alle gunstige factoren: een zoo hoog mogelijk zuurstofgehalte van het oxydasemengsel is natuurlijk bevorderlijk voor het snel tot stand komen van de reactie, vooral waar ik werkte met een weefselsoort, waarin de oxydase zich kenmerkt door groote vulnerabiliteit. Om deze reden wilde ik ook toevoeging van een buffermengsel vermijden. Om zooveel mogelijk het uitloogen van de oxydase tegen te gaan, is het nl. noodig een isotonisch mengsel te gebruiken, wat moeilijk valt, als men nog apart buffermengsel moet toevoegen. Hierom ook hield ik voor mijn onderzoek de techniek van Gräff (34) voor ongeschikt, omdat daarbij van een niet isotonisch oxydasemengsel wordt gebruik gemaakt, wat volgens mij geen aanbeveling verdient, als men met zoo groot mogelijke zekerheid antwoord wil geven op de vraag, of op een bepaalde plaats al dan niet polyphenoloxydase aanwezig is. Wel zou men aan een op zich zelf reeds isotonisch oxydasemengsel een eveneens isotonisch buffermengsel kunnen toevoegen, maar het is duidelijk, dat aan de bereiding hiervan technische bezwaren zijn verbonden. Ook wordt het zeer bezwaarlijk, om de om boven reeds uiteengezette reden toegevoegde sporen ijzer- en mangaanzout in oplossing te houden, als er in het oxydasemengsel meer dan absoluut noodig voorkomt van een verbinding die in staat is, deze metaalionen neer te slaan.

De gang van zaken bij het doen van de reactie was steeds als volgt: Een ruime hoeveelheid physiologische zoutsolutie werd door indruppelen van een zwakke ($^1/_{20}$ N.) boraxoplossing gealkaliniseerd tot een PH. 7,6. Dit geschiedde volgens de indicatorenmethode met behulp van phenolrood als indicator, een reeks bufferstandaardoplossingen van PH. 7,0—8,4 en de comparator van Walpole. Er werd rekening gehouden met een zoutfout van 0,2 PH. wegens het verschil in ionale sterkte van de bufferstandaardoplossingen en de te

gebruiken keukenzoutoplossing. Voor nadere details verwijs ik naar het werk van Kolthoff (49).

Den dag voor het gebruik werd de oplossing van a-Naphthol bereid. 150 mgr. a-Naphthol werden met 100 cc NaCl-oplossing in een bruine flesch op een waterbad verwarmd onder zacht schommelen tot algeheele oplossing en daarna nog 150 cc oplosmiddel toegevoegd, waarna het geheel in de ijskast werd bewaard tot gebruik. Dezen weg volgend, bereikte ik, dat zoo weinig mogelijk zuurstof bij de verhitting ontweek. De oplossing wordt langzamerhand troebel en dient dan ook vlak voor gebruik gefiltreerd te worden; de PH. werd daarna nogmaals gecontroleerd.

Van het D.p.p.diamine werden vlak voor gebruik eveneens 150 mgr opgelost in 250 cc NaCl-oplossing.

De toevoeging aan het oxydasemengsel van een spoor ferrichloride levert bezwaren op; ten eerste doet dit zure zout de waterstofionenconcentratie stijgen, deze moet dus op het oude niveau worden teruggebracht door toevoeging van een basisch zout; verder ontleedt ferrichloride in dit alkalische milieu en vormen zich basische ferrizouten, die slechts zeer weinig oplosbaar zijn. De bevorderende werking op het tot stand komen van de reactie valt reeds bij een concentratie van 0,01 $^0/_{00}$ ferrichloride te bespeuren; voegt men meer dan 0,03 $^0/_{00}$ toe aan het oxydasemengsel, dan ontstaat vaak reeds tijdens de reactie een zeer lichte troebeling, ten teeken dat basisch ferrizout neerslaat, wat om begrijpelijke redenen moet worden vermeden.

Een 5,4 % standaardoplossing van ferrichloride (1 N.) werd voor gebruik 20 maal verdund; van de $^1/_{20}$ N. oplossing 5 cc gebracht in een bruin glazen flesch van 300 cc inhoud en dan de, zoo juist gefiltreerde en zoo nauwkeurig mogelijk op een PH. 7,6 ingestelde, oplossing van a-Naphthol toegevoegd en bovendien nog 5 cc $^1/_{20}$ N. boraxoplossing.

De bereiding van deze boraxoplossing geschiedde als volgt: aan 500 cc 0,9 % NaCl-oplossing (PH. 7,6) voegde ik 5 cc $^1/_{20}$ N. ferrichloride toe en ging vervolgens na, hoeveel $^1/_{20}$ N.

boraxoplossing moest worden toegevoegd, om de PH. weer tot 7,6 terug te brengen. Nooit vond ik, dat hiervoor juist 5 cc noodig waren; steeds was het iets meer of iets minder. Stel, dat 4,7 cc hiervoor noodig waren; de boraxoplossing was dus iets te sterk en aan 100 cc daarvan dienden nog 6 cc water te worden toegevoegd.

De D.p.p. diamineoplossing werd gefiltreerd in een bruine flesch van 250 cc en hieraan 5 cc 1 % mangaanchlorideoplossing toegevoegd. Van neerslaan van mangaanzout heb ik nooit iets bespeurd, waarom ik ook van dit zout een wat grootere hoeveelheid toevoegde.

Deze techniek lijkt ingewikkeld, maar is het niet, als men zich behoorlijk inwerkt. Men stelle zich nu niet voor, steeds bij een PH. van juist 7,6 te werken; de foutengrens naar boven en naar beneden bedraagt zeker 0,1 PH. en wellicht zelfs iets meer, maar ik geloof niet, dat deze kleine onnauwkeurigheid bij dit biologische onderzoek als een belangrijk bezwaar mag gelden.

De door omsnijding verkregen stukjes snavelhuid werden steeds in verschen toestand in onderzoek genomen; de op het ijsmicrotoom ter dikte van 10—12 μ gesneden coupes kwamen direct in het oxydasemengsel, dat bestond uit 15 cc der a-Naphthol- en eveneens 15 cc der D.p.p.diamineoplossing. Ze verbleven daarin 10 tot hoogstens 20 minuten en werden, ingebed in een druppeltje van het oxydasemengsel, direct daarna bestudeerd. Ter voorkoming van verdamping werd het preparaat met paraffine omrand.

De aldus bereide preparaten blijven slechts enkele weinige en, indien bewaard in de ijskast, 12 tot 18 uren goed. De blauwe kleur der korrels verbleekt langzamerhand; op plaatsen, waar de reactie sterk positief was, vormen zich daarbij door omkristallisatie blauwpaarse kristallen van indophenolblauw. Door diverse inbeddingsmedia wordt dat verbleekingsproces zeer versneld. Gelatine bleek door zijn moeilijk neutraal te houden reactie onbruikbaar; eveneens glycerine, al of niet met water verdund. Betere resultaten werden ver-

kregen met glycerine, die na toevoeging van een weinig kristallijn indophenolblauw eenigen tijd sterk werd verhit en daarna heet gefiltreerd. Daarbij ontstaat een bruinrose, verzadigde oplossing van indophenolblauw, die blijkbaar het verbleken der granula belemmert, maar daarbij niet beter conserveerend werkt dan het oxydasemengsel zelf. Ik zag dus ook van glycerine als inbeddingsmilieu af en handelde uitsluitend als boven beschreven.

Een fixatie van de kleuring met behulp van lugol en lithiumcarbonaat, zooals Marinesco (54) die beschrijft, bleek niet uitvoerbaar. Reeds in de lugol verbleeken de oxydasekorrels geheel. Nakleuring met erythrosine, of andere basische kleurstoffen, volgens aanwijzingen van denzelfden schrijver, mislukte evenzeer om dezelfde reden.

EIGEN ONDERZOEKINGEN.

De Oxydase in de normale lichaampjes van Grandry.

In de dunne coupes zijn aan de Grandry-lichaampjes slechts weinige bijzonderheden waar te nemen. Het makkelijkst zijn zij te vinden bij kleine vergrooting als ovaalvormige lichtere plekken in het onderhuidsche bindweefsel. Van dit laatste ziet men bij sterke vergrooting (olie-immersie!) de vezels plaatselijk uiteenwijkend de vaag zichtbare kernen der kapselcellen omgeven. Deze liggen eng aangesloten aan de tastcellen. Een grenslijn tusschen beide celsoorten is niet te zien. Ook de tastcellen sluiten steeds zonder tusschenruimte op elkander, waardoor in de dwarscoupes slechts zeer vaag een dunne scheidingslijn is te zien, die alleen duidelijker wordt daar waar de zenuwschijf is getroffen, die dan als een vrij dikke, egale streep is te vervolgen.

Daar waar reeksen van kernen, die er uitzien als die van de kapselcellen, zich verder van de lichaampjes verwijderen, kan men het verloop vermoeden van de bijbehoorende zenuw.

Een structuur in het protoplasma der tastcellen is nauwelijks zichtbaar, soms is uiterst vaag een fijn netwerk te zien. Verder worden in wisselende mate korreltjes aangetroffen en vierkante, vrij sterk lichtbrekende lichaampjes, die aan kristalletjes doen denken.

De oxydasegranula hebben een typische localisatie. Als de reactie positief is, is zij steeds het duidelijkst in de zenuwschijf; hier zijn de korrels het grootst en het dichtst gezaaid. Voortzetting in de innerveerende zenuw heb ik nimmer waargenomen, deze was steeds vrij van oxydase.

In sterk reageerende lichaampjes vindt men de granula ook in de peripherie der tastcellen, vlak onder hun oppervlak en in het protoplasma der kapselcellen. Het centrum der normale Grandry-cellen is meestal vrij van oxydase; een typische localisatie perinucleair heb ik niet gevonden.

Wat de sterkte der oxydasereactie betreft, deze bleek in de eerste plaats samen te hangen met de grootte der korrels, in minder sterke mate met hun aantal (afb. 1, 2). Deze waarneming geeft aanleiding tot het vermoeden, dat aanvulling van het oxydaseferment wellicht niet alleen plaats heeft door transport van granula van uit de voedstercellen, maar wellicht ook door plaatselijken opbouw. Voor deze opvatting zou ook kunnen pleiten het feit, dat de reactie steeds het sterkste is ter plaatse van de zenuwschijf en niet in 'de kapselcellen, wat toch voor de hand zou liggen indien deze de leveranciers waren van het ferment.

Nog een bijzonderheid valt vaak waar te nemen, nml. rangschikking der granula in reeksen van meerdere of mindere lengte. Vooral is dit het geval in de periphehie der tastcellen, waar vaak duidelijk is te zien, dat de reeksen zich buiten de cel voortzetten tot in het protoplasma der kapselcellen (afb. 1, 2 en 3). Ook hier bijkt dus weer een intensieve relatie te bestaan tusschen kapselcellen en tastcel, zich niet bepalend tot een eenvoudig contact en waarbij materiaaltransport van de eene celvorm in de andere plaats heeft, zooals o.a. voor de mitochondrien door Dogiel (20) en op ons laboratorium door Lawrentjew (50) is beschreven, als een bewijs te meer voor het onverbreekbaar geheel, dat kapselcellen en tastcellen onderling vormen.

Experimenteele activeering der oxydase.

Reeds boven werd vermeld, dat niet in alle Grandrylichaampjes de oxydasereactie positief bevonden werd en wel in dien zin, dat niet het eene lichaampje positief en het andere negatief reageerde, maar dat, eenigermate schematisch uit-

gedrukt, in een bepaald stukje snavelhuid òf in alle G r a n d r y-lichaampjes de oxydase te vinden was, òf in alle ontbrak. En dan was het zeer vaak zoo, dat in andere stukjes huid, van de zelfde eend genomen, de uitkomst telkens dezelfde was. Dat voor het ontbreken der oxydase in bepaalde gevallen een oorzaak moest bestaan, lag voor de hand; maar uit te maken viel deze natuurlijk niet. Over den adaequaten prikkelvorm weten wij eigenlijk niets en of, wat dit betreft, de negatief reageerende lichaampjes in een toestand van rust of van inactiviteit verkeerden, was dus niet na te gaan. Voor het mogelijk achten van niet specifieke invloeden als gezondheidstoestand, voeding, bestaat voorloopig geen aanleiding.

Dat vooral bij die eenden, waar in de snavelhuid slechts zeer sporadisch lichaampjes van G r a n d r y werden gevonden en deze dus voor die dieren functioneel waarschijnlijk van weinig belang waren, de reactie negatief zou zijn, daarvan is bij het uitgebreide materiaal, dat door mij werd onderzocht, nooit iets gebleken.

Een andere vraag was deze, of door het appliceeren aan de snavelhuid van prikkels van verschillenden aard bij eenden, waar de oxydasereactie negatief bevonden was, deze positief gemaakt kon worden. Ik trachtte dit te bereiken door aanbrengen van verschillende prikkels, mechanische, thermische en electrische. Daar ik enkel de bedoeling had, zoo mogelijk een verhooging van den functietoestand te verkrijgen, moest angstvallig voor het ontstaan van zelfs de geringste beschadiging van het weefsel gewaakt worden; want deze zou noodwendig secundair regeneratieve processen doen intreden, waardoor het oxydasegehalte ter plaatse toeneemt, hetgeen aan de waardeering van een eventueel ook positief worden van de oxydasereactie in de lichaampjes van G r a n d r y afbreuk zou doen. Ik moest dus als doel stellen de reactie enkel en alleen in de eindlichaampjes positief te doen worden en elke aanzameling ter plaatse van leucocyten en actieve zwerfcellen, als fijn reagens op verhoogde weefselactiviteit, vermijden, wat overigens gemakkelijk viel te controleeren,

daar deze celvormen, gekenmerkt door hun rijk gehalte aan oxydase, in de preparaten direct in het oog vallen. Hierom al viel van mechanische prikkeling weinig waardevol resultaat te verwachten, daar zij vooral bij langdurige toepassing de cellen zwaar beschadigt.

Ik ging als volgt te werk. Voor deze prikkelproeven werden uitsluitend eenden gebruikt, bij welke op drie achtereenvolgende dagen in drie, op onderling zoo ver mogelijk van elkaar verwijderde plaatsen ontnomen stukjes huid alle Grandry-lichaampjes oxydase-negatief reageerden.

A. *Mechanische prikkeling.*

De klepel van een eenvoudige electrische bel werd voorzien van een bosje fijne penseelharen, waarna ik haar hiermede op kleine gedeelten snavelhuid gedurende meerdere malen per dag een uur lang liet roffelen. Tot positief worden van de oxydasereactie leidde deze behandeling echter niet, ook wanneer ik haar nog enkele malen herhaalde.

B. *Thermische prikkeling.*

Hierbij werd enkele dagen lang, telkens gedurende vier tot acht uren een gedeelte van den snavel bespoten met water van 40—42° C, waarna met tusschenpoozen van een dag stukjes huid op oxydase werden onderzocht. Maar ook hierdoor heb ik nimmer de oxydasereactie in de lichaampjes van Grandry positief zien worden.

C. *Electrische prikkeling.*

Met behulp hiervan echter bleek het gestelde doel te bereiken. Om storende bijverschijnselen door ionisatie te vermijden, gaf ik aan faradische prikkeling met behulp van een eenvoudigen inductor van Rhumkoff de voorkeur boven galvanische. Er werd als volgt te werk gegaan: De heele snavel werd bedekt met een dunne laag warme paraffine; na stolling hiervan werden op het te prikkelen snavelgedeelte op onderlingen afstand van 1 cm twee evenwijdige gleufjes van 0,5 cm

lang gekrast, reikend tot op de huid. De gleufjes werden opgevuld met een druppel NaCl-oplossing 5 % en hierin de twee electroden gedoopt, er voor zorgend dat zij de huid niet raakten. Aldus werd gedurende een dag drie à vier maal telkens 10 tot 15 minuten lang geprikkeld, waarbij de stroomsterkte zoo was geregeld, dat bij plaatsing van de electroden op den rug van de hand, de stroom duidelijk voelbaar, maar niet in het minst pijnlijk was. De paraffinelaag werd, om eenigerlei invloed op de huid te vermijden, na elken keer prikkelen weer verwijderd. 4—12 uren na de laatste prikkeling werden de stukjes huid uitgenomen en onderzocht. In zeven achtereenvolgende proeven bleek de oxydasereactie in vrijwel alle Grandry-lichaampjes (en ook vaak in de lichaampjes van Herbst) in meer of mindere mate, soms zeer sterk, positief te zijn geworden. Er waren zelfs gevallen, waarbij niet alleen de zenuwschijf en het niveau van de kapsel maar ook het inwendige der tastcellen vol was van oxydasegranula, wat ik in Grandry-lichaampjes onder geheel normale omstandigheden slechts zeer zelden heb waargenomen. Merkwaardig was, dat alleen ter plaatse van de prikkeling de Grandry-lichaampjes oxydasepositief waren gaan reageeren; in huidgedeelten, meer peripheer gelegen, reageerden de lichaampjes nog negatief. Ook bij plaatsing van de electroden op den snavelwortel en vlak onder de neusgaten was het resultaat hetzelfde; voortgeleiding van dezen prikkel in peripheerwaartsche richting heeft dus niet plaats.

Een ophooping van leucocyten werd in geen der gevallen gevonden, evenmin als andere teekenen van weefselbeschadiging.

Er restte dus nog, zoo mogelijk de interpretatie van het gebeuren te vinden. Was het positief worden van de oxydasereactie enkele uren na de faradische prikkeling enkel een verschijnsel van verhoogde stofwisseling ter regeneratie van diffuse, overigens onzichtbare protoplasmabeschadigingen, of was hier sprake van een proces, dat werkelijk iets met verhoogde functie der Grandry-lichaampjes te maken had? Het

valt licht te begrijpen, dat ik niet in staat ben deze vraag op te lossen, waar ons immers over den aard dier functie niets naders bekend is. Ik wil er slechts op wijzen, dat het positief worden van de reactie volkomen tot de eindlichaampjes beperkt bleef, waardoor echter allerminst een soort electieve vulnerabiliteit voor faradischen stroom is uitgesloten. Maar ik deed nog een andere waarneming, die mij niet zonder belang schijnt te zijn, nl. de liggingsverandering, die de kernen der tastcellen bij deze prikkeling ondergaan. Reeds meerdere malen is door Boeke beschreven, hoe in normale lichaampjes van Grandry de ligging der kernen der tastcellen eene wisselende is. Vaak worden zij in het midden der lichaampjes aangetroffen, tegen de zenuwschijf aan gelegen, vaak zoodanig, dat een ledige plek ontstaat in het neurofibrillaire netwerk (Szymonowicz). In andere gevallen worden de kernen meer van de zenuwschijf verwijderd gevonden, en soms zelf tegen de peripherie der tastcellen aangelegen. Bij de degeneratie der zenuwschijf na doorsnijding van de afferente zenuw neemt de neiging der tastcelkernen om zich peripheerwaarts te verplaatsen toe, en worden zij nog slechts zelden gevonden tegen de zenuwschijf aangelegen. Door Dijkstra (19) is deze waarneming aangevuld in dien zin, dat bij regeneratie der afferente zenuw de kernen zich weer verplaatsen in de richting van de zich allengs nieuwvormende zenuwschijf, waarbij het aantal gevallen, waarin de kern vlak tegen de zenuwschijf aangelegen gevonden wordt, beduidend grooter is dan onder normale omstandigheden. Het ligt voor de hand dat door Boeke, zoowel als door Dijkstra samenhang wordt gezocht tusschen de ligging van de kern en de activiteit van de nerveuse eindplaat.

Aan de hand van een lange reeks preparaten heb ook ik getracht dergelijke verhoudingen in cijfers uit te drukken, mij daarbij de vraag stellend of de prikkeling door faradischen stroom ook invloed had op de ligging der kernen. Hiervoor werden eenden gebruikt waarbij, op bovenbeschreven wijze de oxydasereactie der Grandry-lichaampjes drie maal

achtereen negatief was bevonden. De eene snavelhelft werd weer driemaal op een dag faradisch geprikkeld en den volgenden dag werden de geprikkelde huidgedeelten en, ter contrôle, overeenkomstige stukjes huid van de niet geprikkelde snavelhelft, uitgenomen en onderzocht.

In de betrekking kern—tastschijf werden allereerst de volgende gevallen onderscheiden:

1 2 3

Het resultaat der tellingen was als volgt:

A. Aan de controlezijde

Volgens schema	I	37.5 %
„ „	II	45.0 %
„ „	III	18.5 %

Hier valt uit af te lezen, dat de liggingen volgens schema I en II het meeste voorkomen, die volgens schema III echter allerminst uitzondering is. Vergelijken wij deze uitkomsten met die welke Dijkstra heeft verkregen:

Volgens schema	I	25 %
„ „	II	63 %
„ „	III	12 % [1])

dan valt, de subjectieve factor in aanmerking genomen bij telling door twee personen in weliswaar op de zelfde wijze bereide preparaten, een vrije goede overeenkomst in beide gevallen waar te nemen.

---

[1]) Door Dijkstra werd gevonden:

		Regeneratie	Degeneratie
Volgens schema	I	69 %	12 %
„ „	II	19 %	18 %
„ „	III	12 %	70 %

B. Aan de proefzijde:

Volgens schema	I	82.5 %
„ „	II	15.2 %
„ „	III	1.3 %

De gevonden verschillen met tabel A. zijn wel zeer groot; maar het zou mogelijk kunnen zijn, dat zij niet beantwoorden aan de werkelijkheid. Het spreekt nl. vanzelf, dat niet in alle Grandry-lichaampjes de tastcelkernen symmetrisch liggen ten opzichte van de zenuwschijf, maar dat er ook zijn, waarbij in de eene tastcel de kern ligt aan den kant van de zenuwschijf en in de andere in het centrum van de cel, of zelfs aan de peripherie; en dit laatste vooral doet veel af aan de waardeering van de activiteit van de zenuwschijf, c.q. van het heele eindorgaan.

We zien dan ook, dat de verschillen, deze gevallen in aanmerking genomen, iets kleiner zijn. Ik onderscheidde hier de ligging der kernen in afzonderlijke tastcellen als volgt:

a. tegen de zenuwschijf aan,
b. in het centrum der tastcel,
c. lateraalwaarts in de tastcel,

en vond:

	Proefkant	Contrôlekant
a.	67.8 %	33.8 %
b.	27.0 %	46.6 %
c.	5.2 %	19.6 %

Dit zijn dus de waarnemingen; eerstens dat prikkeling met faradischen stroom een aanvankelijk negatieve oxydasereactie in de Grandry-lichaampjes positief doet worden en daarnaast de tastcelkernen zich in de richting van de zenuwschijf doet verplaatsen; welk laatste overigens ook onder invloed van regeneratieve prikkels (Dijkstra) het geval is blijken te zijn, terwijl bij degeneratie de kernen zich juist in tegengestelden zin bewegen en ook, zooals nog nader zal worden

beschreven, een aanvankelijk positieve oxydasereactie weer verdwijnt.

En gesteund ook hierop acht ik het waarschijnlijk, dat er samenhang bestaat tusschen de activiteit der onderzochte oxydase en den functietoestand van de zenuwschijf c.q. der Grandry-lichaampjes.

De Oxydase tijdens de regeneratie der zenuwschijf [1]).

Het vervolgen der regeneratieprocessen aan de hand van de oxydasereactie biedt uiteraard vele moeilijkheden. Fijne vezelstrukturen en de verhoudingen daarvan met het omgevende protoplasma blijven ten eenen male onzichtbaar en het valt dus licht te begrijpen, dat voor de waardeering van hetgeen men ziet, men inzicht moet hebben in de verschillende wijzen waarop de regeneratie kan plaats vinden, zooals reeds zoovele malen met behulp der bekende impregnatiemethoden is bestudeerd geworden en beschreven. Daar het in samenhang releveeren van al deze bijzonderheden mij teveel op zijwegen zou voeren, moet ik vooral de werken van Boeke (8, 10), Tamura (68) en Dijkstra (19) als bekend veronderstellen; voor wat de onderzoekingen van Dijkstra betreft, was ik in de gelukkige omstandigheid, die tot in details te kunnen medemaken, wat mij tot grooten steun is geweest bij het zoeken naar de zooveel mogelijk juiste interpretatie van hetgeen de oxydasereactie mij van de regeneratieprocessen openbaarde.

Volgens de door ons steeds toegepaste methode werden na afpoetsen van den snavel met aether stukjes huid ter grootte van ± 8 mm² tot op het periost omsneden, waarbij de continuïteit van alle naar dit gebied voerende zenuwen wordt verbroken. De wonden werden met enkele laagjes hydrophilegaas bedekt en dit met behulp van collodium op den

---

[1]) Om redenen van practischen aard gaat dit hoofdstuk vooraf aan dat hetwelk handelt over de oxydase bij de degeneratie.

snavel bevestigd. Wondcomplicaties werden door mij nimmer waargenomen. Ter bestudeering der regeneratieprocessen werden na 30—60 dagen de intusschen weder vastgegroeide stukjes uitgesneden en in onderzoek genomen.

Wat aan de gedegenereerde, nog niet door de weer aangroeiende zenuw bereikte, lichaampjes van Grandry vooral opvalt, is in de eerste plaats de volkomen afwezigheid van oxydase-granula, zoowel in de tastcellen als in de kapsel. De tastcellen zijn wat kleiner dan onder normale omstandigheden, hun kernen eveneens, en in het protoplasma diffuus verspreid zijn dezelfde korrels en op kristallen gelijkende lichaampjes te vinden als die, welke ik gewend was in de normale eindlichaampjes aan te treffen; nu echter in beduidend grooter aantal, klaarblijkelijk ook samenhangend met de plaats gehad hebbende degeneratie. Het aantal der kapselcellen is vermeerderd en hun kernen wat kleiner dan normaal. Resten der zenuwschijf werden meestal niet meer gevonden; op de plaats waar deze gelegen had waren soms nog een aantal korrels en fijne brokjes te zien.

Van tusschenruimten, door schrompeling ontstaan, welke schrompeling in gedegenereerde eindlichaampjes blijkens bevindingen van Dijkstra (19) bij de fixatie en inbedding in veel sterkere mate optreedt dan in normale eindlichaampjes, heb ik nimmer iets gevonden. Zij vormt dus wellicht een aanwijzing voor de andere samenstelling, c.q. het grooter wordend watergehalte van het protoplasma bij de degeneratie. Zij zou ook een uiting kunnen zijn van mindere stevigheid der protoplasmatische verbindingen tusschen de kapsel- en de tastcellen en tusschen de laatste onderling, waardoor het bij intredende schrompeling door de fixatie en de inbedding eerder komt tot verbreking daarvan.

Reeds enkele weken na de omsnijding zijn in de onderste lagen van de subcutis te midden van de tot Büngner'sche banden omgevormde gedegenereerde zenuwen de uiteinden

der jonge vezels te herkennen door hun rijk gehalte aan oxydase, waardoor ze scherp contrasteeren met de omgevende vaag zichtbare vezels en strengen, waarin enkel de overal nog in druppelvorm verspreid liggende resten der myelinescheeden zich in geringe mate met indophenolblauw kunnen hebben meegekleurd. Van de leucocyten zijn de jonge zenuwknoppen vooral te onderscheiden, doordat in de laatste de oxydasegranula veel fijner zijn.

6—8 weken p.o. hebben de uitgroeiende zenuwen het niveau der G r a n d r y-lichaampjes bereikt; men vindt dan dezelfde, met oxydase beladene eindknoppen meest terug tusschen de kapsel en de tastcellen (afb. 4, 5), waarbij opvalt dat nu in het algemeen iets grovere korrels worden aangetroffen dan in de bovenbeschreven stadia. Nu zien we ook in de tastcellen de reactie langzamerhand weer positief worden. We vinden weer enkele fijne granula, meestal midden in de tastcellen gelegen.

Daar, waar zooals bij de regeneratie zoo vaak het geval is, de zenuw over grootere uitgestrektheid verloopt tusschen de kapsel en de tastcellen, alvorens tusschen beide laatste binnen te dringen, zien we haar over die geheele uitgestrektheid van oxydase voorzien. De tastcel induceert dus in de daarmede in eenvoudig contact verloopende zenuw het positief blijven der oxydasereactie, ook daar waar niet een min of meer rijke afsplitsing van zijtakjes een verhoogde regeneratieactiviteit verraadt (afb. 5).

Hoe groot plaatselijk de ophooping van oxydasegranula kan worden, blijkt uit afb. 6, waar twee niveau's van één en hetzelfde G r a n d r y-lichaampje zijn afgebeeld. Links zien we de zenuwvezel in een wijden boog over de onderste tastcel heenloopen; onderaan wordt een zijtak afgegeven en alvorens tusschen beide tastcellen in te dringen, splitst zij nog enkele fijne vezeltjes af, welke overtollige vertakkingen later weer verdwijnen. Rechts zien we zoowel tusschen beide tastcellen als tegen de onderste aan een sterke ophooping van korrels; in beide gevallen hebben we een zenuwschijf voor. Uit het

preparaat bleek niet of hier een derde tastcel bezig was zich te ontwikkelen, mogelijk ook is de onderste tastschijf ontstaan door overmatige regeneratie en is zij bestemd om later weer te verdwijnen. (Zie ook Boeke (8, blz. 3, afb. 2) en Dijkstra (19, blz. 89—91).

Meer instructieve beelden leveren de tangentiaalcoupes. Waar een in eersten aanleg zich vormende zenuwschijf wordt aangetroffen, zien we de fijnste zich vormende zenuwvertakkingen aangegeven (afb. 7). Hier is wel duidelijk te zien in hoe nauw verband met de fijnste ons bekende structuren de oxydasegranula gelegen zijn, juist daar, waar we ons de protoplasmastofwisseling het intensiefste moeten denken. In dit reeds eenigermate gevorderde stadium van de regeneratie treedt ook in het protoplasma der kapselcellen de oxydase weer op en wel kreeg ik steeds den indruk, dat de granula zich van hieruit begeven in de buitenste lagen van het protoplasma der tastcel, daarbij dezelfde korte reeksen vormend, die we onder normale omstandigheden gewend zijn hier aan te treffen. Ook hier kan ik niet nalaten analogie te zoeken met het chondrioom, dat immers ook hier in deze buitenste zône van het protoplasma der tastcellen te vinden is in den vorm van min of meer lange chondriokonten (Dogiel, 20, Lawrentjew, 50) en die ook, zooals ik nog verder zal beschrijven, bij de regeneratie zich vormend in het protoplasma der kapselcellen vandaar uit binnendringen in de tastcellen.

Op nog een derde paats zien we bij de regeneratie de oxydasegranula optreden en wel in meer of mindere mate gelocaliseerd in een gebied rond de kern der tastcel (afb. 5, 8), nu echter niet in reeksen, maar afzonderlijk liggend, zooals ook voor de mitochondrien beschreven. Na afloop der regeneratie zien we uit dit gebied de oxydase weer verdwijnen.

In de weer bijna geheel geregenereerde zenuwschijf zijn de korrels buitengewoon dicht gezaaid; vanuit de intredingsplaats uitstralend zijn vaak lange reeksen granula te vervolgen (afb. 9), die blijkbaar zich rangschikken langs de fibrillen-

bundels (mitochondrien!). Aan den rand der zenuwschijf houdt de korreling vrij plotseling op. Dat ter plaatse overgang van oxydase vanuit de zenuwschijf in het protoplasma der tastcellen plaats vindt en ook, meer peripheerwaarts van de eene tastcel in de andere, zooals door Dogiel, Nowik (63), Lawrentjew voor het chondrioom werd beschreven, acht ik zeer waarschijnlijk. In afb. 8, waar in dwarse richting de rand der zenuwschijf is getroffen, zijn enkele reeksen granula te vinden, die erop wijzen, dat zulks inderdaad plaats vindt.

Ook daar, waar bij het snijden de zenuwschijf juist even was geraakt, vond ik deze nauwe relatie tusschen zenuwschijf en tastcel (afb. 10).

De oxydase tijdens de degeneratie van de zenuwschijf.

Voor de studie van de involutie der oxydase bij de degeneratie der lichaampjes van Grandry na doorsnijding van de zenuw viel rekening te houden met mijn bevinding, dat in een aantal gevallen reeds onder normale omstandigheden de oxydasereactie negatief is; het was dus noodig dit experiment zoodanig in te richten, dat ik zooveel mogelijk zeker kon zijn, dat op het oogenblik der doorsnijding de oxydase in alle eindlichaampjes in ruimen mate aanwezig kon worden geacht.

Het beste meende ik dit te kunnen bereiken door 60 dagen na de omsnijding, op welk tijdstip het regeneratieproces vrijwel is afgeloopen, maar de oxydasereactie in de eindlichaampjes nog regelmatig sterk positief wordt gevonden, de zenuwen weer opnieuw te doorsnijden en de hierdoor weer intredende degeneratie met behulp der oxydasereactie te bestudeeren.

Daar ik er van beginne af aan op bedacht ben geweest, localisatorisch verband te zoeken tusschen oxydase en mitochondrien, koos ik, om mijn uitkomsten te kunnen vergelijken met de, door Lawrentjew (50) beschreven veranderingen in het chondrioom van de degenereerende Grandy-lichaampjes, dezelfde data van onderzoek als

genoemde schrijver en werden dus de omsneden stukjes huid den 3en en den 9en dag uitgenomen en onderzocht.

Den 3den dag na deze tweede doorsnijding zijn de boven reeds beschreven degeneratieve veranderingen die ook in niet gefixeerde en gekleurde preparaten 30 dagen na de doorsnijding zoo duidelijk zijn waar te nemen, nog afwezig. Die geringe vormveranderingen en teekenen van atrophie, alsook de degeneratieve granuleering in het protoplasma der tastcellen treden trouwens pas tegen het einde der tweede week duidelijk voor den dag.

Het oxydasegehalte der Grandry-cellen echter is reeds 3 dagen p.o. duidelijk verminderd, vooral wat betreft het gebied rond de kern, waar nog slechts zeer verspreid de granula zijn te vinden. Zij zijn daar nu wat fijner dan bij de regeneratie, klaarblijkelijk een uiting der verminderde protoplasma-activiteit. In de buitenste zône van het protoplasma der tastcellen en in de kapselcellen is de vermindering minder uitgesproken; alleen valt regelmatig op, dat rangschikking der granula in korte reeksen veel minder wordt aangetroffen dan tegen het einde der regeneratie zoo veelvuldig het geval is.

De zenuwschijf vertoont zeer merkwaardige veranderingen. Op het eerste gezicht wekt zij regelmatig den indruk van sterk geschrompeld te zijn. Haar ligging wordt aangegeven door een dichte, schijnbaar ordelooze opeenhooping van oxydasegranula, waarvan de omranding vrij scherp uitkomt (afb. 11).

Deze ineenschrompeling van de zenuwschijf bij degeneratie heb ik nergens beschreven gevonden. Wel wordt regelmatig gesproken van een „stellenweise Durchlöcherung der Nervenscheibe" (Lawrentjew). Dijkstra (19) vindt 6 dagen na de doorsnijding: „schon tiefgehende Änderungen, und zuweilen sind sie (die Tastscheiben) nur mit Mühe noch zu finden. Soweit sie überhaupt noch anwesend sind, sehen sie wie durchlöchert aus". Ietwat afwijkend hiervan luidt de beschrijving die Perez (64) hiervan geeft: „la dégénération

se manifeste par une diminution dans l'intensité de coloration du ménisque nerveux..... et peu à peu, les disques prennent l'aspect de taches homogènes dans lesquelles il est impossible de reconnaître aucune structure réticulaire, et ils finissent par disparaître complètement". Aan de hand van mijn bevindingen acht ik ook mogelijk, dat er een aan den rand der zenuwschijf beginnende en centraalwaarts voortschrijdende degeneratie van het neuroplasma intreedt, waarmede gepaard gaat een successievelijk verdwijnen der oxydasereactie. Ik voeg er echter nadrukkelijk bij, dat ik deze meening uitsluitend grondvest op wat ik in mijn oxydasepreparaten heb gezien. Er zou ook een geleidelijke retractie van het neuroplasma kunnen plaats vinden, bij welke retractie de oxydasegranula worden meegevoerd, maar dan zou ook aan de mitochondrien ditzelfde verschijnsel zijn te vinden, wat echter noch door Lawrentjew, noch door mij ooit is waargenomen. Nader onderzoek, waarbij dan speciaal aandacht worde gewijd aan het tusschen de neurofibrillen liggende neuroplasma, dunkt mij wèl gewenscht.

9 dagen p.o. worden slechts bij groote uitzondering in de Grandry-lichaampjes nog enkele zeer weinige oxydasegranula aangetroffen en wel voornamelijk in de buitenste lagen van het protoplasma der tastcellen; afb. 12, waarbij in tangentiale richting de tastcel, en daarbij ook even nog de in de peripherie liggende kern is aangesneden, geeft hiervan een beeld. De kapsel en de resten van de zenuwschijf heb ik dan steeds vrij van oxydase gevonden.

HET CHONDRIOOM DER LICHAAMPJES VAN GRANDRY

onder normale omstandigheden, tijdens de degeneratie en tijdens de regeneratie van de zenuwschijf.

Inleiding.

De gedachte, dat er, wat de localisatie betreft, verband zou bestaan tusschen de oxydase en het chondrioom, is reeds enkele malen uitgesproken en schijnt van groot belang, vooral in het licht der nieuwere onderzoekingen, waarbij steeds duidelijker aan den dag is gekomen hoe het chondrioom bij de stofwisselingsprocessen van de cel een gewichtige rol speelt.

Aanstonds moet worden toegegeven, dat wellicht geen enkel der bewijzen, die worden aangevoerd voor deze functie van het chondrioom bij de stofwisseling, klemmend is. De ingewikkelde bewerking, waaraan de weefsels voor het exclusief kleuren van het chondrioom en voor het verkrijgen van gedetailleerde beelden moeten worden onderworpen, geeft wegens de daarbij optredende coagulatie en ontmenging van het protoplasma ons slechts onvolkomen houvast bij de beoordeeling van de relaties van het chondrioom in het levende protoplasma (zie b.v. Cowdry 16). Maar desondanks is het de veelheid der verschijnselen, die het vermoeden wekt, dat bovengenoemde grondstelling niettemin juist is (zie b.v. Nageotte 61).

Algemeen bekend is de bijzondere taak die het chondrioom schijnt te vervullen bij het secretieproces van de cellen (lever, pancreas, speekselklier, ei); verder ook, hoe in zeer verschil-

lende celsoorten, niet alleen van plantaardigen, maar ook van dierlijken aard een geleidelijke overgang is beschreven van de mitochondrien naar verschillende paraplasmatische korrels zooals pigment-, vet-, glycogeen- en albumoïdekorrels en wel zuiver als uiting van de normale functie van de cel. Daarnaast bleek uit de bevindingen van Noël (62), hoe onder invloed van hongeren of van zeer eenzijdige voeding (eiwit, vet) het chondrioom van de lever belangrijke veranderingen vertoont. Ook het transport van chondrioom, dat plaats vindt vanuit bepaalde cellen in andere, die daarmede, hoewel ongelijksoortig, functioneel nauw gelieerd zijn (cellen van Sertoli en tusschencellen van Leydig in de testikel, follikelcellen en eicel in het ovarium, kapselcellen en tastcellen der Grandry-lichaampjes van de eend) verdient gememoreerd te worden. Een vermeerdering van chondrioom is vastgesteld bij verschillende vormen van verhoogde activiteit, zooals in de thryreoidea by Hyperthyreoidismus (Goetsch 32) en in tumoren (Favre en Regaud 21), verder ook bij de regeneratie. Wat dit laatste betreft werd reeds in 1913 door Romeis (65) een aanzienlijke vermeerdering van het chondrioom in regenereerend bindweefsel beschreven; maar ook de „bouts terminaux" van de, na doorsnijding, weer uitgroeiende zenuwen blijken rijk van mitochondrien voorzien (Nageotte 61, Marinesco 59).

Ook bleken bij degeneratieve toestanden ook in het chondrioom regressieve veranderingen op te treden (in de gangliencellen by Amaurotische Idiotie, (Marinesco 58), in de Grandry-lichaampjes na doorsnijding van de zenuwen (Lawrentjew 50).

Verder zijn er nog, zij het slechts enkele, aanwijzingen, dat het chondrioom ook een rol speelt bij de oxydo-reductieprocessen van de cel. Joyet-Lavergne (43) vond bij Protozoen en Mollusken, by Phanerogamen en bij Psalliota campestris in het chondrioom een stof gelocaliseerd, waarvan reeds vroeger was aangetoond, dat op het gehalte daaraan een deel van het reduceerend vermogen van weefsels moet

berusten: het Glutathion. Dit Glutathion, een verbinding tusschen glycocol, cysteine en glutaminezuur, werd reeds in 1921 door Hopkins uit de weefsels geïsoleerd en bleek zijn, ook in vitro duidelijk, reduceerend vermogen te danken aan de cysteinecomponent [1]). Van dit cysteine vereenigen zich telkens twee moleculen onder afsplitsing van twee atomen waterstof tot een molecule cystine. Deze reactie is reversibel, zoodat dus de aanwezigheid van geoxydeerd glutathion, dat de neiging heeft weer waterstof op te nemen, de weefsels eveneens een oxydeerend vermogen verleent [2]). Uit verdere onderzoekingen bleek nu in het algemeen het gehalte aan glutathion overeen te komen met den rijkdom aan chondrioom, zij het dat deze regel enkele uitzonderingen heeft. Zoo neemt in de epidermis het gehalte aan glutathion toe van het stratum germinativum naar het stratum granulosum; terwijl het gehalte aan chondrioom in de zelfde richting afneemt (Giroud en Bouillard 29). Maar terecht wijst Joyet-Lavergne erop dat in dergelijke gevallen het glutathion mogelijk nog een andere rol te vervullen heeft. Zoo wordt het in de hoogere lagen der epidermis dienstbaar gemaakt aan het proces der keratinisatie. Merkwaardig is ook, dat het gehalte der verschillende weefsels aan gereduceerd glutathion niet onder alle omstandigheden gelijk blijft; met name schijnt het in bloed te veranderen in samenhang met de zuurstofconcentratie en in spierweefsel in samenhang met den graad der vermoeienis (Gabbe 26). Maar ook bij de binding van stofwisselingsslakken aan glucuronzuur schijnt het een belangrijke rol te vervullen (Waelsch en Weinberger 69). Het is dus moeilijk in de bijzondere gevallen de juiste waardeering te vinden voor de schommelingen van

---

[1]) Meer in het bijzonder is het de Sulfhydryl (-SH.) groep waarop het reduceerend vermogen berust. Deze is ook aanwezig in het eveneens in de weefsels voorkomende ergothineïne, het thioglycolzuur en het thiomelkzuur (Heffter 39, Meyerhof).

[2]) Ook in vitro kan dit oxydeerend vermogen van glutathion worden aangetoond, met name tegenover vetzuren.

het glutathiongehalte der cellen in verschillende functietoestanden.

Ook onafhankelijk van het glutathiongehalte schijnt het chondrioom een oxydeerend vermogen te hebben. Zoo vonden Chodat en Rouge (15) een oxydeerend ferment gelocaliseerd in de „plastides" van de aardappel, terwijl Mangenot (52) bij Psalliota camprestris een zich als peroxydase gedragend ferment eveneens gelocaliseerd vond in het chondrioom. Ook Joyet-Lavergne (43) maakt melding van een oxydeerend vermogen van het chondrioom van Protozoen, Phanerogamen en van Psalliota campestris en van de lever van Rana, waarbij hij als reagentia stoffen gebruikt als hydrochinon, ac. pyrogallicum, metol, die vroeger ook werden toegepast bij de histologische reactie op oxydasen vóór men het hiervoor veel gevoeligere mengsel van oplossingen van a-naphthol en dimethylparaphenyleendiamine leerde kennen. Maar de uitdrukking „oxydase" wordt door Joyet-Lavergne niet gebruikt; hij laat nadrukkelijk den aard van het door hem aangetoonde oxydeerend vermogen (ferment?) in het midden. Hij zegt hierover enkel (blz. 107): „La démonstration directe du pouvoir oxydo-réducteur du chondriome montre simplement qu'au sujet de cette qualité du chondriome on puisse concevoir, à coté du glutathion. la possibilité d'intervention d'autres facteurs".

We zien dus, dat ook de studie van het chondrioom ons telkens weer in aanraking brengt met het probleem der celstofwisseling. Mogelijk zullen in de naaste toekomst ook de vitaminen hierbij betrokken worden. Giroud en Leblond (30) vonden namelijk het ascorbinezuur (vitamine C.) in de testikel en in de bynier gelocaliseerd in granula, die zij hielden voor mitochondrien.

Thans zal worden overgegaan tot een bespreking van het chondrioom der lichaampjes van Grandry en wel in de eerste plaats van het chondrioom onder normale omstandigheden en tijdens de degeneratie van de zenuwschijf, daarbij

hoofdzakelijk uitgaande van desbetreffende onderzoekingen van Lawrentjew (50). Vervolgens zullen de door mij gevonden veranderingen van het chondrioom tijdens de regeneratie van de zenuwschijf besproken worden.

Techniek.

Ter verkrijging van vergelijkbare resultaten bediende ik mij van de techniek, die ook door Lawrentjew in hoofdzaak werd toegepast. Geheel als boven voor het oxydaseonderzoek beschreven, werden vierkante stukjes snavelhuid omsneden, waarbij alle, naar de in dit gebied liggende Grandry-lichaampjes verloopende zenuwen mede werden getroffen. Gefixeerd werd in het mengsel van Champy-Kolatsjew Nassonow; neutralisatie met pyrogalluszuur. De coupes, ter dikte van 3—6 μ, werden gekleurd volgens Kul, waarbij het chondrioom intens violet rood verschijnt op grijsblauwen ondergrond. Het onderzoek der degeneratieverschijnselen geschiedde op den 3den en op den 9den dag na de omsnijding.

Het chondrioom der normale lichaampjes van Grandry.

a. *De Tastcellen.*

De elementen van het chondrioom der tastcellen liggen gerangschikt tusschen de filamenten, die men in het protoplasma vindt ingebed. Deze laatste, wegens hun vroeger veronderstelde steunfunctie ook wel steunvezels genoemd, werden reeds lang geleden beschreven (Scymonowicz, Nowik, Dogiel, Boeke). Zij kunnen door de kleuring volgens Unna, door impregnatie (Golgi), zoowel als door fixatie in osmiumhoudende vloeistoffen zichtbaar gemaakt worden. In dwarscoupes ziet men hoe zij parabolische boogstructuren vormen, die, met de convexe zijden naar de kern gericht, in de richting der celperipherie uitstralen, waarbij zij door fijne vertakkingen veelvuldig onderling samen-

hangen. In tangentiaalcoupes ziet men om de celkern heen de doorsneden van enkele concentrische lagen van vrij dikke filamenten, ook in deze richting veelvuldig onderling samenhangend. Vooral in de buitenste lagen treden die vertakkingen meer op den voorgrond en van hieruit kunnen fijne lamellen in radiaire richting uitstralend naar de peripherie der cel vervolgd worden. Volgens de zeer gedetailleerde beschrijvingen van Dogiel (20) houden de filamenten hier niet plotseling op, maar treden in het protoplasma der kapselcellen over, waarbij zij ombuigen in een richting evenwijdig aan de peripherie der tastcellen. Ook van de eene tastcel in de andere vindt deze overgang van filamenten plaats en wel buiten het gebied van de zenuwschijf, daar waar de tastcellen onmiddellijk aan elkaar grenzen. Ook in de volgens Champy gefixeerde en met pyrogalluszuur gereduceerde preparaten kunnen vaak deze bijzonderheden van het systeem der „steunvezels" worden waargenomen, vooral als de coupes bij de daarop volgende behandeling met $KMnO_4$ niet te ver worden gebleekt.

Daar waar de protoplasmafilamenten dicht bij de celkern ombuigen, wordt regelmatig een vrij dichte opeenhooping gevonden van fijne mitochondrien en korte chondriokonten. Deze plaats komt overeen met de door Dogiel en Lawrentjew onderscheiden binnenste chondrioomrijke zône, die als een ring, evenwijdig aan de zenuwschijf, de kern omgeeft. Zij wordt meestal van de kern gescheiden door een smal gebied, steeds binnen het systeem der protoplasmafilamenten gelegen, waarin geen chondrioom voorkomt (afb. 13).

Om de binnenzone heen ligt een middenzone, die het gebied omvat, binnen de door de protoplasmafilamenten gevormde paraboolstructuur gelegen. Zij is vrij arm aan mitochondrien; men vindt hier meerendeels korte staafvormige chondriokonten.

De buitenste zone, vlak onder het celoppervlak gelegen, is vaak buitengewoon rijk aan chondrioom. Men vindt hier,

in radiaire richting gerangschikt, dicht naast elkaar liggende kortere en langere chondriokonten. Bij zeer sterke vergrooting blijken ze te zijn samengesteld uit dicht achter elkaar gerijde mitochondrien en korte staafjes. Dit als gering onderscheid met Lawrentjew, die hier lange staafvormige chondriokonten beschrijft. Duidelijk was vaak waar te nemen, hoe hier en daar het chondrioom van de buitenste zone zich voortzet in het protoplasma der kapselcellen, soms zelfs tot voorbij de celkern. Toch contrasteert de uitgesproken armoede aan chondrioom in de kapsel sterk met de chondrioomrijke buitenste tastcelzone.

Vatten we bovenvermelde bijzonderheden nogmaals kort samen. Om de kern der tastcel ligt een chondrioomrijke binnenzone; aan de tastceloppervlakte bevindt zich een tweede dergelijke zone in innig verband met de kapsel, van waaruit de tastcel immers haar voedingsstoffen verkrijgt. Men krijgt wel sterk den indruk, dat het chondrioom voor de instandhouding der tastcellen een belangrijke nutritieve factor vormt. In verband hiermede moge ik nog wijzen op een kleine bijzonderheid, die Lawrentjew blijkbaar ontgaan is; namelijk hoe zoo vaak de chondriokonten in de buitenzone der tastcel zich dààr ophoopen waar de kernen der kapselcellen zijn gelegen (afb. 14), waarbij ze soms zoover in de kapsel uitsteken, dat ze de kernen gedeeltelijk omvangen. Dit is wèl merkwaardig, aangezien de kern immers wel moet worden beschouwd als het nutitrieve centrum voor de cel.

Enkele malen trof ik in de tastcellen het Golgi-apparaat mede geïmpregneerd; het doet zich voor als een onregelmatig gekluwd buisje dat meest bij het snijden op meerdere plaatsen tegelijk werd getroffen.

b. De Zenuwschijf.

De zenuwschijf is ook in tangentiaalcoupes duidelijk te herkennen door haar grooten rijkdom aan chondrioom. Het zijn meest korte, ietwat gebogen staafjes, die vanuit de intredingsplaats der zenuw uitstralend, het verloop der dikkere

fibrillenbundels volgen. De zenuw zelf is ook, voor zoover zij in contact verloopt met de tastcellen, met fijne staafjes en korrels voorzien (afb. 15).

De grootte van de zenuwschijf is niet constant; haar doorsnede varieert van 2/3 tot 3/4 van die van het raakvlak der tastcellen. Tusschen beide laatste dringt de kapsel vaak nog een eindweegs binnen; maar meest blijft tusschen de zenuwschijf en de kapsel nog een smal gebied over, waar de tastcellen elkaar raken. Een scheidingslijn is dan meest niet te zien. Hier, aan den rand der zenuwschijf ziet men vaak een overgang van chondrioom van de eene tastcel in de andere. Vooral in dwarscoupes, waarin de rand der zenuwschijf werd getroffen, kan men dit duidelijk waarnemen (afb. 14). Maar niet alleen van de eene tastcel in de andere, ook van den rand der zenuwschijf stroomen mitochondrien in het protoplasma der tastcellen uit, zooals ik enkele malen heb kunnen vaststellen (afb. 14). Hiermede komt overeen dat in zeer dunne tangentiaalcoupes, waarin de zenuwschijf getroffen werd, de rand hiervan nooit scherp is. Het chondrioomgehalte neemt in periphere richting weliswaar snel, doch geleidelijk af (afb. 15). Ook naar mijn meening is in deze bijzonderheid een bevestiging te vinden van de reeds menigmaal geuite stelling (Boeke, Lawrentjew, Dijkstra), dat er een protoplasmatische samenhang bestaat tusschen de zenuwschijf en de tastcellen.

Het chondrioom der lichaampjes van Grandry tijdens de degeneratie van de zenuwschijf.

a. *De Tastcellen.*

Zooals Lawrentjew terecht opmerkt, zijn op den derden dag na de doorsnijding der zenuwen de veranderingen aan het chondrioom der tastcellen reeds duidelijk uitgesproken. In de binnenste tastcelzone is mij niet zoozeer die sterke verarming aan chondrioom opgevallen, welke Lawrentjew beschrijft; ik heb die eerst later, den 9den dag kunnen constateeren. Wel vond ik op den derden dag na de operatie de mitochondrien kleiner, onregelmatiger van

vorm, als uiteengevallen. Daarbij waren zij moeilijker kleurbaar en niet meer violet rood, maar meer blauwachtig getint. Ook waren er opvallend groote mitochondrien te vinden, met vage omgrenzing en meest grijsblauw van kleur; zij maakten den indruk van fijne druppeltjes.

Den 9den dag na de doorsnijding is het chondrioom uit de binnenste tastcelzone bijna geheel verdwenen; slechts enkele grootere en kleinere, kennelijk regressief veranderde elementen zijn overgebleven, waardoor de protoplasmateekening duidelijker te voorschijn treedt. Hier en daar worden kleine vacuolen aangetroffen; echter vond ik deze vacuoliseering van het protoplasma in veel mindere mate uitgesproken, dan Lawrentjew die beschrijft. Ook het systeem der protoplasmafilamenten vertoont veranderingen, die vooral hier, in het gebied rond de kern, duidelijk zijn. Op doorsnede vertoonen de filamenten zich niet meer scherp omgrensd, maar onregelmatig, vlokkig. De onderlinge tusschenruimten zijn kleiner en het systeem schijnt zich dicht om de kern te hebben samengetrokken. Tusschen de filamenten treedt een fijne granuleering op; vaak zijn de granula zoo dicht gezaaid, dat de kern als door een wolk omgeven is. Ook met thionine en ijzerhaematoxyline is deze degeneratieve granuleering zichtbaar te maken; blijkens bevindingen van Boeke (8) is zij argyrophile.

Het Golgi-apparaat vond ik reeds op den derden dag in enkele meest groote druppels uiteengevallen, die vaak een grijsroode tint hadden aangenomen. Ze waren meest dicht bij de kern gelegen. [1])

1) Volgens Dagnelie (17) zou deze verspreiding van het Golgi-apparaat niet zijn op te vatten als een degeneratie, maar in tegendeel als een hypertrophie. Dagnelie bestudeerde de degeneratieverschijnselen in de cellen van de hypoglossuskern, o.a. na de doorsnijding van de zenuw en vond reeds 4 dagen post operationem hypertrophie en vacuoliseering van het Golgi-apparaat, dat bovendien in gedeelten over de geheele cel gedissemineerd was. Deze veranderingen namen toe tot omstreeks den 15den dag, waarna zij weder regressief werden. De elementen concentreerden zich weder en allengs keerde het normale aspect weer terug.

In de buitenste tastcelzone is het gehalte aan chondrioom na 3 dagen reeds sterk verminderd, ook hier maken ze den indruk van gefragmenteerd te zijn. Slechts enkele vacuolen liggen in het protoplasma verspreid. Dat deze, zooals L a w r e n t j e w beschrijft, vaak op regelmatige afstanden worden aangetroffen, zoodat het geheele beeld herinnert aan de wijzerplaat van een uurwerk, dat verder in deze vacuolen onregelmatig gevormde chondriokonten zijn aan te treffen, heb ik niet kunnen waarnemen.

Op den 9den dag van de degeneratie zijn ook in de buitenste tastcelzone nog slechts zeer verspreid enkele mitochondrien te vinden. In de kapsel vond ik daarentegen vaak nog veel vrij groote mitochondrien. Ze liggen meest niet door de heele kapsel verspreid, maar in enkele bijzonder groote kapselcellen, die zich bovendien door hun lichte kleur van de andere onderscheiden, verzameld (afb. 16).

Kort samenvattend vallen dus na de doorsnijding der zenuwen in de tastcellen en in de kapsel een aantal regressieve veranderingen, in het bijzonder aan het chondrioom te constateeren. Wat dit laatste betreft, is er zeker sprake van een uiteenvallen en successievelijk verdwijnen van de mitochondrien en chondriokonten. Daarnaast schijnt ook overgang van chondrioom plaats te vinden vanuit de buitenste tastcelzone in de kapsel. Voor het verschijnsel, dat daarbij enkele der kapselcellen veel chondrioom opnemen, kan ik geen verklaring vinden. Het is niet ondenkbaar dat hier chondrioom in depot wordt gehouden. Vlak voor den aanvang en tijdens de regeneratie der zenuwschijf wordt namelijk eveneens in bepaalde kapselcellen bijzonder veel chondrioom aangetroffen. Ik zal hier nog op terugkomen.

b. De Zenuwschijf.

Zooals boven reeds beschreven, vindt de degeneratie der zenuwschijf hoofdzakelijk plaats onder twee beelden. In het eene geval ziet men een aantal openingen ontstaan, die steeds grooter worden, waarbij de zenuwschijf ten slotte uiteenvalt;

zoo spreken Boeke en Dijkstra van een „stellenweise Durchlöcherung und successive Fragmentation". In het tweede geval ziet men een geleidelijk verminderen van de kleurbaarheid en verdwijnen van de structuur (Perez 64). Op grond van mijn bevindingen met behulp der oxydasereactie opperde ik daarnaast de mogelijkheid van een peripheer beginnende en centraalwaarts voortschrijdende degeneratie van het neuroplasma. In de volgens Kul gekleurde preparaten deed zich de degeneratie aan mij voor onder twee vormen, die beantwoordden aan de beschrijvingen van Boeke en Dijkstra, zoowel als aan die van Perez. Zij komen naast elkaar voor en zijn mijns inziens niet verschillende stadia van eenzelfde proces. Meestal is de zenuwschijf op den derden dag intens rood gekleurd en vertoont vele ovale en ronde lichte plekken, waardoor zij inderdaad den indruk maakt van doorzeefd te zijn. Van mitochondrien is in de aldus veranderde tastschijf niets meer te vinden. Op den 9den dag wordt als rest vaak nog een kleiner of grooter conglomeraat van roodgekleurde druppels aangetroffen, welke nog lang, 5—6 weken kunnen blijven liggen. Daarnaast komt, hoewel zeldzamer, de door Perez omschreven vorm van degeneratie voor. Hierbij is op den derden dag na de doorsnijding het chondrioom der zenuwschijf in vorm en rangschikking nog niet veranderd, maar het is nog slechts vaag kleurbaar, vooral langs den rand der schijf. Op den 9den dag is hiervan nog slechts een lichtrood gekleurd, structuurloos vliesje overgebleven, vaak in enkele stukken uiteengevallen, waarbij dus van de mitochondrien niets meer zichtbaar is.

Het chondrioom der lichaampjes van Grandry tijdens de regeneratie van de zenuwschijf.

In het verdere verloop van de degeneratie, dus na den 9den dag post operationem, treden bijna geen veranderingen meer op in het beeld, zooals dat boven werd beschreven. In de

6de week is het chondrioom uit de tastcellen nagenoeg geheel verdwenen. Resten van het Golgi-apparaat worden niet meer gevonden. Als een donkergrijze wolk, zonder veel structuur, omgeeft het samengetrokken lamellensysteem met de degeneratieve granuleering de kern.

Het chondrioomgehalte van de kapsel is nog verder verminderd; enkele cellen zijn rijker voorzien. Het zijn enkel fijne mitochondrien, die worden aangetroffen.

Aldus is de toestand, van waaruit de regeneratieve veranderingen zich ontwikkelen zoodra de opnieuw uitgroeiende zenuwen weder contact krijgen met de betreffende eindlichaampjes.

Aanstonds wil ik, vooruitloopend op hetgeen volgt, wijzen op de duidelijke overeenkomst in localisatie van de mitochondrien met de oxydasegranula. Een overeenkomst, die hier bij de regeneratie veel verder doorgevoerd bleek, dan ook uit het onderzoek van de degeneratie kon worden geconcludeerd. Daar — bij de degeneratie — stond immers naast de verschillende regressieve veranderingen in het protoplasma (chondrioom) een min of meer op zichzelf staand verdwijnen der oxydasefunctie; terwijl hier — bij de regeneratie — zoowel chondrioom als oxydase door den toestand van verhoogde activiteit in optimalen vorm naast elkaar aanwezig zijn.

Zooals door Nageotte (61) en Marinesco (59) beschreven, is de uitgroeiende zenuw rijkelijk met chondrioom voorzien. Aan den top worden min of meer fijne mitochondrien aangetroffen; in de reeds iets oudere gedeelten daarnaast ook korte staafvormige condriokonten (afb. 17). Een overlangsche rangschikking der chondriokonten, die op een overigens onzichtbare fibrillaire structuur van het neuroplasma zou kunnen wijzen, heb ik nimmer waargenomen. Daar waar de vezels langs de tastcellen verloopen, is de rijkdom aan chondrioom over de geheele uitgestrektheid van dit contact opvallend groot, waardoor het geslingerde verloop der veelvuldig zich vertakkende vezels tusschen de

vaak sterk vermeerderde en ook tusschen de tastcellen ingewoekerde kapselcellen vervolgd kan worden.

In de tastcellen ontstaat als eerste teeken van de op handen zijnde regeneratie rond de kern een zeer dichte opeenhooping van grove, markant gekleurde en scherp omgrensde mitochondrien. De rijkdom ter plaatse kan zoo groot zijn, dat, mede door de nog aanwezige resten van de degeneratieve granuleering, de kern nauwelijks meer zichtbaar is (afb. 18). In tangentiaalcoupes van osmium bevattende preparaten is te zien, dat het systeem der protoplasmafilamenten tegelijk hiermede zijn normale aspect herkrijgt. Terwijl het in nog niet geregenereerde lichaampjes samengetrokken en vermengd met de degeneratieve substantie als een wolk de kern omgeeft, zien wij bij de regeneratie een splijting in lamellen, die concentrisch de kern omgeven en daarbij in periphere richting allengs uit elkaar wijken. Daarbij wordt duidelijk zichtbaar, dat de mitochondrien tusschen de lamellen gelegen zijn (afb. 19 rechts). Ze moeten in dezen vorm ter plaatse zijn ontstaan, want het is niet waarschijnlijk, dat deze grove mitochondrien als zoodanig van elders, bv. vanuit de kapsel, worden aangevoerd en hier, tusschen de nog dicht opeengepakte protoplasmafilamenten, worden opgehoopt. Hiertegen pleit ook, dat in het begin der regeneratie het periphere gedeelte van de tastcellen (middelste en buitenste tastcelzone) nog vrij van chondrioom wordt gevonden (afb. 18, afb. 19 rechts) en ook een verhooging van het chondrioomgehalte in de kapsel eerst later inzet, als de regeneratie reeds eenigszins is gevorderd (afb. 19 links, afb. 20, 21). Allengs treden verdere veranderingen in. De protoplasmafilamenten wijken meer en meer uiteen en de aanvankelijk perinucleair opgehoopte mitochondrien breiden zich over een grooter gedeelte der tastcellen uit. Daarbij valt op, dat ze fijner worden en hun aantal grooter. Ook treden hier en daar korte staafvormige chondriokonten op, zooals die onder normale omstandigheden in de binnenste tastcelzone ook wel worden aangetroffen (afb. 20).

Ook de kapselcellen vertoonen grooten rijkdom aan chondrioom. Ook hier liggen de elementen aanvankelijk dicht om de kern heen (afb. 17); ze verspreiden zich later over het geheele protoplasma en bewegen zich daarbij in de richting der tastcel (afb. 18, afb. 19 rechts). Men ziet dan de korrels vaak als mannetje naast mannetje dicht tegen de tastcellen aan liggen. Steeds komen er nieuwe bij, en men krijgt sterk den indruk, dat zij, zich achter elkaar rijend, in de tastcel binnendringen (afb. 19 links). Hier ontwikkelen zich dus dezelfde verhoudingen, als die welke we onder normale omstandigheden in de buitenste tastcelzone gewend zijn aan te treffen: kortere en langere chondriokonten, radiairsgewijze gelegen en aangepast aan het uitstralend verloop der protoplasmafilamenten.

Tegelijk maakt ook de regeneratie van de zenuwschijf voortgang. De fijne zenuwvezels dringen vaak van meerdere zijden tegelijk tusschen de tastcellen in, rijkelijk met mitochondrien beladen (afb. 19, 21). Dit chondrioom bestaat bijna uitsluitend uit korte staafvormige chondriokonten, zooals door Nageotte (61) als kenmerkend voor het neuroplasma beschreven. De staafjes zijn meest niet regelmatig over de vezels verdeeld, maar hoopen zich op ter plaatse van de spoelvormige verdikkingen en van de eindaanzwelling (afb. 19 links). In gunstige gevallen kan men nog iets van de fijne structuur van het zich ontwikkelende terminaalnetwerk zien. De achter elkaar liggende chondriokonten volgen vaak bepaalde banen, waarbij ze zich kennelijk aansluiten aan het verloop der dikkere vezelbundels. Waarschijnlijk heeft zich ook op die plaatsen, welke vrij zijn van chondrioom, het terminale netwerk nog niet ontvouwd (afb. 21); want in de normale zenuwschijf, welker structuur immer een gelijkmatige is, worden nooit chondrioomvrije plekken gevonden.

Nog een detail in afb. 21 trok mijn aandacht: aan den bovenrand der regenereerende zenuwschijf (X) ziet men, hoe achterelkaar gerangschikte chondriokonten het in zich

gesloten gebied van het terminaalnet verlaten. Na vergelijking met afbeeldingen van Boeke (10, afb. 26 en 27) en van Dijkstra (19, afb. 3 en 4) dacht ik aan een zich ontwikkelend periterminaalnet. Of deze opvatting juist is, heb ik echter niet kunnen uitmaken; met behulp van de toegepaste techniek is het niet mogelijk ook de fijne structuur van het protoplasmanet zichtbaar te maken.

Reeds Boeke (8) heeft de aandacht gevestigd op het feit, dat bij de regeneratie niet alleen reeds bestaande lichaampjes van Grandry worden gereïnnerveerd, maar dat ook nieuwe eindorganen worden gevormd en wel door differentiatie uit de Schwann'sche cellen. Dijkstra (19) maakt uitvoerig melding van desbetreffende waarnemingen; hij vond dat deze vorming van jonge Grandry-lichaampjes allerminst zelden plaats vindt, dat soms zelfs in de preparaten meer nieuwe lichaampjes voorkomen dan reeds van te voren bestaande, gereïnnerveerde. In sommige Schwann-sche cellen ziet men daarbij eigenaardige veranderingen: ze worden grooter, hun protoplasma wordt wat lichter van kleur en vertoont een voor tactiele cellen karakteristieke fijne alveolaire structuur. De overige, niet gedifferentieerde, cellen welke zich niet van de kapselcellen van normale Grandry-lichaampjes onderscheiden, groepeeren zich om de jonge tastcel heen en vormen een kapsel, die het eerste duidelijk zichtbaar wordt op de plaats waar de jonge zenuwvezel de tastcel nadert. Ook de vorming van een bijbehoorende zenuwplaat werd waargenomen; zij vertoont veel overeenkomst met de vorming van een nieuwe zenuwplaat bij de reïnnervatie van reeds bestaande lichaampjes. Het zijn hoofdzakelijk eencellige ontwikkelingsstadia, welke Dijkstra in zijn preparaten heeft gevonden. Op welke wijze de nieuwe lichaampjes zich verder ontwikkelen, of ze bestendig zijn of als teeken eener overmatige regeneratie moeten worden opgevat, welke later weder regressief wordt, kon nog niet worden uitgemaakt.

Vanzelfsprekend trachtte ook ik dergelijke beelden in mijn

K u l-preparaten te vinden, hoewel de aantooning van belangrijke details in deze kleine eencellige ontwikkelingsvormen mij waarschijnlijk wel niet zou gelukken. Inderdaad vond ik in het verloop van de zenuwbanen en ook in de kapsel van reeds bestaande G r a n d r y-lichaampjes soms een cel, welke zich door hare grootte en haar lichtere kleur zich van de aansluitende cellen min of meer onderscheidde. Zij was vaak zoo groot als een kleine tastcel, en dikwijls omgeven door een of meerdere lagen van cellen, die zich niet van normale kapselcellen onderscheidden. Men krijgt hier werkelijk den indruk, den aanleg van nieuwe, jonge G r a n d r y-lichaampjes voor zich te hebben. Daar de kleuring volgens K u l echter niet toelaat, de alveolaire structuur van het tastcelprotoplasma zichtbaar te maken, kon hieraan niet de juistheid van de gegeven interpretatie worden getoetst. Ook een, zich in verband met deze cellen vormende, zenuwschijf heb ik nog niet kunnen vinden. In tegenstelling met de omgevende, niet gedifferentieerde, cellen bevatten bovenbedoelde cellen veel chondrioom, dat in de kleinere cellen over het heele protoplasma verdeeld was, in de grootere echter verzameld lag rond de kern.

Het schijnt zeker van belang uit te maken, wanneer en waardoor deze differentiatie van nieuwe tastcellen intreedt. In dit verband moge ik er nogmaals op wijzen, dat reeds spoedig na de doorsnijding der zenuwen in de kapsel van degenereerende G r a n d r y-lichaampjes bijzonder chondrioomrijke cellen voorkomen, die met de bovenbedoelde jonge G r a n d r y-cellen veel overeenkomst vertoonen. Ik geloof niet, dat in het verdere verloop van de degeneratie de mitochondrien uit deze kapselcellen weder verdwijnen, want ook later, kort vóór de regeneratie, heb ik veel chondrioom bevattende kapselcellen telkens weer gevonden (afb. 17). Misschien bestaat tusschen beide verschijnselen geenerlei verband en moeten wij de ophooping van chondrioom in bepaalde cellen van de lemnoblastenreeks beschouwen onafhankelijk van de differentiatie van jonge chondrioomrijke tastcellen.

Toch is het ook mogelijk, dat het rijke gehalte aan chondrioom in bepaalde S c h w a n n'sche cellen tijdens de degeneratie de uiting is van een veranderde individualiteit, die, in geval weder contact met een opnieuw uitgroeiende zenuwvezel ontstaat, een praedispositie schept voor hun differentiatie als tastcel.

INDOPHENOLBLAUW EEN KLEURSTOF VOOR HET CHONDRIOOM?

Boven werd reeds uitvoerig uiteengezet, dat er in de lichaampjes van Grandry een duidelijke overeenkomst bestaat in localisatie tusschen de polyphenoloxydase en het chondrioom en dat onder verschillende omstandigheden — degeneratie en regeneratie — de veranderingen, die de oxydasegranula vertoonen, parallel gaan aan die van de mitochondrien. De vraag komt dus op, of dan werkelijk de polyphenoloxydase hier gelocaliseerd is in het chondrioom; een vermoeden, dat des te meer urgent is, omdat het reeds door verschillende onderzoekers werd uitgesproken, zonder dat echter tot op heden de juistheid daarvan kon worden aangetoond.

Verder werd beschreven hoe het mogelijk was om, door het lang laten liggen van de coupes in het oxydasemengsel of wel in een mengsel, bereid volgens Schulze (met toevoeging van KOH.), in de lichaampjes van Grandry granula te kleuren, die naar hun aspect en naar hun localisatie met de oxydasegranula veel overeenkomst vertoonen. Dat wij hier met werkelijke oxydasegranula te doen zouden hebben, kon ik reeds daardoor uitsluiten, doordat ook na langdurige fixatie in neutrale formol, resp. Müller-formol de reactie nog mogelijk was.

Een verklaring te geven van dit merkwaardige verschijnsel, waarbij dus als oxydasegranula gelocaliseerde korrels affiniteit vertoonen voor het indophenolblauw, bleek niet doenlijk. Een eenvoudig absorptiekleurproces werd hier als onwaarschijnlijk verworpen en de mogelijkheid gesteld van

locale oxydatie van het mengsel door granulair gebonden, gemaskeerd ijzer.

In het verdere verloop der onderzoekingen heb ik getracht deze variatie op de oxydasetechniek wat verder uit te werken en daarbij is nog een bijzonderheid aan den dag getreden. Het schijnt namelijk mogelijk om met behulp van indophenolblauw bestanddeelen van het chondrioom te kleuren.

Daartoe werden stukjes snavelhuid gedurende 4 uren in 6 % neutrale formol gefixeerd; de 6μ dikke coupes verbleven gedurende 1½ uur in een 1‰ oxydasemengsel, bereid volgens Schulze (met toevoeging van KOH, PH. ± 9) en werden daarna gedurende zeer korten tijd (enkele seconden) gedifferentieerd in alcohol 70%, waardoor het op de coupes granulair gepraecipiteerde indophenolblauw weder wordt verwijderd. Onder voortdurende microscopische controle werden de coupes telkens even met alcohol bevochtigd en dan weder in water gebracht, waarbij ze zich geheel strekken en de alcohol direct wordt onttrokken. Op deze oppervlakkige, als het ware mechanische, reiniging door het water, waarbij de coupe snelle draaibewegingen aan de oppervlakte uitvoert en een deel van het kleurstofneerslag loslaat, komt het aan. De coupes werden nagekleurd met fuchsine en in glycerine ingebed.

Hetzelfde resultaat heb ik kunnen verkrijgen na fixatie volgens Champy-Kolatsjew Nassonow. Na de bleeking met Kaliumpermagnaat kwamen de coupes gedurende 18 uren in 10 uren van te voren bereid en onder afsluiting van de lucht bewaard oxydasemengsel, in de samenstelling zooals ik voor het onderzoek van de oxydase gebruikte. De differentiatie en de nakleuring geschiedden als hierboven beschreven.

Een uitvoerige beschrijving der hierbij gevoegde afbeeldingen dunkt mij overbodig. Bij de vergelijking met wat bij het onderzoek van het chondrioom door Lawrentjew en door mij is aan den dag getreden, vallen de volgende bijzonderheden op:

1. Typische rangschikking der granula in twee zones; een binnenste circumnucleaire zone van diffuus verspreidde granula en een buitenste zone, onder het tastceloppervlak gelegen, van ten deele lineair gerangschikte granula (afb. 22);

2. Overgang der granula van de eene tastcel in de andere aan den rand der zenuwschijf (afb. 23);

3. Een verdwijnen der granula uit beide zones tijdens de degeneratie van de zenuwschijf met een relatief lang aanwezig blijven in de kapselcellen (afb. 24).

Op grond van al deze punten van overeenkomst heeft het er dus veel van, dat we hier werkelijk te doen hebben met kleuring van bestanddeelen van het chondrioom.

Voor zoover ik heb kunnen nagaan, hebben we hier niet te maken met een eenvoudig kleurproces der granula met indophenolblauw, maar met een neerslagreactie in den geest van de oxydasereactie, waarbij indophenolblauw, uit zijn componenten gevormd, ter plaatse praecipiteert. Kleuring dezer granula met behulp van verzadigde oplossingen van indophenolblauw in alcohol of diacetine, al of niet met water verdund, bleek op geenerlei wijze mogelijk.

HET GLYCOGEEN.

Voorkomen in het centrale en periphere zenuwstelsel; Gedrag onder normale en abnormale omstandigheden. De lichaampjes van Grandry.

Onder normale omstandigheden schijnt het glycogeen in het centrale zenuwstelsel van volwassenen niet voor te komen; tenminste kon het tot op heden met geen der ons bekende specifieke methoden worden aangetoond. Wel wordt het gevonden tijdens het embryonale leven tot enkele dagen na de geboorte; het schijnt dus met de toenemende differentiatie der cellen daaruit te verdwijnen.

Onder verschillende pathologische omstandigheden kan het later echter weer optreden en wel niet alleen in de perivasculaire lymphscheeden en de gliacellen, maar ook in de gangliencellen. Zoo wordt het gevonden bij uraemie en bij diabetes (Jacob 42), bij het delirium acutum in het verloop van verschillende infectieziekten (Münzer 60), bij pernicieuze anaemie, bij avitaminosen en bij de amaurotische idiotie, vooral van het type Tay-Sachs (Marinesco 59) enz.

Over de verklaring van dit verschijnsel zijn de meeningen verschillend. Münzer beschouwt hiervoor als oorzaak: „eine besonders lebhafte pathologische stoffliche Tätigkeit der Nervenzellen" (blz. 299—300). Ook Best (5) zoekt de verklaring in deze richting en beschouwt het optreden van glycogeen in normaliter glycogeenvrije cellen als, „ein Reaktion der betroffenen Geweben gegen eine Schädigung". Geheel afwijkend hiervan staat de meening van Marinesco,

die bij de amaurotische idiotie naast een optreden van glycogeen in de gangliencellen een daaruit verdwijnen van de oxydasegranula beschrijft. Volgens Marinesco zou er niet van een verhooging van de stofwisselingsintensiteit der gangliencellen sprake zijn, doch integendeel van een verlaging. Hierop voort redeneerend zou dus glycogeen als intermediair stofwisselingsproduct in gangliencellen ook onder normale omstandigheden voorkomen, maar nimmer in depot verzameld, daarentegen steeds direct verder verwerkt worden. Wellicht is inderdaad het optreden van glycogeen in het centrale zenuwstelsel beter in overeenstemming te brengen met een vermindering der stofwisselingsintensiteit, zooals deze door toxische invloeden (diabetes, coma uraemicum, pernicieuze anaemie, van hooge koorts vergezeld gaande infectieziekten), of door meer locaal degeneratieve invloeden (amaurotische idiotie, dementia paralytica, verweekingshaarden) wordt te voorschijn geroepen.

Voor het voorkomen van glycogeen in het periphere zenuwstelsel, heb ik in de litteratuur geenerlei aanwijzingen gevonden. Met name schijnt het in zenuwen afwezig te zijn, zoowel onder normale, als onder abnormale omstandigheden. Dit geldt echter niet voor de nerveuze eindorganen, want het is mij gelukt om tenminste in de lichaampjes van Grandry een stof aan te toonen, die, ook op grond van de speekselproef, moet worden beschouwd als glycogeen. Weliswaar vond ik het glycogeen niet constant aanwezig; maar onder verschillende omstandigheden — tijdens de degeneratie en de daaropvolgende regeneratie der zenuwschijf — vertoont het gehalte aan glycogeen veranderingen, die wellicht veroorloven ten opzichte van het optreden van glycogeen in het centrale zenuwstelsel een standpunt te verdedigen.

Voor het histologisch onderzoek op glycogeen wordt vrijwel algemeen de kleurmethode volgens Best als de meest aanbevelenswaardige beschouwd. Een fixatief echter, waarmede het aanwezige glycogeen in onveranderden toestand

kan worden vastgelegd, werd, voor zooverre ik kon nagaan, nog niet gevonden. Door zijn groote gevoeligheid voor hydrolytische splitsing gaat het snel uit de preparaten in de gebruikte vloeistoffen in oplossing. Hierdoor is men nooit zeker, dat op een bepaalde plaats geen glycogeen voorkomt en is evenzeer een quantitatief aantoonen van eventueel aanwezig glycogeen zeer bezwaarlijk. Daarbij komt, dat het glycogeen zich, wat zijn oplosbaarheid betreft, in verschillende weefselsoorten verschillend gedraagt (Graubner 36). Bovendien treedt bij de fixatie, vooral in absolute alcohol volgens de methode van Best, een ontmenging van het protoplasma in, waardoor het diffuus gebonden glycogeen in kunstmatige vacuolen kan worden uitgeperst. Deze kunnen dan nog, evenals het aan praeexistente granula gebonden glycogeen (plasmosomen van Arnold), door de diffusiestroomen belangrijk worden verplaatst (Fischera 25). Tegen de toepassing van absolute alcohol als fixatief bestaan dus belangrijke bedenkingen, daar haar fixeerende werking in de eerste plaats op wateronttrekking berust en zij naar verhouding slechts langzaam de weefsels doordringt. Bovendien remt de alcohol weliswaar de fermentatieve glycolyse (reversibel), maar de hydrolytische glycogeensplitsing kan nog voortgang vinden. De in den handel verkrijgbare absolute alcohol bevat namelijk steeds nog 1—2% water[1]). Ook is niet alleen in 89% alcohol glucose oplosbaar, zooals Anthon (1) aantoonde (namelijk 1,94 gr. in 100 gr. alcohol bij 17,5° C.), maar kon ik in de door ons voor verschillende histologische doeleinden steeds gebruikte „absolute" alcohol bij kamertemperatuur 1,03 gr. glucose per Liter oplossen en bij 37° C. zelfs 2,88 gr., zonder dat bij afkoeling weer glucose uitkristalliseerde. Van ophooping van glucose als splitsingsproduct van het glycogeen kan dus geen sprake zijn en van remming der glycolyse dus evenmin.

---

[1]) Welke men natuurlijk door destilleeren over calcium zou kunnen verwijderen.

Men heeft wegens al deze bezwaren naar beter werkende, waterige fixativa gezocht en die voor gebruik met glucose verzadigd. Zoo ontstond de methode van Neukirch, waarbij met glucose verzadigde formol wordt gebruikt en die van verschillende zijden wordt aanbevolen (Klestadt 48, Arndt 2, Münzer 60). Maar deze methode heeft ook nadeelen. Hoeveel glucose moet men b.v. aan een bepaalde hoeveelheid formol toevoegen, om deze daarmede te verzadigen? Men kan immers zoover gaan, dat een zeer dikke stroop ontstaat, die nauwelijks bruikbaar meer is. De tijdens den duur der fixatie (6—24 uren) vrij komende sporen glucose zullen toch nog wel in oplossing kunnen gaan. Het gaat immers hier om hoeveelheden, van welker kleinheid men zich nauwelijks meer een voorstelling kan vormen. Ook verwachte men niet, dat de oplossing als zoodanig binnendringt; dit is slechts van de formol te verwachten, terwijl de glucose eerst langzamerhand navolgt. Eindelijk schijnt de toevoeging van glucose aan formol de fixeerende werking van deze laatste schadelijk te beïnvloeden (Graubner 36).

De verdere verwerking der preparaten kan langs verschillende wegen geschieden. Men kan ze direct op het ijsmicrotoom snijden en de coupes in 96% alcohol of in een verzadigde waterige oplossing van glucose opvangen. Men kan vóór de eigenlijke glycogeenkleuring de kernen met haemaluin of met haemtoxyline-Ehrlich kleuren (met glucose verzadigde oplossingen!). Na de glycogeenkleuring in de ammoniakale karmijnoplossing moeten de coupes dan weer in met glucose verzadigd water worden gespoeld, voor men ze in laevulosesiroop inbedt. Ook kan men de weefselstukjes eerst in celloidine of in celloidine-paraffine inbedden; in dit geval moeten ze na de fixatie door een minstens driedeelige alcoholreeks (90%—96%—100%) worden opgevoerd. En in alle bovengenoemde oplossingen zijn de, bij de langzaam voortschrijdende glycolyse vrijkomende, sporen glucose oplosbaar; ook na voorafgaande verzadiging met glucose, want

als de kamertemperatuur 1—2° stijgt, zijn de oplossingen niet meer verzadigd.

Moge al door de fixatie in glucose-formol het glycogeen in een wat anderen vorm en verdeeling worden vastgelegd, dat met het oog op het quantitatief aantoonen van glycogeen de methode van Neukirch ons belangrijk verder heeft gebracht, geloof ik beslist niet. En ik grond dit oordeel niet slechts op theoretische overwegingen, want ik heb middels fixatie in absolute alcohol evenmin als in glucose-formol het in de lichaampjes van Grandry voorkomende glycogeen ooit kunnen vastleggen.

Ik was dus genoodzaakt een ander fixatief te zoeken, dat snel de weefsels doordringt en fixeert en dat een snelle opvoering daarvan tot in celloidine veroorlooft. De vloeistof van Carnoy bleek aan mijn doel te beantwoorden. Ik gebruikte deze verzadigd met glucose bij een temperatuur van 50° C. Tijdens de afkoeling wordt de oplossing troebel, omdat weer glucose uitkristalliseert. Dit tijdsverloop heb ik gebruikt om de stukjes snavelhuid te fixeeren. Een fixatieduur van een half uur bleek voldoende (de dikte der stukjes bedraagt slechts 1 mm). Daarna kwamen ze in, bij 40° met glucose verzadigde, absolute alcohol, ook weer tijdens de afkoeling. Na een verblijf van twee maal ½ uur werden ze via alcohol-aether (½ uur) in celloidine 6% gebracht en verbleven hierin 6 dagen. De toepassing van celloidine geschiedde op grond van de bevinding van Best, dat hierdoor de ontleding van het glycogeen sterk wordt geremd. Eindelijk werden de stukjes in alcohol-aether van aanklevend celloidine bevrijd en in paraffine ingebed (methode Lubarsch-Klestadt). Ze zijn, aldus behandeld, zeer goed te snijden. Dikte der coupes 5—6 μ. De kernen werden vooraf gekleurd met haematoxyline-Ehrlich. De glycogeenkleuring met karmijn duurde 1 uur.

Waarnemingen.

De geheele huid, behalve de bovenste lagen der epidermis,

en het onderhuidsch bindweefsel zijn diffuus rose gekleurd. De kernen zijn licht blauw. Glycogeen, in den vorm van kleinere en grootere rood gekleurde druppels vond ik, behalve in de lichaampjes van Grandry, nog slechts op twee plaatsen: in de hier en daar verspreid liggende histiocyten en in de kapsel der Herbst-lichaampjes. Deze waarneming paste ik toe als controle op het al of niet gelukt zijn der glycogeenkleuring. Op grond van de speekselproef zijn de op deze plaatsen voorkomende korrels inderdaad te beschouwen als bestaande uit glycogeen.

a. De normale Grandry-lichaampjes.

Ik vond het glycogeen niet in alle lichaampjes aanwezig, doch slechts in ongeveer de helft. Het gehalte wisselt bovendien belangrijk. In de zenuwschijf is het meestal het sterkst; men vindt hier een min of meer dichte opeenhooping van verschillend groote korrels (afb. 25). Bij sterke reactie is de zenuwschijf als een helder rood getinte streep tusschen de beide tastcellen zichtbaar (afb. 26). De tastcelperipherie is een tweede plaats van praedilectie; hier ziet men bij sterke vergrooting zeer kleine korrels in radiaire richting achter elkaar liggen. Slechts zelden is het glycogeen over de geheele tastcelperipherie verspreid aanwezig; meestal is de reactie alleen boven de kern of aan een der celpolen positief. Hoe deze rangschikking in fijne, achter elkaar liggende druppels dient te worden opgevat, is moeilijk uit te maken. Vanzelf sprekend is, wanneer diffuus gebonden glycogeen in druppelvorm wordt uitgeperst, dat deze vacuolen in rangschikking zich ordenen naar het verloop der protoplasmafilamenten. Ook is mogelijk, dat het glycogeen hier aan praeexistente granula gebonden voorkomt en dan dient in de eerste plaats aan de mitochondrien te worden gedacht, die hier aan de celperipherie immers ook in radiaire richting achter elkaar gelegen zijn (Dogiel 20, Lawrentjew 50, zie ook boven).

In ieder geval staat vast, dat de gevonden praedilectie-

plaatsen van het glycogeen ook de plaatsen zijn waar de mitochondrien het dichtste gezaaid liggen en waar ook de oxydasegranula worden gevonden.

In enkele gevallen vond ik ook bij de tastcelkern fijne glycogeendruppels; en bij groote uitzondering ook in de kapsel. In de zenuwen kon ik het glycogeen nimmer aantoonen.

b. tijdens de degeneratie der zenuwschijf.

Deze waarnemingen werden gedaan 14 dagen na de doorsnijding der zenuwen. Slechts bij uitzondering vond ik in de tastlichaampjes nog wat glycogeen aanwezig. Een maal waren ook nog in de resten der gedegenereerde zenuwschijf een paar korrels te vinden. In de andere gevallen werd het alleen in een gedeelte der tastcelperipherie nog gevonden. Het blijkt dus, dat in het verloop der degeneratie het aanwezige glycogeen geleidelijk verdwijnt, doordat het langzamerhand wordt opgebruikt. Teekenen van glycogeentransport naar de kapsel heb ik nimmer gevonden.

c. tijdens de regeneratie der zenuwschijf.

Hierover kan ik kort zijn. Noch in de tastcellen, noch in de aangroeiende zenuwen heb ik glycogeen aanwezig kunnen vinden.

Korte bespreking der uitkomsten.

De waarnemingen leeren, dat het glycogeen dus ingeschakeld in de stofwisseling der Grandy-lichaampjes voorkomt en dat het onder omstandigheden in het protoplasma der tast- en der kapselcellen, evenals in de zenuwschijf in depot kan worden verzameld. Deze opzameling van glycogeen schijnt niet veroorzaakt te worden door een verhooging der protoplasmastofwisseling (zie Münzer), integendeel samen te hangen met een vermindering der intensiteit (zie Marinesco). Want bij de degeneratie der zenuwschijf vindt een

geleidelijk verbruik van het voorhandene glycogeen plaats, terwijl het tijdens de regeneratie geheel ontbreekt. We moeten immers aannemen, dat de degeneratie met een vermindering en de regeneratie met een verhooging der stofwisselingsintensiteit gepaard gaat. Dit laatste volgt overigens nog uit het zeer verhoogde oxydasegehalte tijdens de regeneratie, waarbij wij ons zouden kunnen voorstellen, dat eventueel aangevoerde koolhydraten direct verder worden geoxydeerd en een aanzameling daarvan in den vorm van glycogeen niet kan plaats vinden. Aanzameling van glycogeen in het protoplasma zal dus het teeken zijn van een in de stofwisseling ingetreden rusttoestand; evenzoo als zij in het pathologisch veranderde centraal zenuwstelsel samenhangt met de degeneratie.

SAMENVATTING EN EINDCONCLUSIES.

Het onderzoek naar het voorkomen en de functie van de polyphenoloxydase in de lichaampjes van Grandry in de subcutis van den eendensnavel leidde tot een aantal uitkomsten, welke ik nogmaals kort wil samenvatten.

Allereerst werd het begrip: „oxydaseferment" scherp omschreven en de oxydasereactie (nadireactie) afgescheiden van de absorptiekleuring van vetachtige stoffen met indophenolblauw. Daarop werd onderscheid gemaakt met de kleuring door vorming van een indophenolblauwprecipitaat van korrels, die waarschijnlijk niet van lipoïdachtigen, maar van albumoïdachtigen aard zijn en die morphologisch en localisatorisch met de oxydasegranula zeer veel overeenkomst vertoonen, hiervan echter wegens hun resistentie tegen den invloed van enkele fixatieven konden worden onderscheiden. Waarschijnlijk bevatten deze korrels gemaskeerd ijzer (Warburg, Katsunuma), op welk laatste de katalytische versnelling der locale oxydatie van het oxydasemengsel zou kunnen worden teruggevoerd.

Er werd vastgesteld, dat vooral de factor „tijd" bij de reactie op de actieve oxydase van groote beteekenis is. Slechts in die granula, welke in kort tijdsverloop (10—20 minuten) met blauwkleuring reageeren, kan het actieve ferment aanwezig geacht worden.

De polyphenoloxydase der lichaampjes van Grandry is zeer vulnerabel. Zij functioneert optimaal bij een PH. 7.6. Slechts na toevoeging aan het nadimengsel van een minimale hoeveelheid $FeCl_3$, of ook $MnCl_2$, gelukte het, haar aan-

wezigheid aan te toonen. Ook in vitro versnellen deze stoffen de spontane oxydatie van het mengsel.

De oxydasegranula in de Grandry-lichaampjes vertoonen een typische localisatie. De reactie is steeds in de zenuwschijf het sterkste; bovendien worden korrels gevonden aan de peripherie van de tastcellen en in de kapsel. De reactie is niet bij alle eenden positief. Het bleek, dat door prikkeling met een zwakken faradischen stroom een aanvankelijk negatieve reactie positief gemaakt kon worden. Diffuse weefselbeschadiging door den stroom werd daarbij steeds zorgvuldig vermeden. Het gelukte niet, voor dit verschijnsel een verklaring te geven; slechts kon worden vastgesteld, dat de kernen der tastcellen zich daarbij in de richting van de zenuwschijf bewegen. Dit laatste vindt ook plaats onder invloed van de regenereerende zenuwschijf. De veronderstelling ligt dus voor de hand, dat er een samenhang bestaat tusschen de activiteit der oxydase en de functioneele activiteit der zenuwschijf, casu quo der eindlichaampjes.

De grondige kennis van de regeneratieverschijnselen der zenuwschijf maakte het mogelijk, ook met behulp der oxydasereactie de regeneratieprocessen te bestudeeren. De eindaanzwelling van de uitgroeiende zenuwen is rijkelijk van oxydasegranula voorzien; deze laatste volgen het verloop der fijnere vertakkingen, ook van het zich vormende terminaalnet. Tijdens de degeneratie der zenuwschijf verdwijnen de korrels geleidelijk. Op den 9den dag na de doorsnijding der zenuwen is de oxydasereactie in de lichaampjes van Grandry negatief geworden.

Verder werd nagegaan, of het oxydaseferment op bepaalde korrels in het protoplasma kon worden gelocaliseerd. In de eerste plaats werd hierbij aan het chondrioom gedacht. Vrijwel algemeen wordt aangenomen, dat het chondrioom bij de celstofwisseling een belangrijke rol vervult. Volgens enkele onderzoekers komt in de mitochondrien glutathion voor, aan welks aanwezigheid tenminste een deel van het reduceerend vermogen van levende weefsels gebonden is;

terwijl de aanwezigheid van geoxydeerd glutathion aan de weefsels een oxydeerend vermogen verleent. Ook onafhankelijk van het glutathion schijnt in het chondrioom een oxydeerend vermogen voor te komen.

Aldus werd een onderzoek ingesteld naar het chondrioom in de normale lichaampjes van Grandry en de veranderingen daarvan tijdens de degeneratie en de daarop volgende regeneratie van de zenuwschijf. Daarbij werd gevonden, dat het aspect en de localisatie van de oxydasegranula en van de mitochondrien, evenals hun veranderingen tijdens de degeneratie en de regeneratie der zenuwschijf, een vergaande overeenkomst met elkander vertoonen. Hierdoor kon worden vastgesteld, dat waarschijnlijk de localisatie van het oxydaseferment, ten minste in de lichaampjes van Grandry, te zoeken is in het chondrioom.

Door verblijf gedurende langeren tijd in een oxydasemengsel van in formol, in Müller-formol, of in een chroomosmiummengsel gefixeerde snavelhuidcoupes konden met indophenolblauw fijne granula gekleurd worden, die op grond van hun aspect en van hun localisatie, en verder op grond van de zeer typische veranderingen tijdens de degeneratie van de zenuwschijf, zijn te beschouwen als bestanddeelen van het chondrioom. We hebben ook hier zeer waarschijnlijk niet met een gewone absorptiekleuring te doen, maar met een praecipitaatreactie, met medewerking van een katalysator.

Eindelijk werd onderzocht, of in de lichaampjes van Grandry ook glycogeen als intermediair stofwisselingsproduct voorkomt. In het centrale en periphere zenuwstelsel wordt glycogeen slechts tijdens het embryonale leven gevonden; later kan het onder pathologische verhoudingen, vooral van degeneratieven aard, in het centraal zenuwstelsel weder optreden. Het is zeer onwaarschijnlijk, dat deze aanwezigheid van glycogeen zou samenhangen met een pathologisch verhoogde stofwisseling. Zij laat zich in tegendeel beter verklaren als een gevolg van een pathologisch verminderde stofwisselingsintensiteit.

In de Grandry-lichaampjes komt glycogeen somtijds voor. Het vertoont een typische localisatie; in de zenuwschijf en in de buitenste lagen van het protoplasma der tastcellen. Het bevindt zich dus op dezelfde plaatsen, waar onder normale omstandigheden ook de oxydasegranula gevonden worden en de mitochondrien het dichtste gezaaid liggen. Tijdens de degeneratie der zenuwschijf neemt het gehalte aan voorradig glycogeen geleidelijk af. Aan de peripherie der tastcellen blijft het het langste aanwezig. Tijdens de regeneratie der zenuwschijf werd glycogeen nimmer gevonden, noch in de zenuwschijf, noch in de tastcellen. De afwezigheid van een glycogeenvoorraad tijdens de regeneratie hangt waarschijnlijk samen met de verhooging van de protoplasmastofwisseling. De positieve glycogeenreactie in normale Grandry-lichaampjes is wellicht een gevolg van een, in het stofwisselingsproces ingetreden, rusttoestand; zooals ook in het pathologisch veranderde centraal zenuwstelsel het optreden van glycogeen een gevolg is van de degeneratie.

Op grond van al deze bijzonderheden kunnen drie eindconclusies worden opgesteld:

1. De polyphenoloxydase komt ook in de lichaampjes van Grandry voor;

2. In de lichaampjes van Grandry is de polyphenoloxydase gelocaliseerd in het chondrioom;

3. De polyphenoloxydase speelt een rol bij de protoplasmastofwisseling, welke laatste waarschijnlijk in engen samenhang staat met de functioneele activiteit dezer eindorganen.

LITTERATUUR.

1. Anthon, H. Jahresber. über Fortschr. der Chemie. 507. — 1860.
2. Arndt, H. J. Zur kombinierten mikroskopischen Darstellung von Glykogen und Lipoïden. Zbl. Path. — 35. — 1924/25.
3. Bach, A. P. Zur Theorie der Oxydasewirkung. Mn. und Fe-freie Oxydasen; Einflusz der Metallsalze auf die weitere Umwandlung des Produktes der Oxydasewirkung. Ber. dtsch. chem. Ges. 43. — 1910.
4. Bertrand, A. C. r. Soc. Biol. Paris. 1897.
5. Best, F. Die Bedeutung pathologischen Glykogengehaltes. Zbl. Path. 18. — 1907.
6. Boeke, J. Studien zur Nervenregeneration II. Verh. Kon. Ac. Wetensch. A'dam. 19. — 1917.
7. —— Nervenregeneration und anverwandte Regenerationsprobleme. Erg. Physiol. 19. — 1921.
8. —— On the regeneration of sensitive Endcorpuscles after Section of the Nerve. Proc. roy. Acad. A'dam. 25. — 1922.
9. —— Die intazelluläre Lage der Nervenendigungen im Epithelgewebe und ihre Beziehungen zum Zellkern. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 2. — 1925.
10. —— Die Beziehungen der Nervenfasern zu den Bindegewebselementen und Tastzellen. Das periterminale Netzwerk. idem. 4. — 1926.
11. —— Noch einmal das periterminale Netzwerk. Die Struktur der motorischen Endplatte und die Bedeutung der Neurofibrillae. idem. 7. — 1926.
12. —— Nerve-endings, motor and sensory. Wilder Penfield, Cytology and cellular Pathology of the Nervous System. New-York. 1932.
13. —— Quelques remarques sur la régénération des fibres nerveuses après la section des Nerfs. Soc. roumaine de Neur., Psychiatr. et Endocrinol. 1933. Volume jubilaire en l'honneur du Professeur G. M. Marinesco.
14. —— Freie Nervenendigungen und Endorgane sensibler Nerven. Bolk-Göppert-Kallius-Lubosch. Handb. vergl. Anat. 2. — 1934.
15. Chodat, R. en Rouge, E. Sur la localisation intracellulaire d'une oxydase et la localisation en général. C. r. Acad. Sci. Paris. 175. — 1922.
16. Cowdry, E. V. The relations of Mitochondria and other cytoplasmatic constituents in spinal ganglioncells of the pigeon. Internat. Mschr. Anat. und Physiol. 29/30. — 1913/14.

17. Dagnelie, J. Contribution à l'étude morphologique et expérimentale des constituents cytoplasmatiques du neurone.
Arch. Biol. 43. — 1932.

18. Dietrich, A. Naptholblausynthese und Lipoïdfärbung.
Zbl. Path. 19. — 1908.

19. Dijkstra, C. Die De- und regeneration der sensiblen Endkörperchen des Entenschnabels (Grandry- und Herbst-Körperchen) nach Durchschneidung der Nerven, nach Fortnahme der ganzen Haut und nach Transplantation von verschieden innervierten Hautstückchen.
Z. mikrosk.-anat. Forsch. 34. — 1933.

20. Dogiel, A. Nouvelles données sur la structure de quelques appareils nerveux sensoriels. Ier partie: Appareils nerveux du bec et de la langue des oiseaux.
Arch. russ. Anat., Histol. et Embryol. 1. — 1917.

21. Favre, M. en Regaud, C. Sur les mitochondries dans les cellules des sarcomes. C.r. Soc. Biol. Paris. 74. — 1913.

22. ——, —— Sur les formations mitochondriales dans les cellules néoplasmatiques des épithéliomes de la peau et des muqueuses.
idem. 74. — 1913.

23. Fiessinger, N. en Jamin, A. Au sujet des granulations dites oxydasiques mises en évidence par la benzidine oxygénée dans les leucocytes de la série granuleuse. idem. 91. — 1924.

24. Fiessinger, N. en Roudowska, L. La réaction mikrochimique des oxydases dans les tissus humains.
Arch. Méd. expér. 24. — 1912.

25. Fischera, G. Über die Verteilung des Glykogens in den verschiedenen Arten experimenteller Glykosurie. Ziegler's Beitr. 36. — 1914.

26. Gabbe, E. Untersuchungen über die Sulfhydrilgruppe der Blutkörperchen. Z. exper. Med. 69. — 1930.

27. Gessard. C. r. Soc. Biol. Paris. 1900.

28. v. Gierke, E. Herstellung von Dauerpräparaten mit Oxydasereaktion. Z. Path. 27. — 1916.

29. Giroud en Bouillard. Glutathion et Kératine.
C. r. Soc. Biol. Paris. 98. — 1928.

30. Giroud en Leblond. Localisation histochimique de la vitamine C dans le cortex surrénal. idem. 115. — 1934.

31. ——, —— Localisation de la vitamine C au niveau de la glande génitale male. idem. 115. — 1934.

32. Goetsch, E. Functional significance of mitochondria in toxic thyreoïd adenomata. Bull. Hopkins Hosp. 27. — 1916.

33. Gräff, S. Die Naphtholblau-oxydasereaktion der Gewebszellen nach Untersuchungen am unfixierten Präparat. Frankf. Z. Path. 2. - 1912.

34. —— Eine Anweisung zur Herstellung von Dauerpräparaten bei An-

wendung der Naphtholblau-oxydasereaktion mit einigen Bemerkungen zur Theorie und Technik der Reaktion.
Zbl. Path. 27. — 1916.

35. —— Intrazelluläre Oxydation und Nadireaktion. (Indophenolblausynthese). Ziegler's Beitr. 70. — 1922.

36. Graubner, E. Etude de l'influence des fixateurs sur le glycogène du cartilage. Bull. Hist. appl. 10. — 1933.

37. Grosz, W. Zur Technik der Fettfärbung.
Z. wiss. Mikrosk. 47. — 1930.

38. Harrison, D. C. The indophenolreaction in biological oxydations.
Biochemic. J. 23. — 1929.

39. Heffter. Die reduzierenden Substanzen der Zellen.
Med. Wiss. Arch. I. — 1908.

40. Hollande, A. C. Non-spécificité des réactions au bleu d'indophénol et à la benzidine pour la mise en évidence des granulations dites oxydasiques des cellules. Bull. Hist. appl. 1. — 1924.

41. —— La non-spécificité au point de vue oxydasique des granulations protoplasmiques mises en évidence par la benzidine au contact de l'eau oxygénée. C.r. Soc. Biol. Paris. 90. — 1924.

42. Jacob, A. Normale und pathologische Anatomie des Groszhirns.
Leipzig en Wien: Fr. Deuticke. 1927.

43. Joyet-Lavergne, Ph. Glutathion et Chondriome.
Protoplasma. Berlin. 4. — 1929.

44. Katsunuma, S. Intrazelluläre Oxydation und Indophenolblausynthese. Monogr. Jena: Fischer. 1924.

45. —— Zur Frage der Naphtholblau-Oxydasereaktion des Nervensystems. Ziegler's Beitr. 60. — 1915.

46. —— Photoaktivität tierischer Geweben. Beiträge zur Indophenolblaureaktion in vitro. Trans. jap. path. Soc. 18. — 1928.

47. Kaufmann, C. en Lehmann, E. Spezifizität histochemischer Fettdifferenzierungsmethoden. Z. Path. 37. — 1926.

48. Klestadt, W. Über Glykogenablagerung.
Erg. Path. u. path.-Anat. 15. — 1911.

49. Kolthoff, I. M. Säure — Basen — Indikatoren.
Berlin:. Julius Springer: 1932.

50. Lawrentjew, B. J. Über das Chondriom der Grandry'schen Körperchen. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 6. — 1926.

51. Loele, W. Beziehungen zwischen Oxydasen, Vitalfärbungen, Postmortalfärbungen und Morphologie der Zelle.
Arch. path. Anat. u. Physiol. 265. — 1927.

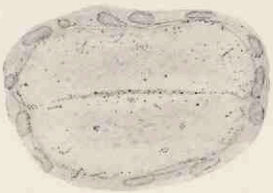
52. Mangenot, R. Sur la localisation cytologique des peroxydases et des oxydases. C.r. Acad. Sci. Paris. 186. — 1928.

53. Marinesco, G. M. Recherches histologiques sur les oxydases.
C.r. Soc. Biol. Paris. 71. — 1919.

54. —— Du rôle des ferments oxydants dans les phénomènes de la vie. Libro en Honor de D. S. Ramon Y Cajal, Madrid. 1922.
55. —— Topographie des oxydases dans le système nerveux. C.r. Soc. Biol. Paris. 87. — 1922.
56. —— Evolutions des ferments oxydants. idem. 87. — 1922.
57. —— Nouvelles contributions à l'étude du rôle des ferments oxydants dans les phénomènes de la vie du neurone. Arch. suisses Neur. et Psychiatr. 15. — 1924.
58. —— Nouvelles recherches sur la forme de Spielmeyer-Vogt de l'idiotie amaurotique. Bull. Sect. sci. Acad. roum. 10. — 1927.
59. —— Recherches sur la structure physico-chimique de la cellule nerveuse et sur le rôle des ferments dans les phénomènes de la vie du neurone. Rev. belge. Sci. méd. 1930.
60. Münzer, Fr. Th. Über Darstellung und Vorkommen von Glykogen im Nervensystem. Z. Neur. u. Psychiatr. 112. — 1928.
61. Nageotte, J. L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie. Paris. Libraire Felix Alcan. 1922.
62. Noël, R. Recherches histo-physiologiques sur la cellule hépatique des mammifères. Thèse. Paris. 1922.
63. Nowik, N. Zur Frage von dem Bau der Tastzellen in den Grandry'schen Körperchen. Anat. Anz. 36. — 1916.
64. Perez, R. M. Sur quelques faits intéressants touchant la régénération expérimentale dans les corpuscules de Herbst et de Grandry. Trav. Labor. Rech. biol. Univ. Madrid. D. S. Ramon Y Cajal. 28. — 1932.
65. Romeis, B. Das Verhalten der Plastosomen bei der Regeneration. Anat. Anz. 45. — 1913.
66. Sartory, A. Les propriétés oxydasiques. Recherches du sang par les réactifs des oxydases. Recherches personelles. Oxydases à base du fer. Leur effet en thérapeutique. Arch. Méd. expér. 24. — 1912.
67. Stern, L. Die Beziehungen des Katalasesystems zu den Oxydationsvorgängen in den Tiergeweben. Biochem. Z. 69. — 1927.
68. Tamura. Die Folgen der Nervendurchschneidung am Entenschnabel. Arch. Entw.-mechan. 51. — 1922.
69. Waelsch, H. en Weinberger, E. Glutathionspiegel des Blutes im Fieber. Arch. f. exper. Path. u. Pharmacol. 169. — 1932.
70. Zweibaum, J. Sur l'utilisation du mélange-„Nadi" et du bleu d'indophénol formé en vitro en technique histologique. Coloration intravitale et postvitale des graisses. C.r. Soc. Biol. Paris. 89. — 1923.
71. —— Sur la coloration des graisses dans la cellule vivante. idem. 89. — 1923

---

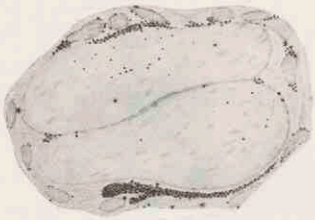
k 3723



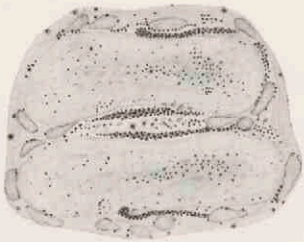
Afb. 1. Normaal Grandry-lichaampje. Dwarsdoorsnede. Zwakke oxydasereactie. Veel fijne granula, die in de peripherie der tastcel in korte reeksen liggen, welke reiken tot in het protoplasma der kapselcellen.

Afb. 2. Vergelijk afb. 1. Sterke oxydasereactie. Veel grove granula.

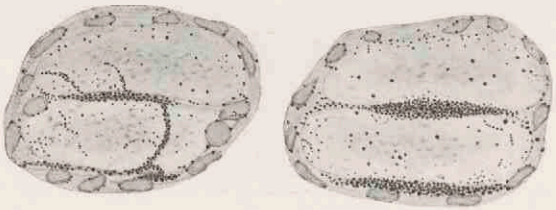
Afb. 3. Normaal Grandry-lichaampje. Dwarsdoorsnede. In de peripherie der tastcellen liggen de oxydasegranula in korte reeksen achter elkander.



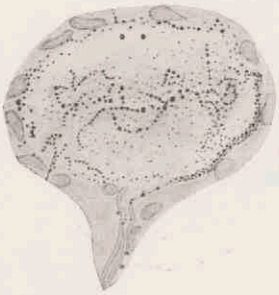
Afb. 4. Het begin der regeneratie. Tusschen kapsel en tastcellen een zenuweindknop, beladen met oxydasegranula. De tastcellen zelf zijn nog ledig.



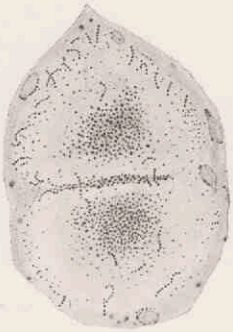
Afb. 5. Vergelijk afb. 4. Ook in het centrum der tastcellen wordt de oxydasereactie positief.



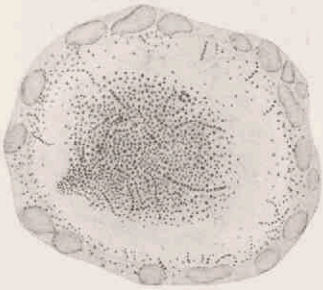
Afb. 6. Twee niveaus van een regenereerend Grandry-lichaampje. De zenuw loopt in een wijden boog over een der tastcellen en vormt twee zenuwschijven.



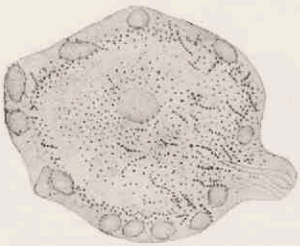
Afb. 7. Regenereerend Grandrylichaampje. De jonge zenuwschijf ligt in de coupe. De granula liggen in het verloop der fijne zenuwvertakkingen.



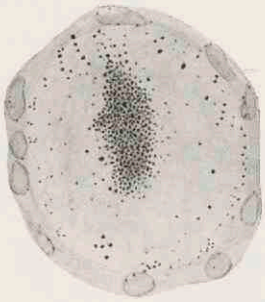
Afb. 8. Regeneraat. De rand der zenuwschijf ligt in de coupe. In het centrum der tastcellen is de reactie sterk positief. In de peripherie liggen de granula in reeksen, die tot in de kapselcellen reiken. Van den rand der zenuwschijf en van de eene tastcel in de andere stroomen granula over.



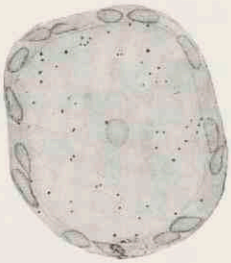
Afb. 9. Regeneraat. De zenuwschijf ligt in de coupe.



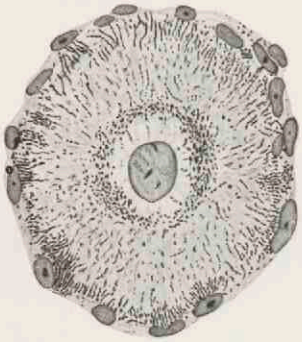
Afb. 10. Regeneraat. De zenuwschijf werd scheef aangesneden. Reeksen van granula stroomen over in het protoplasma van een der tastcellen.



Afb. 11. Degenereerend Grandry-lichaampje. 3 dagen p.o. Tangentiaalcoupe, waarin de rest van de zenuwschijf werd getroffen.

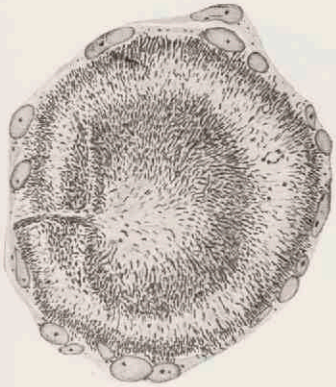


Afb. 12. Degenereerend Grandry-lichaampje. 9 dagen p.o. Slechts sporadische granula in de peripherie der tastcellen. Ook de hier liggende kern werd getroffen.

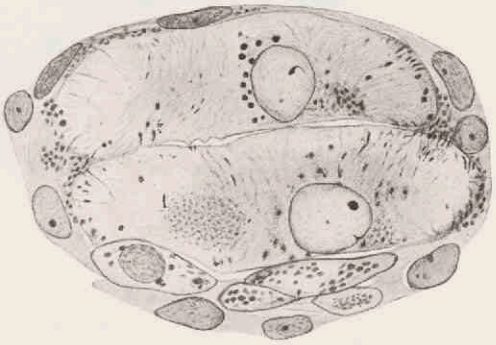


Afb. 13. Normaal Grandry-lichaampje. Chondrioom. De chondriokonten der buitenste tastcelzone reiken tot in het protoplasma der kapselcellen.

Afb. 14. In de buitenste tastcelzone hoopen zich de chondriokonten op ter plaatse van de kernen der kapselcellen. Aan den rand van de zenuwschijf stroomen mitochondrien in de tastcellen over, en ook van de eene tastcel in de andere.

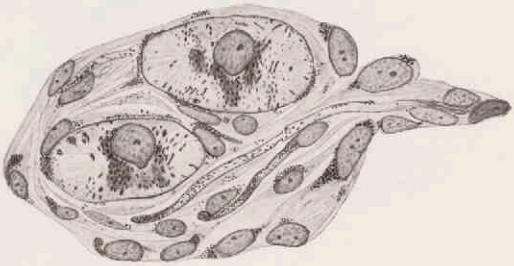


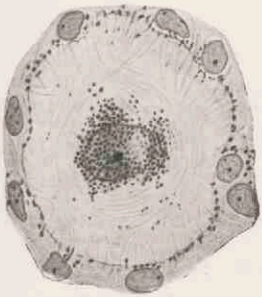
Afb. 15. Normaal Grandry-lichaampje. Mitochondrien. De zenuwschijf ligt in de coupe.



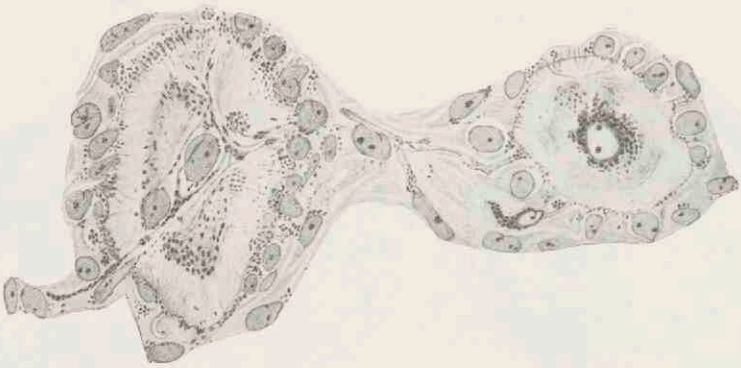
Afb. 16. Degenereerend Grandry-lichaampje. 9 dagen p.o. Resten van het chondrioom en van het Golgi-apparaat. Ophooping van mitochondrien in enkele bijzonder groote kapselcellen. De vezelstructuur van het protoplasma der testcellen is zichtbaar.

Afb. 17. Regeneraat. De uitgroeiende zenuwen zijn rijkelijk met mitochondrien voorzien. Sterke nieuwvorming van chondrioom in de kapsel.



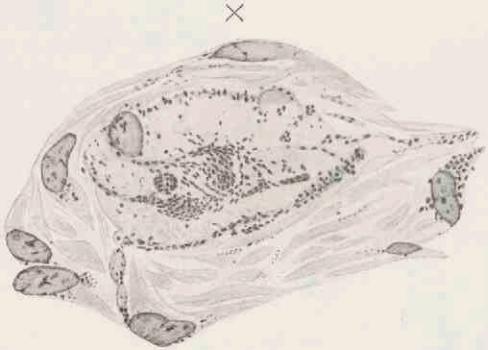


Afb. 18. Regeneraat. Sterke nieuwvorming van mitochondrien om de kern der tastcel heen. De middelste en buitenste tastcelzone zijn nog vrij van chondrioom.

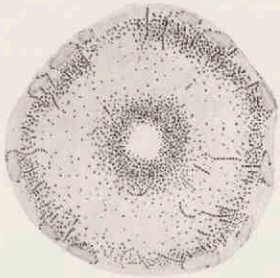


Afb. 19. Regeneraat. Twee tastlichaampjes. Rechts: vergelijk afb. 18. Links ligt de regenereerende zenuwschijf in de coupe. In de kapsel sterke nieuwvorming van mitochondrien, die in de tastcel binnendringen.

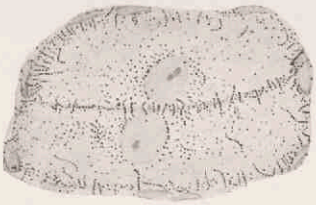
Afb. 20. Regeneraat. Gevorderd stadium. Rijke vertakking der zenuwvezels. De mitochondrien in de tastcel verbreiden zich in het protoplasma.



Afb. 21. Regeneraat. Een bipolaire zenuwschijf ligt in de coupe. Vorming van het terminaalnetwerk. Bij × verlaten eenige reeksen mitochondrien het gebied van de tastschijf.

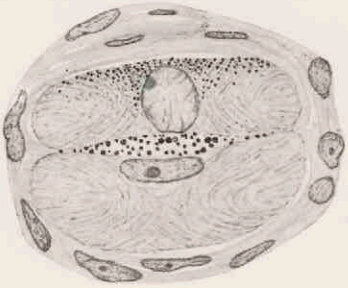


Afb. 22. Normaal Grandry-lichaampje. Formolfixatie. Kleuring in 1 $^{1}/_{00}$ oxydasemengsel volgens Schulze gedurende $1^{1}/_{2}$ uur. Met indophenblauw gekleurde granula, die lijken op mitochondrien en ook als zoodanig gelocaliseerd zijn.



Afb. 23. Vergelijk afb. 22. Aan den rand van de zenuwschijf. Overgang der korrels van de eene tastcel in de andere.

Afb. 24. Vergelijk afb. 22. Op den 9den dag na de doorsnijding der zenuwen zijn de korrels uit de tastcellen vrijwel verdwenen.



Afb. 25. Normaal Grandry-lichaampje.
Glycogeenreactie.

Afb. 26. Normaal Grandry-lichaampje.
Glycogeenreactie.

STELLINGEN

I.

Dat de oxydasefunctie te beschouwen zou zijn als een grensvlakverschijnsel, waarbij elk substantieel begrip aan de oxydasen wordt ontnomen, is zeer waarschijnlijk niet juist.

II.

Bij de behandeling van wervelfracturen verdient de vroegtijdige actieve bewegingstherapie aanbeveling boven de methode met redressie en immobiliseeren in een gipscorset.

Magnus, Arch. orthop. Chir. 29 — 1931; Böhler, Arch. klin. Chir. 173 — 1932 en 177 — 1933.)

III.

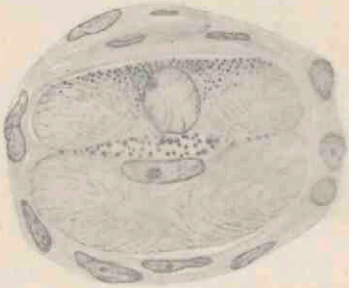
De proeven van Yasukawa betreffende „experimentelle Abkühlungsrheumatismus" zijn voor onze kennis van het rheuma van geenerlei belang.

(Ziegler's Beitr. 94, III — 1935.)

IV.

Bij lijders aan de ziekte van Basedow met uitgesproken, hardnekkige decompensatieverschijnselen van den kant van het hart- en vaatstelsel verrichte men geen subtotale, maar totale thyreodectomie (welke operatie gevolgd dient te worden door specifieke behandeling van de opgewekte athyreose).

(Eggleston en Soma Weiss, American J. med. Sci. 189, V — 1935.)



Afb. 25. Normaal Grandry-lichaampje.
Glycogeenreactie.

Afb. 26. Normaal Grandry-lichaampje.
Glycogeenreactie.

STELLINGEN

I.

Dat de oxydasefunctie te beschouwen zou zijn als een grensvlakverschijnsel, waarbij elk substantieel begrip aan de oxydasen wordt ontnomen, is zeer waarschijnlijk niet juist.

II.

Bij de behandeling van wervelfracturen verdient de vroegtijdige actieve bewegingstherapie aanbeveling boven de methode met redressie en immobiliseeren in een gipscorset.

Magnus, Arch. orthop. Chir. **29** — 1931; Böhler, Arch. klin. Chir. **173** — 1932 en **177** — 1933.)

III.

De proeven van Yasukawa betreffende „experimentelle Abkühlungsrheumatismus" zijn voor onze kennis van het rheuma van geenerlei belang.

(Ziegler's Beitr. **94**, III — 1935.)

IV.

Bij lijders aan de ziekte van Basedow met uitgesproken, hardnekkige decompensatieverschijnselen van den kant van het hart- en vaatstelsel verrichte men geen subtotale, maar totale thyreodectomie (welke operatie gevolgd dient te worden door specifieke behandeling van de opgewekte athyreose).

(Eggleston en Soma Weiss, American J. med. Sci. **189**, V — 1935.)

V.

Het feit, dat optische isomeren even sterk narcotisch werken, vormt geen steun voor de physische theorieën der narcose (Traube, Höber).

(Viditz, Arch. exper. Path. und Pharmak, **172** — 1933.)

VI.

Bij het vaststellen van de bloedgroep mag men zich niet beperken tot het bepalen van het agglutinogeen alleen, doch tevens bepale men het agglutinine.

VII.

Voor sommige gevallen van placenta praevia kan röntgenologisch onderzoek van nut zijn.

(Walter, Ude en Urner, American J. Obstet. and Gynecol. **29**, V — 1935.)

U
1