



Vitamine K en haemorrhagische diathesen

<https://hdl.handle.net/1874/358899>

**VITAMINE K EN HAEMORRHAGISCHE
DIATHESSEN**

TJEN TJAUW MIN

VITAMINE K EN HAEMORRHAGISCHE DIATHESSEN

Diss. Utrecht 1941

VITAMINE K EN HAEMORRHAGISCHE DIATHESEN

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. R. KRUYT, HOOG-
LEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN
OP DINSDAG 1 JULI 1941, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR,

DOOR

TJEN TJAUW MIN

GEBOREN TE BANDOENG (JAVA)

1941

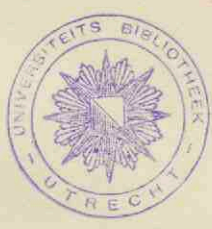
DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

ALPHINE K. B. HANDBOOK
DICTIONARY

PROFESSOR

THE UNIVERSITY OF UTRACHT
DEPARTMENT OF LINGUISTICS
AND
LITERATURE

THE UNIVERSITY OF UTRACHT



Aan mijn Ouders

De voltooiing van dit proefschrift is voor mij tevens een aangename gelegenheid om mijn erkentelijkheid te betuigen aan mijn Leermeesters, die aan mijn vorming tot arts hebben medegewerkt, aan Hoogleraren, oud-Hoogleraren en Docenten van de Medische Hoogeschool te Batavia. Van hen, die niet meer tot de levenden behooren, kan ik alleen de nagedachtenis eeren.

Hooggeleerde DE LANGEN, Hooggeachte Promotor, U ben ik er zeer dankbaar voor, dat U mij in de gelegenheid hebt gesteld dit proefschrift te bewerken. Zonder Uw welwillenden raad en daad zou dit nu niet tot stand gekomen zijn. Uw rijke ervaring en groote kennis waren steeds de bronnen voor nieuwe ideeën, waarvan ik bij mijn onderzoek ruimschoots heb mogen profiteren en ik kan het niet genoeg waardeeren, dat U mij opgenomen hebt in Uw staf van assistenten, om mij onder Uw voortreffelijke leiding verder te kunnen bekwaren in de medische wetenschap. De wijze waarop U Uw kennis en persoonlijkheid op de assistenten overdraagt, heeft steeds mijn volle bewondering afgedwongen. Behalve Chef en Leermeester bent U voor ons immer geweest een vriend, die steeds volle belangstelling heeft voor de nooden van zijn assistenten.

Zeergeleerde HULST, ik acht het een voorrecht om onder Uw leiding te mogen werken. Uw critischen zin en Uw nuchteren kijk op wetenschappelijke vraagstukken heb ik steeds bewonderd. Groot is de invloed geweest, dien Gij hebt uitgeoefend op mijn studie.

Zeergeleerde JORDAN, moge dit proefschrift U een bewijs zijn, dat Uw initiatief vruchten heeft afgeworpen. Uw medewerking heeft dit werk mogelijk gemaakt en met groote waardeering zal ik steeds denken aan Uw veelzijdige kennis en aan de wijze waarop Gij hebt medegewerkt aan mijn verdere medische opleiding. Niettegenstaande Uw vele andere drukke werkzaamheden hebt Gij mij steeds met raad en daad terzijde gestaan.

Dankbaar ben ik den assistenten en oud-assistenten, met wie ik gedurende deze jaren op zoo prettige wijze heb samengewerkt.

Zeer erkentelijk ben ik voor de medewerking, die ik altijd van de verpleegsters der verschillende afdelingen mocht ondervinden.

Mijn vrienden en kennissen, die ik in het gastvrije Nederland heb gemaakt, betuig ik mijn oprechten dank voor de hartelijkheid, die zij mij hebben betoond.

De dames VAN ARKEL, TOREN, JANSEN, PLESSSEN en SCHUITEMA, U dank ik voor de hulp, die U mij bij het werk in het laboratorium hebt verleend.

Ook U, geachte Mej. IJFFS en Mej. TULLEKEN, en U, waarde OOSTVEEN, dank ik voor Uw hulp bij het schrijven van mijn proefschrift.

De N.V. ORGANON te Oss ben ik zeer erkentelijk voor de belangeloos ter beschikking gestelde vitamine K-preparaten.

Tot slot nog een woord van dank aan U, waarde VERHOEF, voor het vervaardigen van de teekeningen en aan allen, die op eenigerlei wijze behulpzaam zijn geweest bij het tot stand komen van dit proefschrift.

INHOUD.

	Bladz.
HOOFDSTUK I.	
INLEIDING	11
Haemorrhagische diathesen	11
Bloedstolling	15
De haemorrhagische diathese bij icterus en leverparenchymbeschadigingen	17
Het prothrombine bij den icterus	20
Het coagulatie-defect bij de haemophilie	33
HOOFDSTUK II.	
HET VITAMINE K	37
Kort historisch overzicht	37
Het voorkomen van het vitamine K in de natuur	43
Andere natuurlijke vitamine K bronnen	46
Het mechanisme van de trage bloedstolling bij de haemorrhagische kuikenziekte	49
De actie-modus van het vitamine K	51
Vitamine K-deficientie van diëtetischen oorsprong bij andere dieren . . .	52
Chemische eigenschappen en samenstelling van het vitamine K	54
HOOFDSTUK III.	
KLINISCHE WAARDE VAN HET VITAMINE K	67
Vitamine K bij operaties aan de galwegen	78
Het prothrombinegehalte in bewaard bloed	82
Andere ziekten, waarbij een vitamine K-tekort kan optreden	83
Het prothrombinegehalte bij de Pernicieuze Anaemie	84
Morbus haemorrhagicus neonatorum	91
HOOFDSTUK IV.	
METHODE VAN ONDERZOEK	100
Beschouwingen en eigen onderzoek over de practische waarde van de methode van Quick voor de prothrombinebepaling in plasma . .	100
Eigen onderzoekingen	123
Onderzoek van den prothrombinestollingstijd van het plasma bij personen gedurende een etmaal	123

	Bladz.
De prothrombinestollingstijd bij andere haemorrhagiën	125
Twee gevallen van vitamine K-deficientie door onvoldoende voeding . . .	127
De prothrombinestollingstijd in het plasma van nierlijders	129
Prothrombinegehalte bij icterus en leveraandoeningen	135
Resultaten van de vitamine K-behandeling bij den icterus en leveraandoeningen	139
Het prothrombinegehalte bij darmaandoeningen	152
Resultaten van de behandeling van icteruspatiënten met uitsluitend gal . .	157
Beschouwingen over den toestand van den vaatwand bij haemorrhagische diathesen	164
SAMENVATTING	167
ZUSAMMENFASSUNG	172
SUMMARY	177
LITERATUUR	181

HOOFDSTUK I.

INLEIDING.

Haemorrhagische diathesen.

De leer van de haemorrhagische diathese was en is nog steeds van klinisch en pathologisch standpunt bekeken, één van de meest verwarde hoofdstukken. Ook de talrijke theorieën, die in den loop der jaren over dit onderwerp zijn opgebouwd, hebben er niet weinig toe bijgedragen om de verwarring als het kan nog grooter te maken en hebben zeker niet in alle opzichten ons begrip en inzicht in dit toch zoo interessante probleem der spontane bloedingen, verruimd en verduidelijkt. Daarbij moet echter dadelijk een uitzondering worden gemaakt voor enkele onderdeelen van de haemorrhagische diathese, die wij in de laatste jaren, althans wat betreft de therapie, ongetwijfeld beter hebben leeren begrijpen n.l. de scorbuut en de bloedingen bij den icterus en bij zware leverbeschadigingen.

Sinds den tijd van Werlhof, Schönlein en Hensch in de 19e eeuw, met recht door Frank in zijn boek genoemd „De drie vaders van de leer der haemorrhagische diathesen”, heeft men regelmatig de theorieën, begrippen en definities over deze spontane bloedingen gewijzigd.

De morbus Werlhof en de morbus Schönlein zijn nu voor ons aparte en op zichzelf staande ziektebeelden. Iedereen weet echter ook, dat dit niet altijd zoo is geweest. De z.g. unitarische opvatting van de „Purpura” maakte in de vorige eeuw tamelijk veel opgang, waarbij men immers aan de diverse „purpuraziekten” geen essentiele, maar gradueele verschillen toedacht. De talrijke vormen van de haemorrhagische diathese werden niet beschouwd als op zichzelf staande ziektebeelden, maar te zijn klinische variëteiten van de door Werlhof in 1740 beschreven en door hem Morbus maculosus

haemorrhagicus genoemde ziekte. De voorstelling, dat één en dezelfde bacterie, n.l. de specifieke *Bacillus Purpurae*, de verwekker zou zijn van de verschillende vormen van purpura, was de basis van deze unitarische gedachte. Een beter inzicht in het probleem begon men voor het eerst te krijgen toen men de waarde van de thrombocyten in de pathogenese van de haemorrhagische diathese begreep.

Ofschoon men reeds in de vorige eeuw het vermoeden had, dat de thrombocyten een rol zouden spelen bij de purpura, was het pas in 1912—'13 dat Duke het belang van de thrombocyten aantoonde voor de diagnose en voor de verklaring van verschillende vormen van spontane bloedingen. Ondanks de enorme vooruitgang op het gebied van onze klinische en haematologische onderzoekingsmethoden, zijn nog vele dingen van de haemorrhagische diathese ons duister gebleven. Daarom zou ik geneigd zijn de verschillende vormen van purpura te verdeelen in 3 hoofdgroepen:

1. De haemorrhagische diathesen die ons nog geheel duister zijn en waarbij wij genoeg moeten nemen met min of meer aannemelijke, doch niet bewezen theorieën en veronderstellingen.
2. De haemorrhagische diathesen die nog eenigszins te verklaren zijn.
3. Bloedingen, welke wij meenen nu te begrijpen en ze therapeutisch te kunnen contrôleeren.

Tot de *1e groep* behooren dan de haemophilie en de z.g. athrombopenische purpura. Men heeft de verklaring voor de laatste gezocht en misschien inderdaad gevonden in de capillairtoxicose, maar welke veranderingen de vaatwand heeft ondergaan en waarom, zijn vragen, die ondanks de talloze onderzoekingen en veronderstellingen in feite nog steeds onopgelost zijn gebleven.

Bij de haemophilie is het als het kan nog moeilijker. Waar het bij de anaphylactoiden of athrombopenische purpura vaak nog mogelijk is om met de stuwingsproeven een verminderden vaatwandweerstand aan te toonen, is dat immers bij de haemophilie meestal niet mogelijk. Wanneer wij aannemen dat er bestaan een vertraagde

vorming en afgifte van thrombokinase, dan nog zijn wij niet in staat om deze afwijking therapeutisch te beïnvloeden. Er ligt iets onlogisch in het feit, dat de bloedingstijd bij den haemophilie-patiënt normaal is, terwijl diezelfde patiënt aan verbloeding sterft. Is misschien de methode om den bloedingstijd te bepalen (prik in de oorlel) verkeerd en eigenlijk van weinig waarde? En dan blijft nog steeds de groote vraag „waarom wordt er te weinig thrombokinase gevormd en wat is de ontbrekende factor voor deze aanmaak“?

Onder *groep 2* zouden wij kunnen rangschikken alle gevallen van purpura, waarbij er een vermindering der thrombocyten aanwezig is. Immers hier hebben wij een reëel houvast aan het feit dat één der stollingsfactoren ontbreekt, ofschoon wij de oorzaak van de thrombocytopenie nog lang niet altijd begrijpen. Het is wel vreemd, dat een gesloten vat plotseling kan gaan bloeden zonder dat er een trauma in het spel is, al is er een tekort aan een der stollingsfactoren. Wij zullen later in de beschouwingen wat dieper hierop ingaan.

De *3e groep* zal dan moeten omvatten die haemorrhagieën, waarvan wij de oorzaak en de gang van zaken, zij het dan ook nog niet altijd volledig, kennen en die wij therapeutisch goed kunnen contrôleeren. Hiertoe behooren de scorbuut, de cholaemische bloedingen en de bloedingen bij zware leverbeschadigingen. Voor de scorbuut wordt een vitamine C-tekort verantwoordelijk gesteld en voor beide laatste bloedingen een tekort aan vitamine K, althans de haemorrhagieën daarvan kan men bedwingen door toediening van genoemde vitaminen.

Het ligt niet in mijn bedoeling om de haemorrhagische diathese in het algemeen te behandelen, maar om met bovenstaande inleiding naar voren te brengen, dat wij met de ontdekking van het vitamine K een stap verder zijn gekomen in het probleem van de spontane bloedingen.

Volledigheidshalve volgt hieronder nog een indeeling van de haemorrhagische diathesen. Er bestaan verschillende indeelingen, maar de meest overzichtelijke lijkt mij die van *Pepper-Farley* (*Practical Hematological Diagnosis*), waarin ik enkele wijzigingen meen te mogen maken.

PURPURAS.

(Met enkele wijzigingen overgenomen uit Leerboek van Pepper-Farley).

1. *Purpuras met vermindering van de thrombocyten.*
 - a. — Idiopathische purpura haemorrhagica (prim. of essentiele thrombocytopenische purpura.) Werlhof.
 - b. — Symptomatische purpura haemorrhagica;
 - Benzol-, arsphenamine vergiftiging, radium, röntgenstralen, aplastische anaemie, leucaemie, maligne granuloom, beenmergmetastasen, acute en chronische infectieziekten, enz.
2. *Purpuras zonder vermindering der thrombocyten.*
 - a. — Anaphylactoïde purpura (Glanzmann);
 - purpura van Schönlein,
 - purpura van Henoch,
 - Purpuragroep van Osler,
 - allergische purpura.
 - b. — Purpura fulminans.
 - c. — Eenvoudige symptomatische purpura;
 - Infectieziekten zooals typhus, cerebrosпинаal meningitis, subacute endocarditis, tuberculose enz.;
 - intoxicaties met geneesmiddelen en andere chemische stoffen zooals histamine, arseen, kinine, slangegif, Copaiba, Mercuri; Nephritis, arteriosclerose, senile purpura, vasomotorische afwijkingen, convulsies, bevroezing, avitaminosen zooals de scorbuut (vitamine C).

ANDERE HAEMORRHAGISCHE DIATHESSEN.

3. *Met kwalitatieve afwijkingen der thrombocyten.*
 - a. Haemophilie.
 - b. Hereditaire thrombasthenie.
4. *Met een fibrinogeen tekort.*
 - Pseudohaemophilia hepatica;
 - Fosfor- en chloroformvergiftiging, acute gele leverathrophie.
5. *Met een Prothrombine tekort (vitamine K)*
 - a. afsluitingsicterus en leverziekten,
 - b. haemorrhagische diathese van de pasgeborenen,
 - c. vetdiarree en resorptie-stoornis door afwijkingen aan het darmslijmvlies.

6. *Met afwijking in de capillairen.*

- a. — Hereditaire haemorrhagische telangiectasiën.
- b. — Haemorrhagische capillairtoxicose (Frank).

7. *Met hormonale afwijkingen.*

- a. — Ziekte van David.

Bloedstolling.

Het vraagstuk van het vitamine K staat in directe en nauwe samenhang met dat van de bloedstolling. Dit biologisch verschijnsel heeft in den loop der tijden aanleiding gegeven tot enorme hoeveelheden literatuur en discussies. Men is het er echter wel over eens, dat er bij de bloedstolling 3 fasen zijn:

1. Reactiephase.
2. De werkelijke stollingsphase.
3. Retractiephase van het stolsel en vorming van de bloedkoek.

In de eerste phase, verloopende tusschen het te voorschijn treden van het bloed uit den gesloten bloedsomloop en het begin van de stolling (optreden van de eerste fibrinenaalden of -draden), spelen zich uitsluitend chemische veranderingen af. Welke deze chemische omzettingen zijn, is ook nog een strijdvrage. In ieder geval is het eindresultaat de vorming van fibrine.

Met het ontstaan van de eerste fibrinenaalden of -draden begint de tweede phase, waarbij het bloed steeds minder vloeibaar en „dikker” wordt, doordat de fibrinenaalden een netwerk vormen waarin de bloedlichaampjes worden vastgehouden. Zodoende ontstaat het stolsel. De derde phase kenmerkt zich door het contraheeren van het stolsel en het uitpersen van serum. Dit gecontraheerde stolsel noemen wij bloedkoek.

Wij zullen hier iets dieper ingaan op de eerste phase van de bloedstolling, daar deze voor de kennis van de vitamine K werking vooral van belang is.

De voornaamste chemische stoffen, die bij de bloedstolling een rol spelen, zijn:

1. *Prothrombine*, ook wel genoemd thrombogeën, plasmozyne of serozyne.
2. *Thrombokinase*, ook wel genoemd thromboplastine, thrombozyne, cytozyne, zymoplastic substance, cytozymophosphatide. Of deze stof normaal in het bloedplasma wordt gevonden, is niet zeker bekend.
Het is niet onwaarschijnlijk om aan te nemen, dat er fysiologisch een kleine hoeveelheid in het circuleerend bloed aanwezig is, daar de thrombocyten ongetwijfeld, evenals alle andere bloedlichaampjes, regelmatig worden vernietigd. Maar vooral wordt het thrombokinase aangetroffen in de thrombocyten en in het plasma van alle weefselcellen.
3. *Fibrinogeen*.
4. *Calcium*.
5. Verder spelen een belangrijke rol bij de bloedstolling de P_H van het bloed, *oppervlaktespanning* en de *antistollingsstoffen* zoals het antiprothrombine (heparine), die de vorming van het thrombine voorkomt, antithrombine (hirudine), die de inwerking van het thrombine op het fibrinogeen belet, meta-thrombine of inactief thrombine.

Er bestaat een groot aantal theorieën over de vraag waarom circuleerend bloed in het lichaam niet stolt en hoe de volgorde is van de chemische reacties bij de bloedstolling en wij kunnen niet anders zeggen, dan dat iedere theorie over de bloedstolling voldoet aan den eisch, n.l. tot het eindresultaat te komen: de vorming van fibrine.

Alle theorieën hebben dit gemeen, dat de vorming van het fibrine uitsluitend gebeurt door de aanwezigheid van het thrombine. Het thrombine zou dan het product zijn van de enzymwerking op het prothrombine bij aanwezigheid van calcium.

Voor het gemak volgt hier het schema zoals Morawitz zich den gang van zaken voorstelde:

1. Prothrombine + thrombokinase + calcium = Thrombine.
2. Thrombine + fibrinogeen = Fibrine.

Een tekort aan één of meerdere van deze stollingsstoffen of een teveel aan antistollingsstoffen kan de bloedstolling vertragen of in het geheel niet doen plaats vinden. Thrombine is dus in het circulerend bloed niet aanwezig en wordt pas bij de stolling gevormd. De snelheid waarbij nu het stolsel wordt gevormd, hangt af van de concentratie van thrombine. Volgens *Wiggers* (Leerboek over bloedziekten) heeft *Eagle* aangetoond, dat de hoeveelheid thrombine die er gevormd wordt, onafhankelijk is van de hoeveelheid calcium en van de thrombocyten, maar uitsluitend bepaald wordt door de concentratie aan prothrombine. Later heeft ook *Quick* (1935) dit nader aangetoond.

Opmerking.

Over de rol van de thrombocyten is men het nog lang niet eens. Men vermoedt zelfs, dat ze meer invloed hebben op de vastheid van het stolsel dan dat ze direct de stolling veroorzaken door loslaten van het thrombokinase. Er kan immers stolling optreden in lichaamsvochten waarin weinig of geen thrombocyten aanwezig zijn, b.v. lymfhevocht. *Wiggers* veronderstelt in zijn leerboek, dat door de eerst vernietigde thrombocyten het proces in gang wordt gezet en dat de rest, die in het coagulum wordt gevangen, langzaam wordt afgebroken om zodoende de steeds meer gevormde fibrinenaalden tot bundels te binden.

Men is er tegenwoordig niet meer zoo zeker van of het prothrombine in het bloed wel als zoodanig bestaat. De meening is wel eens geopperd, dat het thrombine zelf in „gehemmtten" toestand in het bloed aanwezig is.

Over de rol van het fibrinogeen en het calcium zal in het volgend hoofdstuk meer gezegd worden.

De haemorrhagische diathese bij icterus en leverparenchymbeschadigingen.

Het is reeds lang bekend, dat er bij icterus en bij leverbeschadigingen een neiging tot bloeding bestaat. Spontane bloedingen uit den neus, uit het tandvleesch en andere slijmvliezen zijn daarbij vaak gezien. Bij zwaardere en langdurige gevallen van icterus zijn bloed-

braken en darmbloedingen geen zeldzame verschijnselen, zonder dat er stuwung in het portaalgebied behoeft te bestaan.

Ook in de huid kunnen bloedinkjes optreden in de vorm van petechieën of grootere subcutane haemorrhagieën. Over het voorkomen van de haemorrhagische diathese bij den icterus en bij leverbeschadigingen, geeft Eppinger in zijn handboek over de algemeene en speciale pathologie van den icterus, een statistiekje. Bij 21 gevallen van afsluitingsicterus door carcinoom vertoonden er 3 een haemorrhagische diathese (14 %).

58 gevallen van catarrhalen icterus	0	haemorrh. diathese
21 gevallen van niet icterische levercirrhose	4 (19 %)	„
10 gevallen van sterk icterische levercirrhose	4 (40 %)	„
10 gevallen van acute gele leveratrophie	4 (40 %)	„

Het grootste gevaar van de cholaemische neiging tot bloeding, is wel de verbloeding van den icteruspatiënt na traumata en bij of na operatieve ingrepen. Er zijn gevallen bekend van personen met een leveratrophie, die na een trauma (val, aanrijding) stierven aan niet te stelpen bloeding uit betrekkelijk geringe wonden.

Butt, Snell en Osterberg (1939) vermelden, dat Wedelius reeds in 1683 in de *Miscellanea curiosa medico-physica Academiae Caesarea Leopoldino-Carolinae natural curiosum*. Lipsiae 1670—1705 : 2 : 318—319, 1863, een geval van fatale bloeding bij een icteruspatiënt beschreef.

Deze neiging tot bloeding was en is nog steeds voor den chirurg een bron van groote zorg. Talrijke publicaties over verbloeding tijdens of na operaties bij icteruspatiënten zijn sinds de eerste galblaasoperaties verschenen. In 1884 hebben Musser en Keen in de *Am. J. Med. Sc.* — 88/333, 2 ziektegeschiedenissen beschreven en een tabel gegeven van alle tevoren gepubliceerde gevallen over bloedingen bij icteruspatiënten.

A. Depage heeft in 1889 een statistiek gepubliceerd over operaties aan de galblaas — (cit. Judd, Snell en Osterberg. *JAMA* 113/383—'39). Ook Craig Smith en Robson hebben aangetoond, dat de haemorrhagie een voorname factor is

bij de doodsoorzaken na operaties van icteruspatiënten. Frank vertelt in zijn boek van een kiesextractie bij een icterischen patiënt, die ondanks alle pogingen om de bloeding te stelpen tenslotte toch doodbloedde.

Butt, Snell en Osterberg (1939) meenen, dat ongeveer 50 % van de mortaliteit bij operaties van icteruspatiënten moet worden toegeschreven aan verbloeding en deze bloedingen op zichzelf vormen een chirurgisch risico van ongeveer 5 %. De bloeding kan optreden tijdens de operatie of daarna; meestal in de eerste dagen na de ingreep, maar vaak ook later.

Butt beschrijft in 1938 zelfs een geval van nabloeding den 18en dag post operationem. Dat deze kans op post-operatieve nabloedingen niet gering is toont hij ook aan de hand van een tabel van 127 patiënten met icterus van verschillenden aard. Onder hen waren er 22 met een post-operatieve nabloeding.

Walters (1921) vond, dat van de 29 patiënten uit de Mayo Clinics, die wegens een afsluiting van de galwegen waren geopereerd, er 15 stierven aan intra-abdominale bloeding. Dit is dus meer dan 50 %.

Linton (1932) vond bij zijn onderzoekingen over het fibrino-geengehalte bij icterische bloedingen, dat van de 15 patiënten met een afsluitingsicterus er 7 = 46,7 % na de operatie begonnen te bloeden. Daarvan stierven er 3 = 20 % van de totale groep, aan verbloeding.

Volgens Linton zou Petrèn uitgerekend hebben, dat 10—15 % van de mortaliteit bij galblaasoperaties, te wijten is aan verbloeding. (Statistiek over 20 jaar).

Judd, Snell en Hoerner (1935) vonden, dat ondanks de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen, t.w. toediening van veel koolhydraten en vocht in de voeding en dextrose intraveneus vóór en na de operatie, de mortaliteit in de Rochester kliniek „slechts” 4,3 % was. Hoeveel hiervan aan verbloeding overleden, is helaas niet vermeld. (Statistiek over 207 patiënten in 1934).

Over het feit, dat deze bloedingen niet zelden fataal kunnen verlopen en niet door herhaalde bloedtransfusies te stillen zijn, weet iedere chirurg mee te praten. Een bloedtransfusie helpt alleen maar tijdelijk het gevaar keeren.

Aan bijna alle stollingsfactoren heeft men reeds de schuld ge-

geven, maar geen van de theorieën heeft tot nu toe stand kunnen houden.

Wat is nu de oorzaak van de haemorrhagische diathese bij den icterus en leverbeschadigingen?

Weliswaar is het reeds lang bekend, dat cholaemisch bloed vaak moeilijk stolt en dat icteruspatiënten vaak een verlengden stollings-tijd vertoonen, maar wat de oorzaak van deze vertraagde bloedstolling is, is geruimen tijd een mysterie gebleven. Daarbij komt nog, dat bij vele patiënten met een icterus en een haemorrhagische diathese, het bloed met de gewone methode bepaald, normaal stolt.

Een der eerste theorieën gaf de schuld aan de *galzuren* en *galkleurstoffen*. Ofschoon galzure zouten in vitro inderdaad een stollingsremmenden invloed op het bloed kunnen uitoefenen, hebben Morawitz en Bierich zoowel als Petrèn de invloed daarvan op het stroomend bloed kunnen weerleggen. Immers, de benodigde kleinste concentratie van 0,5—1 % voor de proef in een reageerbuis, zal in het stroomend bloed nooit worden bereikt. De hoogste waarde, die men in het bloed bij verschillende leveraandoeningen en gevallen van afsluitingsicterus aan galzuren heeft kunnen vinden, is 0,1 %. Voor de gevallen van subicterus met verlengden stollingstijd (met lichte bilirubinaemie en geen bilirubinurie) kunnen wij moeilijk de verklaring zoeken in een mogelijken invloed van galkleurstoffen en galzuren op de bloedstolling.

Wildegans heeft in 1926 dit vraagstuk nogmaals bestudeerd. Bij intraveneuze injectie van gal, of wanneer bij honden de ductus choledochus in de vena cava inferior wordt geplant, vond hij nooit stollingsanomalieën. Bij een afsluitingsicterus bereiken het bilirubinegehalte en de hoeveelheid galzure zouten in het bloed een bepaald maximum, blijven een bepaalde tijd op een gelijke hoogte staan en dalen bij langer bestaan van de afsluiting tot lager dan de beginwaarde. Met het dalen van het bilirubinegehalte gaat echter de haemorrhagische diathese niet terug, maar neemt ze integendeel vaak toe. Ook Wildegans was van meening, dat de hoeveelheden galzuren die noodig zijn om in vitro de bloedstolling te vertragen, nooit in het stroomend bloed zal worden bereikt.

Later heeft men de verklaring trachten te vinden in een *fibrinogeen*-tekort in het bloed van icteruspatiënten en patiënten

met leverbeschadigingen. Experimenteel is het gelukt om proefdieren zware leverbeschadigingen te bezorgen door middel van b.v. chloroform of fosfor en zodoende een laag fibrinogeengehalte in het bloed te verkrijgen. Bij dit lage fibrinogeengehalte is het stolsel, dat tenslotte gevormd wordt, week en slap. Bij totale afwezigheid van fibrinogeen stolt het bloed in het geheel niet. De resultaten van deze dierexperimenten kunnen natuurlijk niet zonder meer gebezigd worden voor een inzicht in de menselijke leverpathologie. Reeds *Morawitz* en *Bierich* wezen er op, dat bij de zwaarste hepatogene stollingsremming de uiteindelijk toch gevormde bloedkoek massief en vast kan zijn en zij toonden ook aan, dat door toevoeging van weefselextracten (thrombokinase) aan het langzaam stollend bloed, dit binnen korten tijd coaguleert (cit. *Frank*).

Schulz toonde in 1921 aan, dat bij acute leveratrofie met vertraagde bloedstolling het niet mogelijk is, om een fibrinogeen tekort als oorzaak daarvoor aan te toonen.

Banford Jones en *Smith* hebben in 1930 gevonden, dat er na hepatectomie bij honden een vermindering van het fibrinogeen in het bloed optrad van ongeveer 20 % na verloop van 12—15 uren. Deze daling geschiedde langzaam.

Linton onderzocht in 1932 het fibrinogeengehalte bij den icterus en vond bij 15 patiënten met een afsluiting van de galgang normale fibrinogeenwaarden in totaal bloed en plasma. Bij 6 patiënten, die post-operatief een bloeding kregen, was het fibrinogeengehalte, zelfs tijdens de bloeding, normaal.

Hawkins en *Brinkhous* (1936) hebben bij honden met een galfistel o.a. ook het fibrinogeengehalte nagegaan. Bij geen van de honden was een duidelijke vermindering aan te toonen, ofschoon de stollingstijd van het bloed zeer verlengd was en bij de dieren haemorrhagieën optraden.

Ook de bloedingen na zware leverbeschadigingen kunnen niet altijd verklaard worden door een fibrinogeen tekort.

Smith, *Warner* en *Brinkhous* (1937) vonden na chloroformintoxicatie bij honden alleen dan een fibrinogeenvermindering, indien de lever zwaar was beschadigd. Bij lichtere vergiftingen kunnen toch ook bloedingen optreden zonder dat het fibrinogeengehalte vermindert.

Ook *Warner* kwam in 1938 tot dezelfde conclusie. Hij ver-

richtte bij ratten een partieele hepatectomie. Een deel van de dieren overleed aan inwendige verbloeding. De bloedstolling was echter bij alle ratten zeer traag, maar het fibrinogeengehalte, ook van de dieren die stierven aan bloedverlies, was normaal.

In 1939 toonden Warren en Rhoads aan, dat na totale hepatectomie bij honden er wel een vermindering van het fibrinogeen ontstond, maar dat die zeker niet voldoende was om er in alle gevallen de vertraagde bloedstolling bij de dieren mee te kunnen verklaren. Om een indruk te krijgen van de vermindering van het fibrinogeen na totale hepatectomie volgen hier de cijfers die zij bij de honden vonden:

Hond No.	Fibrinogeengehalte in gr. 100 cc plasma voor de operatie.	Fibrinogeengehalte vlak voor den dood.	Vermindering.
1	0,508	0,407	20 %
2	1,019	0,400	61,2 "
3	0,297	0,229	22,9 "
4	0,805	0,779	3,3 "
5	0,511	0,226	55,8 "

Zoo zien wij dus, dat een zware leverparenchymbeschadiging zeker een flinke vermindering van het fibrinogeengehalte kan veroorzaken, maar dit is niet vaak het geval. Bij lichtere aandoeningen, zelfs met bloedingen, is het fibrinogeen in den regel niet verminderd.

Ook in de menselijke leverpathologie zijn gevallen bekend van zware parenchymbeschadigingen met flinke verlaging of een geheel ontbreken van het fibrinogeen in het plasma. (Publicaties van Doyon, Whipple en Hurwitz (1911) en Foster en Whipple e.a. (1922)). Maar nog veel meer komt het voor, dat bij leverziekten met vertraagde bloedstolling het fibrinogeengehalte normaal blijft.

Misschien moeten wij een onderscheid maken tusschen ziekten met zware leverbeschadigingen (met of zonder icterus) en gevallen van icterus zonder leverbeschadiging, in het bijzonder de afsluitingsicterus. In het eerste geval zouden wij nog wel eens de schuld kunnen geven aan een fibrinogeen tekort (z.g. pseudohaemophilia

hepatica met fibrinopenie (Wöhlisch)). In het tweede geval moet er iets anders zijn om de vertraagde stolling te kunnen verklaren. Vooral over dit laatste geval is de literatuur lang niet eensluidend.

Een andere veronderstelling werpt de schuld op een teveel aan *antistollingsstoffen*.

Nolf meende, dat ook gezonde levercellen op bepaalde prikkels b.v. intraveneuze peptoninjectie, „physiologische“ antithrombine kunnen secernereren (cit. Frank).

Frank zelf verschuift het zwaartepunt van het vraagstuk naar de thrombocyten en den thrombus. Volgens hem zou het niet liggen aan een verminderd aantal thrombocyten, want zoowel bij de acute leveratrophie als bij een langdurigen stuwingsicterus heeft men nooit een belangrijke thrombopenie kunnen vinden, maar aan een verminderd adhaesie- en agglutinatievermogen der thrombocyten. Hierdoor zou de vorming van een thrombus uitblijven.

Meer dan alle voorafgaande theorieën heeft het *calcium* bij de onderzoekers de aandacht getrokken. Het calcium speelt immers een belangrijke rol bij de bloedstolling. Dit element komt in het bloed in 2 vormen voor, n.l. het diffundeerbare actieve calcium-ion Ca-fosfaat en -carbonaat en het niet diffundeerbare inactieve, organisch aan proteïne gebonden calcium.

Algemeen wordt aangenomen dat het geioniseerde calcium directen invloed heeft op de bloedstolling, ofschoon er ook onderzoekers zijn geweest, die juist het organisch gebonden calcium direct noodzakelijk vinden voor de vorming van het thrombine. Het is o.a. Quick (1935) die deze veronderstelling oppert naar aanleiding van de gegevens van Scott en Chamberlain (1933—'34). Deze laatsten meenden n.l. aangetoond te hebben, dat quantitative verwijdering van het geioniseerde calcium uit het bloed geen invloed heeft op de bloedstolling.

Ook Steward en Percival (1928) hebben uit hun onderzoekingen geconcludeerd, dat een bepaalde calciumverbinding, die niet filtreerbaar is door een collodionmembraan, essentieel is voor de bloedstolling. De calcium-ionen zijn daarentegen niet noodzakelijk. Deze calcium-ionen zouden volgens Ferguson (1934) slechts noodig zijn voor de lysis van de thrombocyten.

Op deze strijdvraag wil ik niet verder ingaan.

Hoe dan ook, er is een tijd geweest dat men algemeen een calciumtekort in cholaemisch bloed aannam.

Judd, Snell en Hoerner (1935) meenen, dat Wrigt de eerste was die in 1891 het gebruik van calcium bij de haemophilie en inwendige bloedingen voorstelde en dat Mayo Robson in 1894 reeds calcium gebruikte tegen bloedingen bij den afsluitingsicterus.

Maar vooral door toedoen van Lee en Vincent, King en Stewart, Grove en Vines, heeft men langen tijd de calciumprophylaxe en de calciumtherapie bij de icterische bloedingen toegepast.

De belangstelling voor het calciumvraagstuk bij den icterus is zeer groot geweest.

Boggs (1904) meende aangetoond te hebben, dat er een verkorting van den stollingstijd optrad bij konijnen, wanneer hij de dieren intraveneus of per os calcium toediende.

Lee en Vincent (1915) namen in vitro proeven met icterisch bloed en vonden, dat, wanneer zij calciumchloride eraan toevoegden, de stollingstijd werd verkort. Zij meenden dan ook, dat de stollingsanomalie bij den icterus veroorzaakt werd door een calciumtekort en waren sterke voorstanders voor een prophylactische behandeling van den icteruspatiënt met intraveneuze calciumtoedieningen, voordat hij werd geopereerd.

Waltman Walters zocht in 1921 naar criteria voor de prognose van operatieve ingrepen bij icteruspatiënten. Daarbij kwam hij ook tot de conclusie, dat door intraveneuze toediening van dagelijks 5 cc 10 % CaCl₂ 3 dagen achtereenvolgend, de stollingstijd van den icteruspatiënt werd gereduceerd. Hierdoor zouden de gevaren van de operatie belangrijk worden verminderd. Uit deze proeven meende men dus te kunnen concluderen, dat een quantitief of kwalitatief calciumtekort de oorzaak voor de stollingsanomalie en voor de zoo vaak optredende bloedingen bij den icterus kan zijn. Maar jammer genoeg heeft men deze conclusie getrokken uit indirecte gegevens. Toediening van calcium aan een icteruspatiënt doet den stollingstijd korter worden, dus zei men: er bestaat een tekort aan calcium in het bloed. Deze redeneering is natuurlijk niet juist, want Schmerz en Wischo (1918) hebben bij normale proefpersonen calciumlactaat intraveneus ingespoten en

vonden ook, dat de stollingstijd daardoor verkort werd. Bewijzend voor het bestaan van een calciumvermindering bij den icterus waren de voorafgaande proeven dus zeker niet. Men heeft dit calciumtekort ook trachten aan te toonen door quantitative analyses.

King en Stewart in 1909 en iets later King, Bigelow en Pearce vermeldden een quantitative vermindering van het bloedcalcium bij den icterus. Het calcium zou zich volgens deze onderzoekers binden aan de galkleurstoffen om ze te ontgiften. Zoo dit niet tot een vermindering van het bloedcalcium aanleiding geeft, zou het gebonden calcium toch minder werkzaam worden, vermoedelijk doordat het moeilijker diffundeerbaar en ioniseerbaar wordt door de galkleurstoffen. Deze theorie is echter nooit voldoende bewezen.

In 1927 hebben Cantarow, Dodek en Gordon het calciumvraagstuk bij den icterus nogmaals nagegaan, in het bijzonder het effect van parathyreoïdextract op de distributie van kalk. Zij kwamen tot de conclusie, dat er bij den icterus een functioneele deficientie van het bloedcalcium bestaat tengevolge van de galkleurstoffen in het bloed en in de weefsels. Door toediening van parathyreoïdextract steeg het calciumgehalte; de invloed op de bloedstolling werd echter niet onderzocht.

Wanneer wij de cijfers nagaan, die zij bij normale contrôlepersonen en icteruspatiënten vonden, dan valt het op, dat er van een overtuigend verschil in calciumwaarden geen sprake is. Bij 6 contrôlepersonen vonden zij in totaal bloed hoeveelheden, die varieerden tusschen 7,64—9,61 mg. per 100 cc en in het serum 10,9—10,5 mg. Bij 14 patiënten met icterus van verschillenden aard waren de waarden respectievelijk voor totaal bloed en serum: 4,8—10,96 mg. en 8,3—10,5 mg. per 100 cc. Drie van de 14 patiënten hadden een calciumgehalte in het totale bloed van 4,8; 4,9; 4,9 mg. Dus behalve deze 3 gevallen, vertoonden de icteruspatiënten en normale contrôlepersonen geen duidelijk verschil. Hierbij moet echter vermeld worden, dat geen van de patiënten een verlengden stollingstijd had.

In hetzelfde jaar vonden Buchbinder en Kern bij een aantal jonge honden, die zij icterisch hadden gemaakt door afbinding van de ductus choledochus, dat er een progressieve daling van het bloedcalcium optrad, gepaard gaande met een osteoporose.

Na 20 dagen was er nog geen duidelijke vermindering te bespeuren, terwijl zij na 30 dagen slechts een kleine daling van het calciumgehalte konden waarnemen.

Door al deze publicaties maakte de calciumtherapie bij de icterische haemorrhagieën en de prae-operatieve kalkbehandeling van patiënten met een afsluitingsicterus, langen tijd veel opgang. Het succes was echter zeer matig en wisselend.

Linton (1932) is in zijn kliniek te Massachusetts bij de beoordeeling van de calciumtherapie van de icterusbloedingen tot de conclusie gekomen, dat deze niet altijd effectief was.

In tegenstelling met de bevindingen en conclusies van voornoemde onderzoekers, zijn er ook talrijke anderen geweest, die de goede resultaten niet konden bevestigen.

In 1924 meenden Stuber en Focke het bewijs geleverd te hebben dat het calcium bij de bloedstolling volkomen ontbeerd kan worden, daar geheel calciumvrij gemaakt plasma ook stollen kan. De beoordeeling van de waarde van dit onderzoek laat ik gaarne aan meerbevoegden over. (Untersuchungen zur Lehre von der Blutgerinnung. Mitteilung über die Entbehrlichkeit des Kalkes für den Gerinnungsprozess. Bioch. Zeitschr. — 154 S. 77 1924).

Volgens Stuber en Sano (1924) zou het calcium, evenals alle tweewaardige Kat-ionen, sensibiliseerend werken voor de uitvlokking van de eiwitlichamen. Kalkvrij gemaakt bloed wordt b.v. door strontiumtoevoeging aan het stollen gebracht. De onstolbaarheid van oxalaat- en citraatbloed zou niet berusten op een elimineering van het calcium, maar op de vorming van maximaal geioniseerde en daardoor niet stolbare fibrinogeencomplexzouten. Zij beschouwen het stollingsproces dus als een zuiver colloïd-chemisch gebeuren.

Halverson, Mohler, Bergheim (1917) en Snell, Green, Rowntree (1927) twijfelen ten eerste aan een calciumdeficientie als verklaring voor de bloedingen bij den icterus.

In 1930 hebben Ravdin, Riegel en Morrison den invloed van geioniseerd calcium nagegaan op de bloedstolling. Inspuiting bij honden gaf geen verschil in bloedstolling, terwijl glucose haar wel versnelde mits de lever niet te zwaar was beschadigd.

Linton kon in 1931 ook geen calciumvermindering bij 9 patiënten met een afsluitingsicterus vinden. Integendeel, na intraveneuze inspuiting met CaCl_2 zag hij een vertraagde bloedstolling. 23 Pa-

tiënten werden voor de operatie met calcium behandeld. Hiervan kregen er 15 na de operatie een bloeding (65 %), 9 zijn daaraan overleden. Van 17 niet voorbehandelde patiënten kregen er 4 een post-operatieve bloeding (23 %), hiervan overleden er 3, echter niet aan verbloeding. Bij alle 40 patiënten werd dezelfde operatiemethode gebruikt en was de duur van den icterus gelijk.

Ook de bevindingen van Lee en Vincent in 1915 kon hij niet bevestigen, n.l. wanneer hij in vitro enkele druppels 1 % CaCl_2 aan icterisch bloed voegde, kon hij geen verkorting van den stollingstijd vaststellen.

Gunther en Greenberg hebben het diffundeerbare en het niet diffundeerbare calcium quantitatief en geheel onafhankelijk van elkaar bestudeerd. Nauwkeurige bepalingen in het bloed van icteruspatiënten met en zonder bloedingen toonden aan, dat er geen vermindering van het diffundeerbare calcium aanwezig was. Het organisch gebonden calcium kan echter wel verlaagd zijn, omdat het serumalbumine bij den icterus ook verminderd kan zijn. Zij toonden ook aan, dat de totale hoeveelheid calcium dus verminderd kan zijn, terwijl het gehalte aan diffundeerbaar calcium toch normaal blijft. Gunther en Greenberg besloten dan ook, dat *"Factors other than the amount of available calcium as measured by the concentration of the diffusible calcium must be sought to explain the abnormal bleeding phenoma in jaundiced patients"*.

Wij zien dus, dat de literatuur over de beteekenis van het calcium bij den icterus nog lang niet eensluidend is. De vraag, of het calciumgehalte bij den icterus verlaagd is of niet, is nog niet geheel beantwoord. De meeste onderzoekers gebruikten dezelfde methode voor calciumbepaling, n.l. die van Kramer en Tisdall of met een kleine variatie, die van Klark en Collip. Ofschoon wij dus wel moeten aannemen, dat er bij den icterus een calciumvermindering kan optreden, is het nog zeer de vraag of deze, toch meestal niet zoo uitgesproken vermindering, van eenigen invloed kan zijn op de bloedstolling. In ieder geval heeft de calciumtherapie bij de icterusbloedingen weinig succes opgeleverd. Zoowel de directe calciumtoediening als de indirecte methode, door het calcium in het lichaam te mobiliseeren (parathyreoïdextract, Viosterol), hebben zeer veel aan waarde verloren.

Persoonlijk zijn wij het eens met Ivy, Shapiro en Mel-

nick, die over het calciumvraagstuk gezegd hebben: "*the general weight of experimental evidence seems to uphold the view that, although a functional deficiency of calcium exists, it has no relation to the bleeding tendency*". Vele onderzoekers twijfelen er zelfs aan of er wel een functioneele deficiëntie van het calcium bestaat.

Nadat ook de calciumtheorie onhoudbaar is gebleken, heeft men de nog niet systematisch onderzochte factor van de bloedstolling, n.l. het *prothrombine* of *thrombogeën*, nagegaan. Een van de eersten die daartoe den stoot heeft gegeven, was Quick, die in 1935 het „coagulatiedefect" bij de haemophilie en verschillende typen icterus bestudeerde. Hij ontwierp een methode, om indirect het prothrombinegehalte in het bloed te bepalen.

In het kort was de gedachtengang als volgt:

Prothrombine + calcium + thrombokinasen = Thrombine.

Thrombine + fibrinogeen = Fibrine.

Wanneer het calcium en het thrombokinasen constant worden gehouden, zal de hoeveelheid thrombine afhankelijk zijn van de concentratie aan prothrombine. De snelheid waarmee de stolling optreedt, wordt op haar beurt bepaald door de concentratie aan thrombine. Behalve dat de hoeveelheid fibrinogeen bij den icterus, met of zonder leverbeschadiging, practisch niet verminderd is, speelt het fibrinogeen bij de snelheid van het stollingsproces geen rol. Wanneer dus plasma na toevoeging van een constante hoeveelheid calcium en thrombokinasen pas na langeren tijd stolt dan normaal plasma, kan dit alleen zijn oorzaak hebben in een verminderde hoeveelheid prothrombine (zie later).

Quick vond, in tegenstelling met de toen gangbare meening, dat het prothrombinegehalte bij de haemophilie normaal was. Voor den icterus schreef hij in de samenvatting van zijn publicatie: "*In the plasma of various types of jaundice a delayed clotting rate in the presence of excess thromboplastin was obtained, suggesting that the hemorrhagic tendency in jaundice is caused by a diminution of prothrombin*".

Zijn onderzoekingen waren echter nog niet volledig en bewijzend genoeg. Na hem hebben talrijke andere onderzoekers het vraagstuk van de icterische bloedingen en de haemorrhagieën na zware leverbeschadigingen van deze nieuwe zijde bekeken. De eersten, die zich met de nieuwe theorie bezig hielden, waren Hawkins en

Whipple (1935), die bij honden een galfistel aanlegden. Deze dieren kregen bloedingen uit huid en slijmvliezen, die door toediening van gal weer tot verdwijnen konden worden gebracht. Bij al deze honden bleek de stollingstijd te zijn verlengd.

Hawkins en Brinkhous toonden het volgend jaar aan, dat de bloedingen bij deze dieren vermoedelijk te wijten waren aan een vermindering van het prothrombinegehalte in het bloed. Toediening van gal in den darm deed het prothrombinegehalte stijgen en tevens de bloedingen verdwijnen.

Greaves en Schmidt hebben in 1937 dezelfde proeven op ratten gedaan. De diertjes werden icterisch gemaakt door afbinding van de ductus choledochus, met als gevolg, dat ze na eenigen tijd bloedingen in de huid en slijmvliezen vertoonden. Met de methode van Quick vonden ook zij, dat het prothrombinegehalte van het bloed was verlaagd. Toediening van gal deed het prothrombinegehalte stijgen en de bloedingen verdwenen binnen 2 tot 4 dagen. Een histologisch onderzoek van de levers toonde geen beschadiging van het weefsel aan.

Deze proeven pleiten ontegenzeggelijk voor de door Quick gemaakte veronderstelling, dat de haemorrhagische diathese, althans de vertraagde bloedstolling bij den icterus, te wijten is aan te laag prothrombinegehalte in het bloed.

De bevestiging van deze veronderstelling werd eigenlijk pas geleverd toen in 1936 door Warner, Brinkhous en Smith een methode werd aangegeven waarmee het mogelijk was, om het prothrombinegehalte in het bloed quantitatief en specifiek te bepalen (zie later). Deze onderzoekers vonden, dat bij patiënten met een afsluitingsicterus of met een galfistel inderdaad een vermindering van het prothrombine was aan te toonen. De meeste van de onderzochte personen vertoonden geen bloedingen en bij deze patiënten was het prothrombinegehalte ook grooter dan 50 %. Indien de concentratie minder werd dan 35 %, ontstonden er tandvleschbloedingen, bloedingen aan operatiewonden of nabloedingen eenigen tijd na den ingreep. Werd er op de een of andere manier gal in den darm gebracht, dan verdwenen de haemorrhagieën en steeg het prothrombinegehalte. Een treffend voorbeeld was een patiënt met een galblaasfistel, die 4 maanden bestond. Er ontstond plotseling een bloeding uit een incisiewond. Het prothrombine-

gehalte was 27 %. Nadat aan den patiënt gal, die uit de fistel kwam, per os werd toegediend, stopte de bloeding spontaan bij een prothrombinegehalte van grooter dan 30 %. Na 7 weken had de man een prothrombineconcentratie van 89 %.

Tegenwoordig is men het er algemeen over eens, dat de vertraagde bloedstolling, die bij den icterus en bij leverbeschadigingen zoo vaak kan optreden, in hoofdzaak wordt veroorzaakt door een tekort aan prothrombine. Het optreden van spontane bloedingen en nabloedingen gaat steeds gepaard met een sterke vermindering van deze stollingsfactor. Ofschoon wij een nabloeding of het steeds door blijven bloeden van een wond hiermede kunnen verklaren, blijft natuurlijk nog steeds de vraag, waarom iemand met een icterus plotseling spontaan uit de slijmvliezen kan beginnen te bloeden, zonder dat er schijnbaar ook maar een licht trauma in het spel is. Al stolt het bloed moeilijk of in het geheel niet, dan behoeft een gesloten vat toch niet daardoor te gaan bloeden. Misschien zijn hier ook een verminderde vaatwandweerstand en een vermeerderde doorlaatbaarheid van het epitheel in het spel.

De proeven hebben verder positief aangetoond, dat gal in den darm noodzakelijk is om deze neiging tot bloeden te voorkomen. Vermoedelijk ontstaat er bij afwezigheid daarvan een resorptiestoornis van een bepaalde factor, die noodig is bij de vorming van het prothrombine.

De volgende vragen waren nu:

1. Hoe en waar gebeurt de vorming van het prothrombine?
2. Wat is nu deze essentieele factor? Wordt hij door de gal zelf geproduceerd, of speelt de gal alleen een rol bij de resorptie van deze factor?

De chemische aard van het prothrombine is vrijwel onbekend. Het is een in water oplosbare stof, welke bij vele praecipitatie-methoden de globulinefractie volgt (vermoedelijk een pseudoglobuline (Cekeda 1926)). In het stroomend bloed wordt het inactief gehouden door het heparine (Howell). Door inwerking van het thrombokinase (cephaline) wordt het heparine geneutraliseerd, waardoor het prothrombine actief kan worden.

Morawitz, Bayne-Jones, Fuchs en Howell meen-

den, dat het prothrombine ook in de thrombocyten zou worden gevormd. Reeds in 1905 en 1908 hebben Nolf en in 1914 Gratia (cit. Dam, Schönheyder en Tage Hansen) verondersteld, dat het prothrombine in de lever zou worden gevormd. Pas in de laatste jaren heeft men deze veronderstelling kunnen bevestigen. Nu heeft men een beter inzicht kunnen krijgen over de vorming van het prothrombine en het orgaan waar dit geschiedt. Wij weten nu, dat bij zware leverbeschadigingen een haemorrhagische diathese kan optreden en dat deze voor een deel gepaard gaat met een vermindering van het fibrinogeen. Dat de lever de voornaamste, zoo niet de eenige bron is voor den aanmaak van het fibrinogeen, wordt tegenwoordig algemeen aangenomen. Maar aan den anderen kant is het fibrinogeen bij leverbeschadigingen met bloedingen vaak niet of nauwelijks verminderd, terwijl de stollingstijd van het bloed daarbij enorm verlengd kan zijn. Door uitgebreide onderzoekingen is het nu wel vast komen te staan, dat dan altijd een duidelijk tekort aan prothrombine kan worden aangetoond.

Smith, Warner en Brinkhous hebben in 1937 bij honden door middel van chloroform lichte en zware leverbeschadigingen veroorzaakt en hebben bij de dieren het gedrag van het fibrinogeen en prothrombine in het bloed nagegaan. Bij zware leverintoxicaties waren fibrinogeen en prothrombine duidelijk verminderd, waarbij de daling van het laatste veel eerder en sneller optrad dan die van het fibrinogeen. Het lukte de drie onderzoekers om, door de chloroformdoses te varieeren, de vermindering van de 2 stollingsfactoren te scheiden. Daarbij bleek, dat bij lichtere intoxicaties het prothrombinegehalte kon dalen tot 14 %, terwijl het fibrinogeengehalte niet kleiner werd dan 70 %. Bij nog lichtere beschadigingen vonden zij steeds normale fibrinogeenwaarden, terwijl het prothrombine tot 10 % kan dalen. Met het verdwijnen van de intoxicatie herstelde zich ook de hoeveelheid prothrombine in het bloed. Deze proeven wezen er dus op, dat de lever bij de honden in nauw verband stond met het prothrombine.

Ook Quick (1938) heeft dergelijke proeven met honden genomen en is tot dezelfde resultaten gekomen. Behalve chloroform, veroorzaken ook andere specifieke leververgiften, zooals tetrachloor-

koolstof en fosfor een prothrombine- en bij zware vergiftigingen ook een fibrinogeen tekort in het bloed.

Klinisch blijken vele diffuse, parenchymateuze leveraandoeningen, zoals cirrhoses, primaire levercarcinomen, chronische infectieuze hepatitisen met of zonder icterus, heel dikwijls gepaard te gaan met een verminderd prothrombinegehalte in het bloed.

Ofschoon algemeen wordt aangenomen, dat chloroform en fosfor specifiek en uitsluitend inwerken op de lever, zijn er toch onderzoekers geweest, die tegen deze methode van leveronderzoek opkwamen.

Williamson en Mann (1923) vonden het gebruik van leververgiften bij de bestudeering van de leverfuncties een onnatuurlijke wijze van handelen. Zij meenden uit hun experimenten te moeten besluiten, dat door chloroform en fosfor niet alleen de lever, maar ook alle andere lichaamsweefsels worden aangetast.

Afgezien van de vraag, of de interpretatie van hun vondsten wel juist is, hebben ook zij geen zichtbare beschadigingen aan andere organen, behalve aan de lever, kunnen aantoonen. Maar hoe dan ook, men zou zich kunnen indenken, dat chloroform en fosfor ook andere weefsels toch op een chemisch, klinisch en morphologisch onzichtbare manier kunnen beschadigen. Velen vinden het dan ook beter om de lever gedeeltelijk of geheel weg te nemen, inplaats van een vergif te gebruiken, zoodat hierbij de factor, intoxicatie van het orgaan en mogelijk ook van andere organen door een „onnatuurlijk” agens, uitvalt.

Dam, Glavind, Lewis en Tage Hansen vonden reeds eerder, dat er een vertraging van de bloedstolling bij ganzen optrad, wanneer zij bij de dieren de lever uit de circulatie namen (cit. Warren en Rhoads).

Warner (1938) vermeldt een duidelijke prothrombinevermindering na partieele hepatectomie bij ratten, waarbij 60 % tot 70 % van de lever werd weggenomen. Binnen 24 uur zakt het prothrombinegehalte tot 30—40 %. De hoeveelheid prothrombine wordt weer normaal na 10 dagen tot 3 weken, dus in denzelfden tijd, die noodig is om de lever weer tot haar normaal gewicht te doen komen. Zij concludeeren dan ook, dat de lever een belangrijke rol speelt bij de vorming van het prothrombine.

Warren en Rhoads (1939) onderzochten het prothrombine-

gehalte bij honden na een totale hepatectomie. Alle honden, behalve één, die slechts 2 uren leefde en vóór de postoperatieve prothrombinebepaling een bloedtransfusie kreeg, vertoonden een duidelijke daling van deze stollingsfactor. Ook het fibrinogeen-gehalte bleek zeer afgenomen te zijn, maar toch niet zoo uitgesproken en niet zoo snel als de vermindering van het prothrombine. Zij gebruikten voor het onderzoek de methode volgens *Quick*, echter met toevoeging van fibrinogeen, om de fout, ontstaan door het tekort aan deze stof, te corrigeren. Vergelijkende bepalingen met de oorspronkelijke en de gewijzigde methode toonden aan, dat door toevoeging van fibrinogeen de prothrombinestollingstijd weinig veranderde, dus beide curven gelijken veel op elkaar. Deze vergelijking is in zooverre van belang, dat het ongetwijfeld pleit voor de veronderstelling, dat uitsluitend het prothrombine de snelheid van de bloedstolling bepaalt en dat de methode van *Quick* voor de prothrombinebepaling in het bloed specifiek genoeg is.

Bovengenoemde schrijvers gingen ook na, of de aethernarcose zelf misschien van invloed kon zijn op de prothrombinevermindering. Dit bleek echter niet het geval te zijn. Ook de operatie en de bloeding die daarbij optreedt, oefenen op geenerlei wijze invloed op het prothrombine uit.

Warren en *Rhoads* concludeerden dan ook, dat de lever essentieel is voor de vorming van het prothrombine.

Tegenwoordig wordt algemeen aangenomen, dat de vorming van het prothrombine in de lever plaats heeft, althans dat een normaal-functioneërend leverweefsel noodig is voor den aanmaak van deze stollingsfactor.

Voordat wij ons bezighouden met de beantwoording van de tweede vraag, lijkt het mij wel gewenscht, om eerst even in te gaan op het vraagstuk van het coagulatiedefect bij de haemophilie, daar oogenschijnlijk het mechanisme van de vertraagde bloedstolling bij de bloederziekte en bij den haemorrhagischen icterus gelijk is.

Het coagulatiedefect bij de haemophilie.

Over het wezen van de haemophilie zijn wij sinds 1784 (*Fordyce*) eigenlijk niet veel verder gekomen. De tallooze onderzoeken en veronderstellingen hebben slechts geleid tot

enorme hoeveelheden literatuur op theoretisch en therapeutisch gebied.

Het is algemeen bekend, dat er bij de bloederziekte, althans in de acute phase, een belangrijk verlengde stollingstijd voorkomt. Patiënten bloeden niet alleen sterk en vaak niet te stelpen bij verwondingen, maar heel dikwijls ook spontaan of schijnbaar spontaan uit het slijmvlies van mond, neus, blaas, nieren, in de spieren, in het onderhuidsche bindweefsel, in de gewrichten, enz. Dikwijls vindt men echter ook een nauwelijks verlengden en zelfs normalen stollingstijd in de acute phase, die vroeger dan ook begrijpelijkerwijze eenige verwarring heeft doen ontstaan in de inzichten over de haemophilie. Want ook in deze gevallen hadden de patiënten kort tevoren toch een flinke bloeding gehad of vertoonden zij nog steeds onderhuidsche haemorrhagieën. Dit is echter sinds de nauwkeurige onderzoekingen van Sahl (1905—1910) eenigszins verklaard. Volgens hem kan bij vele haemophiliepatiënten de stollingstijd, bij langer voortduren van een bloeding, normaal worden of zelfs lagere waarden vertoonen (cit. leerboek, A. Schittenhelm. — Hoofdst. Haemophilie.)

Voor de verklaring van de vertraagde bloedstolling bij deze ziekte is geen van de bekende stollingsfactoren in den loop der tijden niet als oorzaak aangewezen. Alle onderzoekers zijn wel van meening, dat het *fibrinogeen* kwalitatief en kwantitatief niet gewijzigd is. (Feissly 1925, Wöhlisch 1921—1924, Howell 1914, e.a.)

Wanneer er thrombine aan het bloed van een haemophiliepatiënt wordt toegevoegd, stolt het bloed in normalen tijd. Het fibrine-gehalte in gestold haemophiliebloed is even groot als dat in normaal bloed.

Het *calciumgehalte* is steeds normaal gevonden. Howell en Cekeda hebben dit in 1926 nogmaals nagegaan en vonden, dat het calcium kwantitatief en kwalitatief onveranderd is gebleven. Toevoeging van calcium, in welken vorm ook, aan haemophiliebloed verandert practisch niets aan den stollingstijd ervan.

Geruimen tijd heeft men ook verondersteld, dat de oorzaak zou zijn een teveel aan antistollingsstoffen. Later heeft men gedacht aan een tekort aan thrombokinase en zelfs aan een prothrombine-deficientie of een kwalitatieve verandering ervan.

Volgens de opgaven van Howell en Cekeda (1926) en Fuchs en Falkenhausen (1928) zou Weil in 1905 de eerste zijn geweest, die aan het bestaan van een teveel aan stollingsstoffen bij de haemophilie heeft gedacht. Hij kwam tot deze meening, omdat vaak het serum van haemophiliebloed de stolling van normaal bloed kan vertragen. Andere onderzoekers hebben dit evenwel niet kunnen bevestigen. Minot en Lee (1909), Nolf en Hervy (1910) vonden noch het antiprothrombine, noch het antithrombine bij de bloederziekte veranderd. Ook Howell (1914) vond een normaal gehalte aan antiprothrombine.

Sahli, Morawitz en Lossen meenden, dat er een tekort was aan thrombokinase (cit. Howell en Cekeda, Fuchs en Falkenhausen), maar ook deze veronderstelling werd door velen onwaarschijnlijk gemaakt. (Gressot (1912), Minot en Lee enz.).

Ook heeft men trachten aan te toonen, dat de verlengde bloedstolling te wijten is aan een verminderde concentratie of aan een veranderde samenstelling van het *prothrombine*. Howell (1914) en Klinger (1918) hebben geruimen tijd deze theorie gepropageerd. In 1926 heeft Howell echter zelf deze opvatting tegengesproken. Hij vond, dat het *prothrombine* noch quantitatief, noch kwalitatief was veranderd. Ook Fuchs en Hartmann (1928) en Falkenhausen (1930) waren het eens met de laatste opvatting van Howell. In de laatste jaren hebben o.a. Quick (1935), Dam en Glavind, e.a. een *prothrombinetekort* bij de haemophilie met stelligheid kunnen uitsluiten. Howell meende wel, dat de thrombocyten bij de haemophilie resistenter zijn dan in normaal bloed en dat deze de oorzaak zijn van de vertraagde bloedstolling. Ook deze theorie werd echter al heel gauw bestreden. In 1927 hebben Frank en Hartmann verklaard, dat de thrombocyten bij de haemophilie in geen enkel opzicht met die van normaal bloed verschillen. Wel waren zij het eens met Feissly, die in 1925 gevonden heeft, dat de omvorming van het *prothrombine* bij de haemophilie zeer vertraagd zou zijn door de aanwezigheid van een overmaat van een „Stabilisator” (antiprothrombine).

Normaal gebeurt de omvorming van het *prothrombine* in het thrombine in ongeveer 30 minuten. Bij de haemophilie zou het 3—7 uren duren.

Hoe dan ook, het geheim van de stollingsanomalie bij de haemophilie is nog lang niet opgelost. In ieder geval is positief vastgesteld, dat er geen quantitative deficientie aan prothrombine bestaat.

Met onze tegenwoordige kennis over de werking van het vitamine K (specifieke werking voornamelijk op de prothrombinevorming) kunnen wij reeds van tevoren zeggen, dat een vitamine K therapie bij de haemophilie niets zal uitrichten. D a m, S c h ö n h e y d e r e n L e w i s (1937) hebben er wel op gewezen, dat er misschien een verband zou kunnen bestaan tusschen deze ziekte en het vitamine K, maar verschillende pogingen om met deze nieuwe antihæmorrhagische factor de haemophilie te beïnvloeden, hebben tot nu toe nog steeds gefaald.

HOOFDSTUK II.

HET VITAMINE K.

Kort historisch overzicht.

Bij de onderzoeken over de Cholesterinestofwisseling in kuikens en hoendereieren (1929—1930) merkte H e n d r i k D a m op, dat de diertjes vaak uitgebreide uit- en inwendige bloedingen vertoonden, wanneer zij werden gevoed met een bepaald dieet. Ofschoon dit beeld veel op scorbuut geleck, bleek toen reeds, dat toediening van vitamine C in den vorm van groote hoeveelheden sinaasappelsap en ascorbinezuur geenerlei invloed uitoefende op de haemorrhagieën. Dit probleem leidde tot verdere uitgebreide onderzoeken naar de oorzaak van deze haemorrhagische kuikenziekte, daar D a m meende een nieuwe deficiëntieziekte bij kuikens te hebben ontdekt. Bij zijn verdere onderzoeken over de Cholesterinestofwisseling vond hij in 1930 toevallig, dat het bloed van de zieke dieren een zeer vertraagde stolling vertoonde. Reeds in 1931 vonden M c. F a r l a n e en medewerkers, onafhankelijk van D a m, ook dezelfde afwijkingen bij kuikens. Bij hun onderzoeken over de behoefte aan in vet oplosbare vitaminen bij deze dieren, vonden zij, dat bij een bepaald dieet de kuikens slecht groeiden, ondanks extra toediening van levertraan. Tevens merkten zij op, dat de mortaliteit onder de diertjes zeer groot was en 50 % kwam door verbloeding uit de aanhechtingsplaats van den identificatie-ring aan de vleugels. Andere kuikens, die niet overleden, vertoonden heel vaak uitgebreide subcutane bloedingen aan het femur, borstkas en in de pectoraalspieren. Belangrijk was tevens de ontdekking, dat het bloed van deze zieke dieren, zelfs na een heelen nacht staan, niet tot stollen was te brengen. Deze afwijkingen konden worden

voorkomen door aan het standaarddieet wat caseïnoogen of puur vischmeel toe te voegen.

Een nadere beschouwing over deze haemorrhagieën hebben M. c. F a r l a n e en medewerkers niet gegeven; ze werden slechts als feiten in één van de publicaties vermeld.

In 1934 verschenen de eerste uitvoerige publicaties van D a m en S c h ö n h e y d e r over deze nieuwe deficientieziekte. De bloedingen zagen zij in 60 %—70 % van de kuikens, die op een bepaald dieet werden gezet. Dit standaarddieet bestond uit:

Vitamine A vrije caseïnoogen	20 deelen
Marmite	10 „
Opgelost zetmeel	65,5 „
Zouten	4,5 „
Varieerende hoeveelheden levertraanconcentraties.	

Het marmite kon worden vervangen door 15 % gedroogde Brewer's gist; het zetmeel door rijstemeel of sucrose en de zouten door verschillende andere zoutmengsels. Het lage gehalte aan vet en steroïden was van geen invloed, daar door toediening van Cholesterol en meer levertraan, de neiging tot bloeden niet kon worden voorkomen. Meestal traden de verschijnselen na 15—20 dagen op. De bloedingen ontstonden subcutaan of intramusculair aan borst, pooten, vleugels en gingen tevens gepaard met haemorrhagieën en bepaalde andere pathologische veranderingen in het stratum corneum van de „Gizzard” = spiermaag. Vooral deze laatste afwijkingen werden door D a m en zijn medewerkers als pathognomonisch beschouwd voor deze kuikenziekte; dit in tegenstelling met de bevindingen van A l m q u i s t en S t o k s t a d (1935—1936). De bloedingen ontstonden spontaan of na lichte traumata, zooals b.v. zacht bekloppen van een dijspier. Soms kwam het ook tot spontane bloeduitstortingen in de buikholte, petechieën in de lever. Uitwendige, open bloeduitstortingen werden nooit gezien. Sommige dieren vertoonden ook zware oedemen. Verder traden er regelmatig anaemie en onvoldoende groei op.

Deze ziekte had niets uit te staan met een deficientie aan vitamine C, A, D, B₁ en B₂. De haemorrhagieën konden door toevoeging van deze stoffen aan het standaarddieet niet worden voorkomen of genezen.

In 1935 konden D a m en zijn medewerkers aantonen, dat deze antihaemorrhagische factor een in vet oplosbaar vitamine is, dat vooral voorkomt in het vet van varkenslever, in hennepzaad en enkele groenten, zooals tomaten en boerenkool en in mindere mate ook in vele graansoorten. Dierlijke producten, zooals rundvleesch, kalfshersenen en runderlongen bleken weinig of niets van die nieuwe factor te bevatten.

Ook M c. F a r l a n e vond in 1931 dat de bloedingen bij de kuikens pas optraden, wanneer hij aan het vetarme standaarddieet toevoegde eiwitten, in den vorm van met aether geëxtraheerd vischmeel of vleeschpoeder. Gebruikte hij eiwitten, die niet met aether waren uitgetrokken, dan traden de haemorrhagieën niet op.

Bij verder onderzoek van D a m bleek, dat deze stof, die later een vitamine zou blijken te zijn, voorkwam in de gemakkelijk oplosbare, onverzeepbare fractie van het onderzochte materiaal. Het was echter ook geen sterol. Wanneer een petroleumaether-solutie van het onverzeepbaar concentraat werd geschud met 90 % methylalcohol, bleef het vitamine in de petroleumaether. In dit opzicht leek de stof op het vitamine E. Daar echter het vet van varkenslever veel actiever in zijn anti-haemorrhagische werking was dan olie uit tarwekiemen, die juist veel vitamine E bevat, was het onwaarschijnlijk, dat de nieuwe factor identiek was met vitamine E.

Omdat een tekort aan deze antihaemorrhagische stof een stollingsafwijking veroorzaakt, heeft D a m voorgesteld om den naam *vitamine K* voor de nieuwe ontdekking in te voeren en wel de eerste letter van het woord *Koagulation*.

Om een vitamine K gebrek aan te toonen, moest men gebruik maken van biologische onderzoeksmethoden, afgaande op het al dan niet aanwezig zijn van bloedingen of bloedstollingsdefecten bij proefdieren. Aan de waarneming van dit laatste heeft men natuurlijk beter en meer houvast dan aan het letten op de aanwezigheid van bloedingen. De bloedstolling bij de proefkuikens werd door D a m en S c h ö n h e y d e r op de volgende wijze bepaald:

Door een kleine snede werd de brachiaalvene van een kuiken geopend, waaruit zij 2—3 cc bloed langzaam ($\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ minuut) in een klein porceleinen schaalje lieten vloeien. De tijd die verloopt vanaf het openen van de vene, tot het bloed in de porceleinen schaal is gestold, noemden zij den stollingstijd, die voor normale

kuikens 1—5 minuten bedroeg. Zieke kuikens vertoonden meestal een stollingstijd van enkele uren.

Ondanks deze grove methode was er dus toch een duidelijk verschil te zien tusschen zieke en normale kuikens.

Later werd een iets fijnere methode gebruikt. Daarbij werd de arteria carotis vrijgelegd en een canule bevestigd in het lumen van het vat. Door middel van een recordspuit werd dan 2—3 cc bloed opgezogen en dit in tot 0 graden afgekoelde buisjes, die tevoren gearaffineerd waren, afgecentrifugeerd. Het bovenstaand plasma werd in buisjes bij ijskasttemperatuur bewaard. Slechts na toevoeging van een weefselextract (embryonaal weefsel of extracten van longweefsels) zal dit plasma stollen. Normaal en „ziek” plasma vertoonden een enorm verschil in stollingstijd na toevoeging van hetzelfde extract.

Deze laatste methode heeft Albert Fischer in 1930 geconstrueerd, ook voor het nagaan van de bloedstolling bij vogels.

Door de concentratie van het weefselextract te wisselen, kon de stollingstijd van ziek plasma tot normale waarden worden teruggebracht. Die concentratie, die normaal plasma in 3 minuten kon doen stollen, werd door Dam en Schönheyder met de waarde 10 aangeduid.

De hoeveelheid vitamine K in verschillende stoffen werd uitgedrukt in eenheden. 1 Dam-eenheid was de kleinste dosis, welke in een zekeren tijd de bloedstolling van een ziek kuiken met een bepaalden graad van haemorrhagische diathese, normaal kon doen worden (hierover later meer).

Dam en zijn medewerkers waren toen nog niet in staat om het mechanisme van de trage bloedstolling bij hun proefdierjes te verklaren. Er waren geen morphologische veranderingen in het bloed te bespeuren; het gehalte aan fibrinogeen, calcium en thrombokinase was onveranderd. Ook een vermeerdering van antithrombine in het plasma of een verandering van de P_H in het bloed konden niet worden aangetoond. Het bleek echter, dat er in normaal plasma een component aanwezig was, die de stolling van het zieke bloed kon bevorderen. Wanneer zij aan ziek plasma met een verlengden stollingstijd wat normaal plasma toevoegden, dan werd de stollingstijd van het eerste normaal.

Onafhankelijk van Dam en zijn medewerkers hebben Holst

en Halbrook in 1933 ook een „voedingsziekte” bij kuikens beschreven, die gekarakteriseerd was door subcutane, intramusculaire en abdominale bloedingen. Ook hierbij werd al gauw opgemerkt, dat het bloed van de zieke vogels moeilijk stonde. Deze aandoening kon worden genezen door aan de kuikens verse groenten te geven. Halbrook toonde later (1935) ook aan, dat deze haemorrhagische diathese niet kon worden veroorzaakt door gebrek aan één van de toen bekende vitaminen.

Almquist en Stokstad (1935), werkende in hetzelfde laboratorium als bovengenoemde onderzoekers, hebben later dit probleem verder nagegaan, waarbij zij tot practisch geheel dezelfde conclusie kwamen als Dam en medewerkers. In tegenstelling met de laatsten vonden de Amerikaansche onderzoekers echter de afwijkingen aan de spiermaag van de kuikens niet pathognomonisch voor de vitamine K deficiëntie. Zij meenden, dat de erosies aan de maag (gizzard) veroorzaakt worden door een geheel andere deficiëntieziekte en konden worden genezen door een andere onbekende stof.

Deze factor was vermoedelijk ook een vitamine, zou in vet oplosbaar zijn en juist voorkomen in het wel verzeepbare gedeelte van het onderzochte materiaal.

Bird, Kline, Elvehjem, Hart en Halpin hebben naar aanleiding van deze nieuwe theorie de maagerosies van de kuikens aan een verder onderzoek onderworpen. Bij hun proeven over het B₄ vitamine werden deze maagafwijkingen soms als een complicatie opgemerkt. Ook zij kwamen tot de conclusie, dat de „anti-gizzard-erosion factor” een geheel andere stof moet zijn dan het vitamine K. In tegenstelling met de bevindingen van Almquist en Stokstad, vonden zij, dat het Alfalfa (Luzerneklaver) arm was aan deze „Gizzard-factor”. Het zou vooral veel voorkomen in varkenslongen, -lever en -nieren; ook in haver, tarwe en mais. Ook chemisch zou het zich anders gedragen dan het vitamine K. Het is onoplosbaar in aether en ethyl-alcohol en volgt bij de fractioneering van longweefsel de zuur-precipitabele proteïnen, die in alkali oplosbaar zijn.

Deze nieuwe stof heeft helaas niet dezelfde belangstelling opgewekt als het vitamine K. Het ligt aan den Bioloog-Chemicus om dit, ongetwijfeld zeer interessante, probleem verder te bestudeeren,

daar het niet onwaarschijnlijk is, dat uit deze nieuwe, onbekende stof, evenals het vitamine K, een ander belangrijk therapeuticum kan groeien.

Om nu weer terug te keeren tot het vitamine K. We kunnen uit de literatuur opmaken, dat Almquist en Stokstad de eersten waren, die het Alfalfa of Luzerneklaver bij hun onderzoekingen gebruikten. De kuikenziekte kon gemakkelijk worden voorkomen door aan het standaarddieet heel weinig (minder dan $\frac{1}{2}$ %) gedehydrerd Alfalfa toe te voegen. Evenals hun Zweedsche collega's vonden zij, dat de antihæmorrhagische factor zich bevond in de onverzeepbare, met aether te extraheeren portie van het Alfalfa. Totaal met aether uitgetrokken Alfalfa, Chlorophyl en de wel verzeepbare Alfalfa-fractie van het aether-extract waren niet in staat om de bloedingen te voorkomen of te genezen. Verder vonden zij, dat de factor kon worden geadsorbeerd uit het aether-extract door middel van geactiveerde kool; het bleef stabiel, zelfs na 24 uur verhitten bij 120 graden Celsius.

Het standaarddieet, dat door Almquist en Stokstad werd gebruikt, bestond uit de volgende ingrediënten:

Vischmeel	20 deelen
Brewer's gist	12 "
Gepolijste rijst	65 "
Gemalen Kalksteen	1 "
Varkenslevertraan	1 "
Zouten	1 "

De merkwaardigheid deed zich echter voor, dat, wanneer het vischmeel eerst enkele dagen nat werd gehouden, zoodat micro-organismen daarop konden inwerken, de bloedingen bij toediening van bovenstaand dieet nooit optraden. Door deze vondst kon daarom ook worden verklaard, waarom Cribbet en Correll in 1934 de bevindingen van Holst en Halbrook niet konden bevestigen.

Nu deed zich de vraag voor: zit er in vischmeel (gedroogd) een stof, die de ziekte veroorzaakt of worden de bloedingen teweeggebracht door het ontbreken van een bepaalde factor, die misschien door bacterieele inwerking pas gevormd wordt?

Verdere onderzoekingen van Almquist en Stokstad

(1935) maakten een ontbreken van een antihæmorrhagische factor veel waarschijnlijker dan een aanwezigheid van een specifiek ziekteverwekkend agens in droog vischmeel.

Het voorkomen van het vitamine K in de natuur.

Dit vitamine komt in de natuur vrij algemeen verbreid voor.

D a m en S c h ö n h e y d e r merkten reeds in 1934 op, dat verschillende zaden en graansoorten, zooals hennepzaad, zeer goed preventief en ook therapeutisch werkten tegen de hæmorrhagische kuikenziekte. Ook het vet uit de lever van varkens, schapen en jonge stieren bleek zeer veel van dit anti-hæmorrhagische principe te bevatten.

In 1935 heeft D a m met de z.g. preventieve methode verschillende voedingsmiddelen aan een systematisch onderzoek onderworpen.

Hennepzaad werkte goed beschermend, terwijl ongepolijste rijst, zaad van zonnebloemen, gele mais en rogge bijna geen effect vertoonden. Andere graansoorten, zooals tarwe, haver, gerst, soja-boonen en pluimgierst nemen een tusschenpositie in. Kippeneieren zijn arm aan vitamine K; behalve de dooier heeft de rest van het ei weinig waarde.

Tomaten, citroenschillen en boerenkool hebben een vrij goede beschermende werking. Van de dierlijke stoffen bleek de varkenslever het meest vitamine K te bevatten, terwijl kalfshersenen, runderlongen en -spieren zeer arm zijn aan deze antihæmorrhagische factor. Ossenen, -bijnieren en kalfsthymus nemen een tusschenpositie in.

Almquist en Stokstad (1935) komt de eer toe, het Alfalfa of Luzerneklaver als zeer hoog potentieel vitamine K-bron te hebben ontdekt.

In 1936 volgden nog meer onderzoekingen van D a m en S c h ö n h e y d e r. Zij maakten gebruik van de z.g. curatieve methode en wel onder contrôle van den stollingstijd van het bloed der proefdieren. Deze methode is ongetwijfeld verreweg te prefereren boven de preventieve methode, daar bij de laatste slechts wordt afgegaan op het al dan niet optreden van bloedingen. Het gehalte aan vitamine K kon nu ook in cijfers worden uitgedrukt (Dam-eenheden).

Andere onderzoekers op dit gebied, Almquist en Stokstad (1935), Almquist (1937) kwamen tot dezelfde conclusies als Dam en zijn medewerkers.

LIJST VAN EENIGE VOEDINGSMIDDELEN EN PLANTENSOORTEN

(volgens de gegevens van Dam, Glavind en
Schönheyder, 1936—'38).

<i>Groenten</i>	<i>Aantal Dam-eenheden</i>
Witte kool	230
Roode Kool	60
Spitskool (Chineesche kool)	240
Boerekool	260
Groene bladeren van kool in het algemeen	400
Spinazie (afhankelijk van de qualiteit)	270—550
Gele wortels	minder dan 10
Aardappels	minder dan 10
<i>Zaden van</i>	
Gerst	15
Erwten (rijp om uitgepoot te worden)	14
Haver	minder dan 10
Tarwe	minder dan 5
Gele mais	minder dan 5
Zonnebloem	minder dan 10
Henneplant	40
Sojaboonen	25
Tarwezemelen	10
Tarwekiemen	minder dan 5
<i>Groene bladeren van</i>	
Alfalfa	200—400
Gras	200
Kastanje	800
Brandnetel	400
Dennennaalden	200
Sparrenaalden	120

Dierlijke producten

Varkenslever	50—100
Kabeljauwlever	10
Hondenlever	67
Lever van normale kuikens	minder dan 11
Lever van K. avitamineuze kuikens	minder dan 11
Rundvleesch	} alle minder dan 50
Runderlongen	
Kalfshersenen	
Ossenieren	
Bijnieren	
Kalfsthymus	
Kippenei	
Melk	

Vruchten

Rijpe aardbeien	15
Rijpe roode tomaten	50
Onrijpe groene tomaten	100

Opmerkelijk is het hooge gehalte aan vitamine K in alle groene plantendeelen. Van alle onderzochte groene bladsoorten spant het kastanjeblad verreweg de kroon en bevat zelfs meer vitamine K dan het zoo geroemde Alfalfa. Verder is gebleken, dat verdorde bladeren evenveel vitamine K bevatten als versche. Bladeren, die zowel groene als gele areas hebben, blijken in beide deelen evenveel vitamine K te bezitten. Een proef met ontkiemende erwten toonde aan, dat er een abundante aanmaak van het vitamine bestond in zaden, die in het licht opgroeiden, dus gelijktijdig met de chlorophyl-vorming. Erwten, die in het donker ontkiemden, produceerden weinig vitamine K. Toch hebben het chlorophyl en het chlorophylen geen antihaemorrhagische werking (Almquist en Stokstad 1935).

Over het algemeen zijn producten van dierlijken oorsprong arm aan vitamine K. Zelfs het vet van varkenslever bevat slechts 50 Dam-eenheden per gram droge stof. Alle andere dierlijke producten hebben minder dan 50 E.

Het is wel merkwaardig, dat het gehalte aan vitamine K in de levers van normale en in die van zieke kuikens even groot is.

Andere natuurlijke vitamine K bronnen.

Behalve dat mensch en dier het vitamine K uit de voeding kunnen halen, is het zeer waarschijnlijk, dat er nog een andere bron bestaat, waaruit hij putten kan, om in de behoefte aan deze antihaemorrhagische factor te kunnen voorzien. *D a m* en *S c h ö n h e y d e r* hebben in 1937 waargenomen, dat ratten, Guineesche biggetjes en honden geruimen tijd op een totaal vitamine K vrij dieet konden worden gezet, zonder dat er een spoor van een haemorrhagische diathese ontstond. Zelfs na 73 dagen bleef de stollingstijd van het bloed normaal. Ook duiven en kanaries kregen pas na veel langeren tijd, en dan nog in vrij milden vorm, een haemorrhagische diathese, wanneer ze op een vitamine K vrij dieet werden gezet. Soms bleven de verschijnselen ook bij de kuikens weg of traden pas heel laat op (*A l m q u i s t* en *S t o k s t a d*). Het is dus mogelijk, dat deze dieren geen vitamine K nodig hebben of dat ze in staat zijn om zelf de factor te vormen, b.v. door bacteriële werking in het darmstelsel van de dieren.

A l m q u i s t en *S t o k s t a d* (1935—1936) hebben er op gewezen, dat bacteriële synthese van vitamine K, in het darmstelsel van kuikens mogelijk is. Deze dieren vertoonen in de ontlasting, ondanks een vitamine K vrij dieet, toch steeds het vitamine K. Deze veronderstelling kreeg grotere waarschijnlijkheid door de proeven met gedroogd en vochtig vischmeel, waaruit bleek, dat vitamine K door bacteriën kon worden gevormd. Vischmeel en rijstzemelen, die in gedroogden toestand geen vitamine K bevatten, vertoonden wel een duidelijke, antihaemorrhagische werking nadat ze werden bevochtigd en bloot waren gesteld aan bacteriële inwerking.

In 1938 hebben *A l m q u i s t*, *P e n t l e r* en *M e c c h i* verschillende soorten microorganismen op deze eigenschap onderzocht. Vochtig gemaakt vischmeel werd geïnfecteerd met verschillende bacteriën en daarna geëxtraheerd met aether. Dit aetherextract bleek steeds voldoende vitamine K te bevatten om de haemorrhagische diathese bij de kuikens te voorkomen, terwijl het extract van steriel vischmeel of rijstzemelen nooit een spoor van activiteit

vertoonde. Verdere proeven toonden aan, dat de anti-haemorrhagische werking gebonden was aan het microörganisme zelf, terwijl het vloeibaar medium, waaruit de bacteriën door filtratie waren verwijderd, geen vitamine K-werking vertoonde. Deze factor in het microörganisme was ook met vetoplosmiddelen te extraheeren. Het was verder ook zeer waarschijnlijk, dat deze anti-haemorrhagische factor een product was van het bacteriëel metabolisme zelf.

Almquist, Pentler en Mecchi hebben in 1938 een lijst van microörganismen gepubliceerd, waarbij ook bleek, dat de colibacil en de humane tuberkelbacil in staat waren om de anti-haemorrhagische factor te vormen.

Natuurlijk was het ook nog mogelijk, dat de vorming van het vitamine K door bacteriën pas gebeurt nadat de faeces buiten het lichaam zijn gedeponneerd of dat het pas in de laagste deelen van het darmstelsel plaats vindt, waar toch geen resorptie meer mogelijk is. Teneinde deze mogelijkheden te kunnen uitsluiten, werd de ontlasting direct opgevangen in een bakje met 1 % waterige oplossing van phenol, zoodat een bacteriële inwerking werd voorkomen. Ook van deze ontlasting bleek het aetherextract goed werkzaam te zijn, hoewel niet zoo sterk als dat van niet-gedesinfecteerde faeces. Waarschijnlijk gaat de vorming van het vitamine K door bacteriën na de defaecatie dus verder voort.

Zowel bij vogels als bij zoogdieren en ook bij den mensch wordt in het darmstelsel dus vitamine K door bacteriën gevormd. Vermoedelijk wordt deze factor bij mensch en dier ook door het lichaam opgenomen, daar het tot nu onmogelijk is gebleken om ze door een vitamine K-vrij dieet een haemorrhagische diathese te bezorgen. Zelfs zal het prothrombinegehalte in het bloed, indien er geen andere factoren, zooals diarrhee, bijkomen, practisch nooit eenige vermindering vertoonen. Maar dat mensch en dier het vitamine K wel degelijk noodig hebben, blijkt uit het feit, dat er wel een prothrombine-vermindering en zelfs een haemorrhagische diathese kunnen optreden, wanneer de resorptie van het vitamine K op de een of andere manier wordt stopgezet, b.v. bij een afsluitingsicterus, galfistel en zware vetdiarreeën.

Greaves vond in 1939 bij ratten, die een vitamine K vrij dieet kregen, in de meerderheid van de gevallen geen vermindering van het prothrombine in het bloed en nooit een haemorrhagische dia-

these. Deze afwijkingen traden echter prompt op wanneer hij bij de dieren tevens een galfistel aanlegde. Van groot belang is verder de vondst, dat de ontlasting van deze dieren (met galfistel en een vitamine K vrij dieet) steeds een belangrijke hoeveelheid antihaemorrhagische factor bevat.

D a m (1939) vond dat de ontlasting van personen die geruimen tijd geen vitamine K met het voedsel toegevoerd kregen, toch steeds belangrijke hoeveelheden van deze antihaemorrhagische factor bevatte.

Hoewel men steeds spreekt van vitamine K door bacteriën gevormd, is het nog zeer de vraag of deze antihaemorrhagische factor wel identiek is met het echte vitamine K, dat in de plantenwereld voorkomt. Het is toch zeer wel mogelijk, dat het bacteriëel stofwisselingsproduct iets heel anders is. Zij zou ook invloed kunnen hebben op de vorming van het prothrombine. Men heeft in 1933 (A n d e r s o n en N e w m a n) toch uit het pigment van den humanen tuberkelbacil een stof kunnen afzonderen, die een geringe vitamine K werking uitoefent. Deze stof noemt men Phthiocol en zij heeft een andere chemische samenstelling dan het echte vitamine K. Tegenwoordig hebben wij talrijke synthetische stoffen, die niet geheel identiek zijn met het natuurlijke vitamine K, maar precies dezelfde werking hebben.

In welk gedeelte van de darm de opname van het vitamine K plaats vindt, is nog niet geheel zeker. Men vermoedt, dat de optimale resorptie van deze factor in het jejunum plaats heeft. De maag en het colon schijnen het vitamine niet op te nemen. (Personal communication with D i x o n and C l a r k. Mayo Clinics B u t t, S n e l l en O s t e r b e r g. J.A.M.A. 113, 383, 1939).

Kuikens hebben nog een derde bron om aan het vitamine K te komen en wel van de moeder. A l m q u i s t en S t o k s t a d (1936) vonden, dat kuikens uit de eieren van kippen, die meer vitamine K in het voedsel kregen, veel beter bestand waren tegen een vitamine K vrij dieet dan de kuikens, waarvan de moeders geen vitamine K kregen.

Ook de mensch krijgt tijdens zijn intra-uterine leven het vitamine K van de moeder, hoewel de placenta vermoedelijk een vrij groote hindernis schijnt te zijn voor de passage van het vitamine van moeder naar kind. De meeste pasgeborenen hebben een laag

prothrombinegehalte in het bloed, terwijl dat van de moeder vóór en na de bevalling steeds normaal en vaak meer dan normaal is. Wanneer wij de vrouwen voor de partus vitamine K toedienen, vinden wij bij de voldragen babies prothrombinewaarden in het bloed, die bijna 3 maal zoo groot zijn als de gemiddelde waarden van contróle-babies. De placenta is dus toch geen hindernis, als men maar genoeg vitamine K aan de moeder geeft.

De vitamine K-deficientie bij pasgeborenen heeft zich ontwikkeld tot een apart en zeer interessant vraagstuk (zie hoofdstuk Haemorrhagische Diathese van de pasgeborene).

De kennis van de vitamine K-vorming in het darmstelsel door bacteriën is daarom ook van belang, dat men bij het nemen van dierexperimenten daarmee rekening dient te houden. Heel veel mislukkingen in het begin van het vitamine K onderzoek moeten worden toegeschreven aan de onbekendheid met dit feit. Wil men dus bij vitamine K-proeven met dieren geen teleurstellingen en verkeerde waarnemingen boeken, dan moet men het vitamine K-vrij dieet zorgvuldig klaarmaken en er voor oppassen, dat er geen rottingsprocessen kunnen optreden. Eventueel kan men de voedingsbestanddeelen voor alle zekerheid nog met een vetplosmiddel extraheeren. Verder dienen de dierenhokken steeds zorgvuldig te worden gereinigd, daar koprophagie en verontreiniging van het voedsel de K-avitaminose belangrijk kunnen tegenwerken. Tevens raden Almqvist en Stokstad aan om bij proeven met kuikens de moeders daarvan eenigen tijd voor te behandelen met een vitamine K-arm dieet.

Het mechanisme van de trage bloedstolling bij de haemorrhagische kuikenziekte.

Zooals reeds boven opgemerkt, was de bloedstolling bij de zieke kuikens zeer vertraagd. (Dam (1934), Mc. Farlane en medewerkers (1932), Holst en Halbrook (1931)). Het mechanisme van deze stollingsanomalie was echter nog niet bekend, totdat Schönheyder in 1935 en 1936 dit vraagstuk aan een intensieve studie onderwierp (vastgelegd in een dissertatie in 1936, Kopenhagen). Alle stollingsfactoren heeft hij nauwkeurig nagegaan en daarbij bleek, dat de slechte stolbaarheid van het bloed der zieke

kuikens niet kon worden toegeschreven aan een verminderde werking van het thrombokinase in de weefsels of in de thrombocyten. Noch bestond er een vermindering van het fibrinogeen in het plasma, noch was er een accumulatie van antistollingsstoffen, m.n. het antithrombine. De H-ionenconcentratie in het bloed was nooit veranderd en een vermindering van het zoutgehalte in het plasma kon niet worden aangetoond. Wel vond Schönheyder dat het calciumgehalte vaak aan den lagen kant was, maar door toevoeging van Ca-ionen aan het plasma van de zieke dieren was hij niet in staat om den stollingstijd te verkorten.

Hij toonde eveneens aan, dat er per tijdseenheid en onder dezelfde omstandigheden na toevoeging van gelijke hoeveelheden thrombokinase, in het „zieke plasma” veel minder thrombine werd gevormd dan in normaal bloedvocht. Verder vond Schönheyder, dat er in normaal plasma een surplus moet zijn van een zekere stof, dat in staat was om het stollingsproces in het abnormale plasma te bevorderen. Het lag dan ook het meest voor de hand om aan te nemen, dat de oorzaak van de stollingsanomalie moet zijn gelegen in een verminderde hoeveelheid prothrombine in het bloed van de zieke kuikens.

Verdere onderzoekingen van Dam, Schönheyder en Tage Hansen in 1936 maakten deze veronderstelling zeer waarschijnlijk. Het was mogelijk om het prothrombine uit het plasma door bepaalde methoden te praecipiteeren (Aceton-methode van Howell (1911) en de Azijnzuur-methode van Mallanby (1930). *Am. J. Phys.* 29/187—1911 en *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 107/271—1930).

Daarbij bleek, dat het praecipitaat uit het plasma van de zieke kuikens niet of zeer gering de activiteit bezat van het prothrombine, in tegenstelling met dat van normale dieren.

Later heeft men door specifieke quantitative bepalingen deze bevindingen kunnen bevestigen, o.a. door Quick (1937) en Brinkhous en Smith in hetzelfde jaar.

Quick kwam daarbij ook tot de belangrijke conclusie, dat er vrij veel prothrombine uit het plasma moet verdwijnen, vóórdat er een duidelijke bloedingstendens is waar te nemen. Er bestaat dus een vrij groote marge van veiligheid, die niet alleen bij kuikens, maar ook bij andere dieren en bij den mensch aanwezig is. Valt

het prothrombine bij de kuikens echter beneden de 20 %, dan bestaat er beslist een gevaarlijke kans op bloeding.

Het vitamine K was nu in staat om de bloedingen bij de haemorrhagische kuikenziekte tot staan te brengen, waarbij tevens het prothrombinegehalte normaal werd. Bij de kuikens staat het vast, dat er zonder vitamine K geen prothrombine in het lichaam kan worden gevormd.

De actie-modus van het vitamine K.

Uit de proeven van Dam en Schönheyder, Almqvist en Stokstad e.a. is nu wel duidelijk gebleken, dat het optreden van de bloedingen bij de proefdieren steeds gepaard gaat met een enorme daling van het prothrombine in het bloed. Wanneer de vitamine K-therapie aanslaat, neemt ook steeds de stollingsfactor toe en verdwijnen de bloedingen. Ook later, toen men bewezen had, dat het vitamine K ook in de menselijke pathologie ontegenzeggelijk een groote rol speelt, kwam vast te staan, dat deze anti-haemorrhagische factor van essentieel belang is bij de vorming van het prothrombine.

Aanvankelijk vroeg men zich af, of het vitamine K identiek was met het prothrombine. Dit wordt wel zeer onwaarschijnlijk gemaakt door het feit, dat het vitamine K een in vet oplosbare substantie is, terwijl het prothrombine in water oplosbaar is. Dam en Schönheyder wasschten het prothrombinepraecipitaat herhaaldelijk met aceton en aether, waardoor de lipoiden en het carotinepigment werden verwijderd. Het geëxtraheerd praecipitaat bleek nog steeds als prothrombine werkzaam te zijn, terwijl de lipoiden geen spoor van activiteit vertoonden. Verder beïnvloedde het vitamine K, in tegenstelling met het prothrombine, in vitro op geenerlei wijze de bloedstolling.

Het is natuurlijk wel mogelijk, dat het vitamine K of een derivaat daarvan in het prothrombine-molecul als een prosthatische groep aanwezig en in zeer hechte combinatie met de rest van het molecuul verbonden is.

Dam en medewerkers vonden tevens, dat gewasschen prothrombine-praecipitaten toch vitamine K bevatten, althans een vitamine K-werking kunnen uitoefenen. Toen men later de chemische samen-

stelling van deze antihæmorrhagische factor had gevonden bleek wel duidelijk, dat het prothrombine en het vitamine K niet identiek waren.

Men neemt nu wel algemeen aan, dat het prothrombine in de lever wordt gevormd (zie hoofdstuk over de bloedstolling). Het is dan ook vanzelfsprekend om aan te nemen, dat het vitamine K in of via de lever tot prothrombine wordt gevormd, of de vorming van de stollingsfactor op de een of andere wijze activeert. Dat de lever inderdaad van essentieel belang is voor de goede werking van het vitamine K en voor de vorming van het prothrombine, is later aangetoond door talrijke dierproeven en klinische waarnemingen. Indien dit orgaan op de een of andere wijze wordt uitgeschakeld, hetzij door wegname bij proefdieren, hetzij door een zware leverbeschadiging in de menschelijke pathologie, dan slaat een vitamine K-therapie, wat betreft een vermeerdering van het prothrombinegehalte, niet of slecht aan (zie volgend hoofdstuk). Tevens is het zeer waarschijnlijk, dat het vitamine K, evenals andere vitaminen, in de lever wordt opgestapeld.

Vitamine K-deficientie van dietetischen oorsprong bij andere dieren.

Behalve bij kuikens hebben Dam, Schönheyder en Lewis in 1936 het gedrag van verschillende andere dieren ten opzichte van een vitamine K deficient dieet nagegaan. Dezelfde symptomen, die bij de kuikens werden gezien, konden zij ook heel gemakkelijk bij jonge ganzen en eenden teweeg brengen. Bij duiven en kanaries ontwikkelden de verschijnselen zich maar in geringe mate en zeer langzaam. Proeven met zoogdieren, zooals ratten, guinea-biggetjes en honden toonden aan, dat deze dieren heel lang op een vitamine K vrij dieet konden worden gehouden, zonder dat er een spoor van een hæmorrhagische diathese optrad. Het gelukte hen evenwel om bij een hond door langdurige inanitie hæmorrhagieën te veroorzaken, maar waarschijnlijk was dit niet het gevolg van uitsluitend een vitamine K-gebrek, daar bij het dier ook een thrombocytopenie optrad.

De verklaring over de oorzaak van dezen grooten weerstand tegen een vitamine K vrij dieet is niet geheel bevredigend. Als

reden daarvoor geeft men aan, dat de zoogdieren een langer dikke-darmstelsel hebben dan de vogels, zoodat de bacteriële vitamine K-vorming bij de eerste een groote rol speelt in de behoeftevoorziening van deze antihæmorrhagische factor.

Maar waarom worden kuikens wel en kanaries niet of heel moeilijk ziek? De laatste hebben toch niet een langer dikke-darmstelsel dan de kuikens. Het bezit van een korter colon wil zeker niet zeggen, dat deze dieren geen profijt trekken van de bacteriële vitamine K vorming in het darmstelsel. Het is ook heel goed mogelijk, dat de behoefte aan het vitamine bij de vogels veel geringer is dan bij de zoogdieren.

Tot 1936 heeft men, behalve bij kuikens en enkele andere vogels, geen andere dierziekten kunnen ontdekken, waarbij het vitamine K een rol zou kunnen spelen, totdat Quick in 1936 op het idee kwam om een verband te zoeken tusschen een toen reeds bekende veeziekte en een mogelijke vitamine K-deficientie. Deze veeziekte was de z.g. *Sweet Clover disease*, die in 1924 voor het eerst door Schofield werd beschreven. Hij vestigde toen de aandacht op fatale bloedingen, waaraan het vee te gronde kon gaan, wanneer zij werden gevoed met een slecht geprepareerde klaversoort, n.l. het *Sweet Clover*. Tevens wees hij toen reeds op den verlengden stollingstijd bij de runderen.

In 1931 werd deze ziekte door Roderick nader bestudeerd. Ook konijnen, die werden gevoed met slecht hooi of slecht ingekuild *Sweet Clover*, stierven vaak aan verbloeding na lichte traumata. Hij toonde ook aan, dat de trage bloedstolling bij deze zieke dieren te wijten was aan een enorme vermindering van het prothrombine in het bloed. Alle andere stollingsfactoren, zooals het fibrinogeen, calcium, thrombokinase en antistollingsstoffen bleken in normale hoeveelheden aanwezig te zijn.

Ook Quick slaagde er in om experimenteel bij konijnen, door voeding met toxisch *Sweet Clover*, een gevaarlijke daling van het prothrombine te veroorzaken. Parallel met de prothrombinevermindering liep de intensiteit van de hæmorrhagieën. Wanneer 5% Alfalfa-meel werd toegevoegd aan het toxisch hooi, kon de ziekte bij konijnen worden voorkomen en met iets meer Alfalfa ook worden genezen. Ook het zieke vee kon met vitamine K, b.v. in den vorm van Alfalfa, worden genezen.

Hoewel het vaststaat, dat de Sweet Clover Disease veroorzaakt wordt door een belangrijk tekort aan prothrombine en dat dit door vitamine K kan worden genezen, blijft de interpretatie van de bevindingen toch moeilijk. Misschien is het vitamine K door de slechte bewerking van de Sweet Clover vernietigd, waardoor er een vitamine-deficientie bij de dieren kan ontstaan. Waarschijnlijk is dit echter niet, daar de dieren meestal toch ook andere grassoorten te eten krijgen. Daarbij komt nog het feit, dat het practisch onmogelijk is om zoogdieren een haemorrhagische diathese te bezorgen, door ze enkel een vitamine K-vrij dieet voor te zetten. Het is waarschijnlijker om aan te nemen, dat door de slechte bewerking van de klaver een toxische stof ontstaat, waardoor het prothrombine wordt vernietigd of waardoor een leverbeschadiging ontstaat, waardoor er niet voldoende prothrombine kan worden gevormd.

Hoe dan ook, het vitamine K bleek bij deze veeziekte van ontzaglijke waarde te zijn.

Chemische eigenschappen en samenstelling van het vitamine K.

Niet lang na de ontdekking van het vitamine K, verschenen in 1935 van de hand van D a m en S c h ö n h e y d e r de eerste gegevens over de chemische eigenschappen van deze anti-haemorrhagische stof. Al spoedig bleek, dat het vitamine een in vet oplosbare stof was en voorkwam in de gemakkelijk oplosbare, onverzeepbare fractie van het onderzochte materiaal. Het was ook geen sterol. De nieuwe factor was thermostabiel, die b.v. na 12 uur lang koken niet werd vernietigd. Het was niet mogelijk om de stof met 90 % methylalcohol uit een petroleum-aethersolutie te schudden.

Na deze eerste publicaties van de Noorsche onderzoekers heeft men de chemie van het vitamine K steeds meer en meer nagegaan.

A l m q u i s t en S t o k s t a d (1935) kwamen, betreffende de chemische eigenschappen van deze nieuwe factor, ook tot dezelfde resultaten als bovengenoemde onderzoekers. De actieve stof was geen zuur, geen ester en reageerde niet bijzonder basisch.

In 1936 gelukte het aan D a m en medewerkers om door middel van adsorptie aan CaCO_3 of aan rietsuiker sterk geconcentreerde vitamine K-praeparaten te bereiden met een sterkte van 600.000—

1000.000 Dam-eenheden per gram (definitie over een Dam-eenheid zie later in dit hoofdstuk).

Dit preparaat had een consistentie van visceuze olie; 1 mg. daarvan was voldoende om het bloed van een experimenteel ziek gemaakt kuiken weer normaal te doen stollen.

Ook in hetzelfde jaar verschenen de publicaties over de verdere onderzoeken van *Almquist*. De nieuwe factor was slecht oplosbaar in water of in een 50 % alcohol-water solutie, maar zeer goed in polaire en niet polaire, organische oplosmiddelen. Hij bevestigde nogmaals de bevinding, dat de stof stabiel is ten opzichte van temperatuur en lichtinwerking. Verhitting van verschillende vitamine K-monsters gedurende 24 uren bij een temperatuur van 120 graden Celsius deed de activiteit praktisch niet verminderen. Het vitamine was vrij gevoelig voor alkali.

Latere pogingen van *Almquist* (1936) om de stof door middel van distillatie te zuiveren, gaven als resultaat een sterk werkzame, geelgekleurde, visceuze olie.

In 1937 kwam men weer een stap verder. *Dam* en *Lewis* vonden, dat de geelgekleurde olie geen stikstof bevatte. Het was goed bestand tegen een inwerking van azijnzuuranhydride bij een temperatuur van 120 graden C. gedurende een half uur. Adsorptie van het vitamine aan sterk adsorberende media, zoals Al_2O_3 en MgO , destrueert de stof. Zij veronderstelden, dat het vitamine K het chemische karakter bezat van een ester, dit in tegenstelling met de meening van *Almquist* en *Stokstad* in 1935.

Daarbij zegt *Almquist* (1937), dat hij wel een kleine hoeveelheid stikstof in het vitamine kon aantonen. Zwavel en fosfor waren niet aanwezig. Door kleurproeven kon hij de aanwezigheid van een indolkern aantonen. Nog in hetzelfde jaar gelukte het hem om het vitamine K in den vorm van een kleurlooze kristallijne substantie met een laag S.G. af te zonderen. Deze fractie bevatte een of meerdere benzolringen.

Men was het dus in enkele opzichten nog niet eens over de chemische samenstelling van het vitamine K.

In 1938 gelukte het aan *Dam*, *Glavind*, *Lewis* en *Tagé Hansen* om zeer geconcentreerde preparaten te bereiden uit het Alfalfa-Luzerneklaver. Na extractie met een vetoplosmiddel, werden het chlorophyll en andere inactieve stoffen langs chromato-

grafischen weg, met b.v. gips als adsorbens, verwijderd. Op een bepaalde manier werd het vitamine K dan weer uit het gips gehaald. Na eenige malen dit proces herhaald te hebben, werd het preparaat, een gele kleurstof, verder gereinigd door indamping tot een oranjekleurige olie, die door destillatie in hoogdruk-vacuum nog verder geconcentreerd kon worden. Door deze methode werd een vitamine K-preparaat bereid met een sterkte van 1—3 miljoen Dam-eenheden per gram.

De pogingen van Dam, Geiger, Glavind, P. en W. Karrer, Rothschild en Salomon, om het materiaal nog verder te zuiveren, werden beloond met een preparaat, dat een sterkte had van 12 miljoen Dam-eenheden. Het is gelukt om door kristallisatie en herkristallisatie bij een temperatuur van -60° Celsius een zuiver product, bestaande uit rosetten van gele kristallen, te krijgen, met een smeltpunt van -20° Celsius.

In hetzelfde jaar hebben talrijke andere onderzoekers zich met dit onderwerp beziggehouden. Nieuwe en betere concentratiemethoden werden beschreven, nog niet bekende chemische eigenschappen van het vitamine werden bekend gemaakt. Vele publicaties over de structuur van de antihæmorrhagische stof verschenen zowel in Amerika als in Europa. Het ligt niet in de lijn van dit werk om er diep op in te gaan, maar genoeg zij het, om in vogelvlucht den vooruitgang van het onderzoek en de vondsten, in 1939 en 1940 gedaan, te bespreken.

Tot 1939 is men bij de zuiveringspogingen van het vitamine K steeds uitgegaan van plantaardige stoffen. Men gebruikte daarvoor voornamelijk het Alfalfa. De grootste moeilijkheid was steeds, om het vitamine te scheiden van andere in lipoid-oplosbare substanties. Men heeft daarom naar andere bronnen gezocht, waaruit het vitamine K gemakkelijker te extraheeren was. Al gauw vond men, dat rottend vischmeel zich uitstekend daarvoor leende. Hieruit gelukte het aan Mc. Kee, Mc. Corquodale, Binkley, Thayer en Doisy in 1939 een lichtgele, kristallijne stof af te zonderen, die een duidelijke vitamine K-werking bezat. Deze stof had een smeltpunt van $53,5-54,5$ graden C. en een sterkte van 600 eenheden per milligram. Later bleek, dat dit preparaat niet geheel identiek was met het vitamine uit de groene planten. De zuivere stof uit de laatste, bereid met dezelfde methode, had

een smeltpunt van 62—63 graden en een potentie van 1000 eenheden per milligram. Het was dus bijna 2 keer zoo sterk als het preparaat, uit bedorven vischmeel bereid. Men noemt de stof, uit groene planten verkregen, dan ook vitamine K 1 en de factor uit rottend vischmeel vitamine K 2.

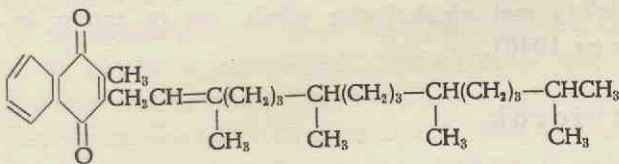
Beide stoffen hebben vrijwel dezelfde ultraviolette absorptiespectra, met scherpe maxima op 243, 249, 260 en 270 $m\mu$ en een breeden, maar minder intensieven band in de streek van 310 tot 340 $m\mu$ met een maximum op 328 $m\mu$.

Beide zuivere stoffen en andere minder zuivere concentraten worden gemakkelijk door lichtinwerking vernietigd. De activiteit wordt verder ook teniet gedaan door broom en door verzeepingsmiddelen.

Door onderzoek van de absorptiespectra is men langzamerhand ook achter de chemische structuur van het vitamine K gekomen.

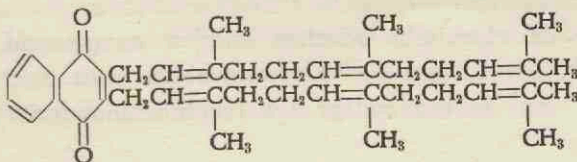
Ewing, van der Belt en Kamm kwamen in 1939 na vele onderzoekingen tot de conclusie, dat de vitaminen K 1 en K 2, derivaten moesten zijn van het 2.3.dimethyl-naphtochinon. Eenigen tijd later konden Mc. Corquodale, Cheney, Binkley, Holcomb, Mc. Kee, Thayer en Doisy vaststellen, dat het vitamine K identiek moest zijn met het 2 methyl—3 phetyl—1.4. naphtochinon. Dit is later door synthetische proeven bevestigd geworden.

Vitamine K 1.



De chemische formule van het vitamine K 2 is nog niet geheel vastgesteld. Fieser (1940) stelt zich de formule van het K 2 als volgt voor:

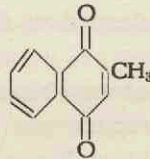
Vitamine K 2 (suggested form.).



Behalve deze beide natuurlijke vitamine K-preparaten bleken vele andere, ook synthetische naphtochinon-derivaten, in meerdere of mindere mate een vitamine K-werking te bezitten. Hierover hebben vooral gewerkt *Almquist* en *Klose* in 1939, *Ansbacher* en *Fernholz* in 1939, *Fieser* en medewerkers, *Thayer* en medewerkers, ook in 1939.

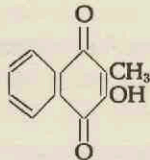
Bijzonder sterk werkzaam bleek het 2 methyl—1.4. naphtochinon te zijn. De potentie bedroeg 25 Millioen Dam-eenheden per gram.

2 Methyl. 1. 4. naphtochinon.



In 1933 hebben *Anderson* en *Newman* uit het pigment van den humanen tuberkelbacil een kristallijne substantie weten af te zonderen, die een smeltpunt had van 173—174 graden C. Dit was het z.g. Phthiocol. In verband met de bacteriële vorming van vitamine K in de natuur, is zeer belangrijk te weten, dat *Almquist* en *Klose* in 1939 vonden, dat het Phthiocol ook een geringe vitamine K-werking bezit. Interessant is het, dat het blijkbaar mogelijk is om vitamine K door middel van voorzichtige behandeling met alcoholische alkali, om te zetten in Phthiocol. (*Fieser* 1940).

Phthiocol.



Zoodra de chemische reacties hadden aangetoond, dat het vitamine K een Chinon-derivaat was, begon men direct met het onderzoek van de eenvoudige 1.4. Naphtochinonderivaten en al

gauw bleek, dat verschillende daarvan een anti-haemorrhagische activiteit bezaten.

In 1939 toonden *Ansbacher* en *Fernholz* aan, dat het 2 methyl—1.4 Naphtochinon dezelfde activiteit bezat als het natuurlijke vitamine K. Om een indruk te krijgen van de talloze werken die men over dit synthetische preparaat heeft geschreven, zullen wij hieronder de voornaamste daarvan in het kort bespreken.

Het werk van *Bacharach* en *Fernholz* werd in 1939 al gauw gevolgd door mededeelingen van *Macfie*, *Bacharach* en *Chance* over de activiteit van het 2 methyl 1.4 Naphtochinon en over de klinische waarde daarvan. Ook zij vonden bij hun proeven op kuikens, dat het synthetische preparaat de volle activiteit bezat van het natuurlijke product. In verband met de moeilijkheid om een stabiel standaardpreparaat met een grote vitamine K-activiteit te vinden, hebben *Thayer* en medewerkers reeds eerder voorgesteld om het 2 methyl 1.4. Naphtochinon voor die doeleinden te gebruiken.

Macfie en medewerkers hebben nu een methode trachten uit te werken om deze standaardwerking op kuikens vast te stellen. De moeilijkheid was, dat men bij dezelfde dosis van het preparaat toch steeds varierende uitkomsten kreeg. Deze moeilijkheid is echter niet te vermijden, zoolang men gebruik moet maken van biologische onderzoekmethoden. Niet alle proefdieren (kuikens) zullen immers op dezelfde wijze op eenzelfde dosis van het medicament reageren.

Macfie en medewerkers hebben het 2 methyl—1.4. Naphtochinon ook op patiënten geprobeerd. Zoowel oraal met gal als parenteraal werkte het preparaat met succes.

Butt, *Snell* en *Osterberg* vonden in 1939, dat het effect van een intramusculaire injectie van een vitamine K-concentraat (Alfalfa in aardnotenolie) bij patiënten niet buitengewoon was. In tegenstelling daarmee vonden *Macfie* en medewerkers, dat het synthetische preparaat, ook intramusculair toegediend, een buitengewoon sterke werking had. In 4 gevallen van afsluitingsicterus met lage prothrombinewaarden konden zij met het synthetisch preparaat binnen 2 dagen mooie successen boeken. In 1 geval zelfs binnen 12 uren. Het betrof een man van 55 jaar met een icterus en een prothrombinegehalte in het plasma van 39 %. Om 9 uur 's ochtends

kreeg hij 10 mg. 2 methyl—1.4. naphtochinon intramusculair en den volgenden dag om 9 uur was het prothrombinegehalte reeds gestegen tot 78 %.

Flynn en Warner (1940) hebben bij hun onderzoek over de minimaal benoedigde hoeveelheid vitamine K voor ratten ook gebruik gemaakt van synthetische preparaten en wel van het phthiocol in een 2 % oplossing en van 2. methyl—1.4. Naphtochinon (200 gamma in 100 cc), beide opgelost in een isotonische fosfaatbufferoplossing met een P_H 7,2. Een rat met een prothrombinegehalte van 16 % werd 2 dagen lang met 1 mg. Phthiocol per dag intraperitoneaal behandeld. Op den tweeden dag bedroeg het prothrombinegehalte reeds 47 % en op den derden dag 91 %. Talrijke dieren hebben zij met 0,5 mg. Phthiocol behandeld en uit het feit, dat zij soms een duidelijke vermeerdering van het prothrombine zagen en soms niet, concludeerden zij, dat ruwweg men kon aannemen, dat ratten 0,5 mg. Phthiocol per dag nodig hebben om het prothrombinegehalte op peil te houden. Met minder dan die hoeveelheid valt het prothrombinegehalte meestal onder de veiligheidszône. Voor het 2. methyl—1.4. Naphtochinon vonden zij, dat een hoeveelheid van niet grooter dan 2 gamma, op 2 opeenvolgende dagen gegeven, voldoende was om een complete verbetering te geven van het prothrombinegehalte binnen 48 uren. Een grootere dosis van 20 gamma, 1 maal intraperitoneaal gegeven, doet het prothrombinegehalte van een rat met 5 % van de stollingsfactor binnen 24 uur stijgen tot 81 %. Deze verbetering hield echter niet lang aan. Binnen 3 dagen was het prothrombinegehalte in het bloed weer gezakt tot 20 %.

Dus K-avitamineuze ratten kan men met kleine hoeveelheden antihæmorrhagische stoffen beter maken, maar een depôtvorming van het vitamine K is moeilijker te bewerkstelligen.

Rhoads en Fliegelman (1940) waren enkele van de velen, die aantoonde, dat het 2 methyl—1.4. naphtochinon de grootste vitamine K-activiteit bezat van alle chinonderivaten en zelfs beter werkte dan het natuurlijk product. Patiënten met een afsluitingsicterus en lage prothrombinewaarden, die niet reageerden op het natuurlijke vitamine K en op andere preparaten, bleken vaak wel te reageren op het 2 methyl 1.4. naphtochinon. Dit feit werd ook door vele andere onderzoekers bevestigd: Ansbacher—

Fernholz, Almquist—Klose, Thayer en medewerkers.

Andrus en Lord (1940) gaven sinds een half jaar geregeld met succes aan hun patiënten met een afsluitingsicterus intramusculair 5—10 mg. 2 methyl 1.4. Naphtochinon, opgelost in Corn-olie. Voor kinderen waren hoeveelheden van 0,35—1 mg. voldoende.

Zij gingen bij de toepassing van het anti-haemorrhagische vitamine volgens een schema te werk. Alle patiënten met prothrombine, minder dan 70 %, kregen dadelijk 2 mg. van het synthetische preparaat intramusculair ingespoten en het prothrombinegehalte werd na 24 en na 48 uur bepaald. Bleef het gehalte nog steeds beneden de 70 %, dan werd de injectie herhaald, dus om de 2 dagen, totdat het prothrombinegehalte weer normaal is geworden. Meestal waren 2—3 injecties voldoende, mits de leverfunctie niet te zwaar was beschadigd. Toxische verschijnselen van het synthetische preparaat hebben zij in deze doseeringen niet gezien.

Bij 28 patiënten bedroeg de gemiddelde toename van het prothrombinegehalte na 1 injectie van 2 mg. ongeveer 48 % en effect was vaak na 8 uren reeds te zien.

Thayer, Mc. Kee, Binkley en Doisy (1940) hebben, behalve het bevestigen van de sterk antihemorrhagische werking van het 2 methyl 1.4. Naphtochinon, ook aangetoond, dat het natuurlijke vitamine K 1 ongeveer half zoo potent was als het synthetische preparaat, bij het onderzoek volgens de curatieve methode en met een observatieduur van 18 uren. Bij een observatieduur van 6 uren was de activiteit van het vitamine K 1 slechts het $\frac{1}{30}$ gedeelte van die van het 2 methyl 1.4. Naphtochinon.

Kark en Souter (1940) bestudeerden de vitamine K-activiteit van een in water oplosbaar derivaat van het 2 methyl—1.4. Naphtochinon, die zij intraveneus of intramusculair aan 18 patiënten met een hypoprothrombinaemie toedienden. Negen maal vonden zij een snelle stijging van het prothrombine in het bloed na de inspuiting van het medicament. Zij zagen geen toxische werking van het preparaat. In drie gevallen was er tevens vóór de behandeling een actieve bloeding aanwezig, die echter binnen enkele uren na de toediening van het vitamine K-preparaat kon worden gecontroleerd. De patiënten, die niet reageerden op het antihemorrhagisch preparaat, hadden een flink beschadigde leverfunctie.

Kark en Souter meenden, dat in de toekomst waarschijnlijk aan alle icteruspatiënten vóór de operatie, bij wijze van routine, vitamine K of een derivaat daarvan zal worden toegediend, hoewel dit niet altijd een garantie beteekent voor een vermeerdering van het prothrombine in het bloed tot binnen de normale grens. In dit laatste geval blijft slechts bloedtransfusie over om deze stollingsfactor in het bloed te vermeerderen.

Daar de bereiding van het natuurlijke vitamine K een vrij ingewikkeld en daardoor duur proces is, is men sinds geruimen tijd hiervan afgestapt en worden tegenwoordig in den handel bijna uitsluitend synthetische preparaten gebracht. Zoo vervaardigt de Nederlandsche N.V. Organon te Oss, het B. methyl 1. 4. Naphtochinon, in den handel gebracht onder den naam Davitamon K. Deze synthetische stof is echter ook alleen in olie oplosbaar. Andere preparaten zijn het „Klotogen" (vitamine K in olie) uit de Abbott Laboratories in North Chicago en het „Cerophyl" (vitamine K uit cerealgrass) in poedervorm uit de Cerophyl Labor. in Kansas City. Dit zijn natuurlijke, plantaardige producten.

De rij van synthetische preparaten werd voorloopig besloten met de in water oplosbare producten. De voordeelen hiervan zijn, dat zij zeer geschikt gemaakt kunnen worden voor intraveneuze toediening en dat men voor de orale therapie bij afsluitingsicterus geen extra gal behoeft te geven, wat wel noodig is voor de olieachtige preparaten (zie volgend hoofdstuk).

Ook is er een groot aantal patiënten, die geen pillen kunnen slikken en vaak misselijk worden als zij de gal innemen. Daarom was het wenschelijk om een verbinding te vinden, die in water oplosbaar is en tevens een groote vitamine K-activiteit vertoont.

Onderzoekingen van deze in water oplosbare verbindingen brachten in 1939 Thayer, Binkley, Mac Corquodale, Doisy, Emmet, Brown en Bird tot de ontdekking van het 1. 4. Dihydroxy 2 methylnaphtaleen. De potentie daarvan was bijna gelijk aan die van het 2 methyl 1. 4. Naphtochinon, maar de oplosbaarheid van het eerste in zoutoplossing was te gering om het in bruikbare hoeveelheden bij patiënten te kunnen gebruiken. Het onderzoek werd voortgezet en men ontdekte spoedig het beter oplosbare 4 amino 2 methyl Naphtholhydrochloride. (Doisy, Mc. Corquodale, Thayer, Binkley en Mc. Kee in 1939)

Door déaminisatie werd verkregen het 1. 4. Dihydroxy 2 methyl Naphthaleen, dat een groote vitamine K-activiteit bezat.

Ook deze in water oplosbare verbindingen heeft men reeds herhaalde malen in de kliniek met succes gebruikt.

Richert, Thayer, Mc. Kee, Binkley en Doisy hebben in 1940 enkele reeds bekende, in water oplosbare vitamine K-preparaten op de werkzaamheid bij kuikens vergeleken. Als standaard voor de antihæmorrhagische werking namen zij de potentie van een bepaalde hoeveelheid 2 methyl 1. 4. Naphtochinon.

Onderzocht werden de volgende stoffen:

1. 4. Dihydroxy 2 methylnaphthaleen monosuccinaat.

4 amino 2 methyl 1 Naphthol.

4 amino 3 methyl 1 Naphthol.

Dikalium 1. 4. Dihydroxy 2 methylnaphthaleen disulfaat.

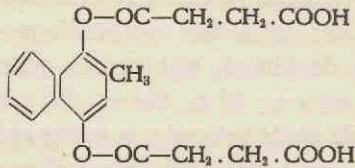
Daarbij bleek, dat bij intraveneuze inspuiting van bovengenoemde stoffen in gelijke gewichtshoeveelheden, berekend op basis van het moleculair gewicht, de potentie van de drie eerstgenoemde preparaten practisch gelijk is aan die van het standaardpreparaat 2 methyl 1. 4. Naphtochinon. De vierde verbinding had ongeveer $\frac{1}{6}$ gedeelte van de standaard-activiteit.

Warner en Flynn (1940) toonden aan, dat het in water oplosbare Dikalium 1. 4. Dihydroxy 2 methylnaphthaleen disulfaat, met en zonder gal aan patiënten toegediend, precies dezelfde goede resultaten gaf.

Men heeft tegenwoordig nog talrijke andere synthetische, in water oplosbare, preparaten kunnen bereiden, die alle een groote vitamine K-activiteit kunnen uitoefenen.

Dergelijke verbindingen, in den handel verkrijgbaar, zijn het in water oplosbare 2 methyl 1. 4. naphtohydrochinon-disulfaatnatrium van de N.V. Organon, ook genoemd Davitamon K en het Synkavit van F. Hoffmann—La Roche & Co. A.G. te Bazel. Dit preparaat is in tabletvorm en voor parenterale toediening in ampullen verkrijgbaar.

Synkavit.



2 methyl-1.4.Bisuccinyl-napthohydrochinon.

Van praktisch belang is natuurlijk ook de groote stabiliteit van de synthetische preparaten, in tegenstelling met de olieachtige natuurlijke vitamine K-preparaten, die b.v. gevoelig zijn voor lichtinwerking.

Verder heeft men nu een einde kunnen maken aan de verwarring over de aanduiding van de potentie van een preparaat. De synthetische producten kan men aangeven in milligrammen, terwijl de sterkte van de natuurlijke preparaten moest worden uitgedrukt in Eenheden per gram of per cub. cm. En juist de definities over een Eenheid waren lang niet eensluidend. Een uniformiteit op dit gebied bestond er niet en vele onderzoekers hadden hun eigen opvatting over een Eenheid. Eén van de eersten was de *Dam-eenheid*. Dit is de kleinste dosis van een bepaald vitamine K-standaardpreparaat, die per gram lichaamsgewicht, gegeven aan een zwaar K. avitamineus kuiken, in staat is om in 3 opeenvolgende dagen de bloedstolling normaal te doen worden.

Als standaardpreparaat namen *D a m* en *G l a v i n d* een speciaal uitgezochte en op een uniforme wijze gedroogde soort spinazie. Dit werd dan verpulverd, in tabletten à 250 mg. geperst en bij een temperatuur van 3 graden C. bewaard. 1 gram van dit standaardpreparaat bezit precies 500 *Dam-eenheden*. Dus wanneer 1 Eenheid = 2 mg. van dit materiaal, per gram lichaamsgewicht, dagelijks aan een zwaar K-avitamineus kuiken wordt gegeven, dan zal na 3 opeenvolgende dagen de bloedstolling van het dier normaal worden.

Later namen *D a m* en *G l a v i n d* in plaats van spinazie een speciaal toebereid Alfalfaextract, dat geruimen tijd houdbaar was, als standaardpreparaat.

A n s b a c h e r kwam in 1939 met een eigen definitie. Als 1 Een-

heid nam hij aan de minimum hoeveelheid vitamine K, die noodig is om de bloedstolling van een K-avitamineus kuiken van 70—100 gr. lichaamsgewicht, binnen 6 uren na de toediening normaal te doen worden.

1 Eenheid van Ansbacher is equivalent aan 20 Dam-eenheden.

Thayer en zijn medewerkers (1939) definieerden een Eenheid op de volgende manier: 1 Eenheid is die hoeveelheid vitamine K, die een stollingstijd van 10 minuten of minder veroorzaakt in 50 % van een groep van 10 of meer kuikens, die 14 dagen lang gevoed zijn (te beginnen dadelijk na ontvangst van de boerderij) met een praktisch vitamine K-vrij dieet. Deze Eenheid komt ongeveer overeen met 13 Dam-eenheden.

1 mg. vitamine K 1 bedraagt ongeveer 1000 Thayer-eenheden.

1 mg. vitamine K 2 bedraagt ongeveer 600 Thayer-eenheden.

Almquist, Mecchi en Klose (1938) hebben ook nog een onderzoekmethode ontworpen om de vitamine K-werking te kunnen beoordelen. Zij maakten bezwaren tegen de definitie over een Eenheid van Thayer en medewerkers, daar Almquist, Mecchi en Klose gevonden hebben, dat de bloedstolling bij kuikens, behalve van de vitamine K-reserve en het vitamine K-gehalte in de voeding, ook afhankelijk is van en varieert met den leeftijd van de dieren. Zij toonden aan, dat kuikens met een lage vitamine K-reserve (geboren uit kippen, die geen extra vitamine K in de voeding hebben gehad), die gezet worden op een K-arm dieet, een maximaal verlengden stollingstijd hebben wanneer zij 2 weken oud zijn. Zij stelden dan ook voor een standardisatie van den leeftijd en vitamine K-reserve van de proefkuikens. Zij vonden met deze methode, dat "The reciprocal of the bloodclotting time is a simple linear function of the logarithm of the vitamin K-level in the ration, over a practical range of values". Als standaard-preparaat gebruikten zij een hexane-extract van Alfalfa, waarbij 1 cc. equivalent is met 1 gr. gedroogd Alfalfa.

Wij zien dus, dat er geen overeenstemming bestond over de definitie van 1 Eenheid en over de beste onderzoekmethode. Butt en Snell schreven in 1939 in een rapport over het vitamine K-onderzoek aan The Council on Pharmacy and Chemistry, dat zij van meening waren, dat elke poging om een algemeene Eenheid

van vitamine K-werking in te voeren, zeer weinig kans maakte om alle onderzoekers tevreden te stellen.

Nu wij beschikken over stabiele en sterk werkende synthetische vitamine K-preparaten, is het rationeeler om de werking van een dier stoffen te gebruiken als standaard. Da m beveelt wegens de zeer groote houdbaarheid aan het diacetaat van 2 methyl-1.4. naphtho-hydrochinon voor deze doeleinden te gebruiken.

HOOFDSTUK III.

KLINISCHE WAARDE VAN HET VITAMINE K.

Het gebruik van het vitamine K in de menselijke pathologie werd voor de eerste maal door Quick in 1937 geïntroduceerd, die op theoretische gronden het gebruik daarvan bij den afsluitingsicterus voorstelde. Helaas nam hij zelf toen geen directe proeven om de waarde van zijn voorstel te staven. Hij beschreef integendeel in 1938 een geval van icterus bij een 55-jarige vrouw, die onderhuidse bloedingen vertoonde, later verschillende malen bloed braakte, bloederige urine en ontlasting kreeg en niet op een therapie met Alfalfa reageerde. Deze patiënte had echter niet uitsluitend een afsluitingsicterus, maar ook verschijnselen, die wezen op het bestaan van een zware leverbeschadiging.

Het was immers reeds eenigen tijd bekend (sinds het werk van Quick in 1935) dat er bij den afsluitingsicterus heel vaak een hypoprothrombinaemie kan optreden, die zelfs leiden kan tot uitgebreide haemorrhagieën (zie inleiding). Ook Smith en medewerkers, Hawkins en Brinkhous, Dam en medewerkers, Butt, Snell en Osterberg, enz., te veel om op te noemen, hebben later de bevindingen van Quick over de oorzaak van de haemorrhagische diathese bij den icterus door klinische waarnemingen en dierproeven bevestigd.

De suggestie van Quick in 1937 werd gevolgd door talrijke studies over het verband van het vitamine K en den afsluitingsicterus.

Quick zelf heeft in 1937 een hypothese opgesteld, waarom er bij een afsluitingsicterus een K-avitaminose kan optreden. De icteruspatiënt vertoont volgens hem alle condities voor de ontwikkeling van een vitamine K-deficientie. De patiënten nemen meestal

uit zichzelf reeds weinig vet tot zich, omdat vette spijzen hen tegenstaan en als zij onder medische behandeling komen, wordt hun meestal automatisch vet verboden. Belangrijker is echter, dat er bij een afsluitingsicterus geen gal in den darm komt, zoodat de slechte vertering en resorptie van vette substanties aanleiding kunnen geven tot een deficientie van de in vet oplosbare stoffen. Dus ook het vitamine K wordt slecht of niet geresorbeerd, zoodat er een zoodanige vermindering van de depôts kan optreden, dat de aanmaak van het prothrombine in het gedrang komt. Dat de afwezigheid van gal in den darm aanleiding kan geven tot een tekort aan prothrombine in het bloed, is nu wel door proeven in de kliniek en op dieren genoeg aangetoond. Hawkins en Whipple in 1935, Hawkins en Brinkhous in 1936, Greaves en Schmidt in 1937, Warner, Brinkhous en Smith en nog talrijke anderen hebben daarover belangrijk werk verricht (zie hoofdstuk over haemorrhagische diathesen).

Wij zijn nu echter gekomen tot de beantwoording van mijn tweede vraag, die ik aan het einde van het 1e hoofdstuk heb gesteld, n.l.: Wat is de essentiele factor voor den prothrombine-aanmaak? Wordt ze door de gal zelf geproduceerd of speelt de gal slechts een rol bij de resorptie van die factor?

Het is mogelijk aan te nemen, dat er in de gal zelf stoffen zijn, die bevorderend werken op de vorming van het prothrombine. Bij den icterus hebben wij immers in het bloed en in alle weefsels een teveel aan galproducten, terwijl het prothrombinegehalte juist in deze gevallen verminderd blijkt te zijn. Wel zou men zich kunnen voorstellen, dat de overmaat aan galzuren en galkleurstoffen een vernietigende werking heeft op het prothrombine of op de vorming daarvan. Inderdaad lukt het om met gal in vitro de bloedstolling te vertragen, maar proeven hebben het zeer onwaarschijnlijk gemaakt, dat er in het levend menschelijk lichaam dezelfde verhoudingen kunnen optreden, waardoor de bloedstolling zou kunnen worden beïnvloed (zie 1e hoofdstuk).

Vermoedelijk speelt dus de gal alleen een rol bij de resorptie van een essentiele factor voor de prothrombinevorming. Deze factor blijkt dan te zijn het vitamine K, dat normaal in de vette substanties van onze voeding voorkomt. Talrijke werken over dierproeven en proeven in de kliniek zijn in de laatste jaren over dit

vraagstuk verschenen. De belangrijkste daarvan zullen wij in het kort de revue laten passeeren.

Greaves en Schmidt (1937) waren de eersten, die het vitamine K met goede resultaten bij dierproeven gebruikten. Zij vonden, dat zoowel toediening van gal (rundergal) als toediening van Alfalfa met gal bij ratten met een galfistel, een duidelijke en snelle stijging van het prothrombinegehalte in het bloed teweegbrachten. Wanneer het vitamine K zonder gal werd gegeven, werd het practisch niet geresorbeerd. Alleen bij zeer hoge doseeringen was er nog eenige opname door de darmen mogelijk. Het is heel jammer, dat Greaves en Schmidt niet hebben nagegaan of er nog een verschil bestond in effectiviteit tusschen de therapie met uitsluitend gal en met de toediening van vitamine K plus gal.

In 1939 heeft Greaves dit echter wel nader bekeken. Wanneer hij aan icterische ratten (icterisch gemaakt door onderbinding van de ductus choledochus) of aan ratten met een galfistel, uitsluitend gal toediende, dan zag hij weinig effect, in tegenstelling met een vitamine K-plus galtherapie. Het geringe, maar toch duidelijk aanwezige effect van de therapie met uitsluitend gal, kan misschien worden verklaard door het feit, dat er in het darmstelsel van de ratten steeds vitamine K wordt gevormd door de aanwezige bacteriën. Zodoende zal er toch nog wat antihæmorrhagische factor worden opgenomen. En misschien bevat gal zelf een geringe hoeveelheid vitamine K. Verdere studies van Greaves in 1939 toonden aan, dat dit inderdaad het geval is.

In Januari 1938 verscheen de eerste publicatie over de succesvolle behandeling van patiënten met vitamine K.

Warner, Brinkhous en Smith beschreven daarin 3 gevallen van afsluitingsicterus bij patiënten met een vrij laag prothrombinegehalte in het bloed, die in korten tijd door behandeling met gal en een Alfalfa-extract weer de normale prothrombinewaarden kregen. Zij vonden, dat deze gecombineerde therapie zeker sneller werkte dan een galvoeding alleen.

Spoedig na deze publicatie volgden de berichten over de goede werking van het vitamine K in de menschelijke pathologie elkaar op.

Dam en Glavind beschreven drie gevallen van afsluitingsicterus bij patiënten, bij wie zij voor het eerst vitamine K toepasten.

Eén geval van afsluitingsicterus door kanker, vertoonde vlak vóór

de vitamine K-therapie een groote R-waarde van 5,6. De waarde R. is een maat voor de stollingsanomalie van het bloed, die door Dam en Glavind op een bepaalde wijze wordt berekend (zie hoofdstuk over Onderzoekmethoden). Patiënt kreeg drie dagen achtereen intramusculair 15 mg. van een bepaald vitamine K-concentraat, dat een sterkte had van 3000 Dam-eenheden per mg. Op den vijfden dag bedroeg R. = 1,3 en op den zevenden dag was de waarde R. nog meer gezakt, tot 1,2. Normaal bedraagt R. = 1.

Een ander geval van carcinoom en afsluitingsicterus had een R. waarde van 78. Deze patiënt kreeg vijf dagen lang 15 mg. van het vitamine K-concentraat intramusculair. Op den zesden dag bedroeg de waarde R. = 1,4.

Het derde geval was eveneens een afsluiting door kanker met een R. waarde van 33. Patiënt kreeg intramusculair 45.000 Eenheden per dag. Op den vijfden dag was R. = 4 en op den zevenden dag bedroeg de waarde 2,8.

Door deze goede resultaten met de parenterale toediening van het vitamine kwamen onderzoekers tot de veronderstelling, dat de vitamine K-therapie binnenkort de oude galtherapie wel zou vervangen.

Butt, Snell en Osterberg waren in hun publicaties niet minder enthousiast. In 1938, in één van de vele „Meetings” van de Mayo Clinics, droegen zij 18 gevallen van afsluitingsicterus voor, die met vitamine K en gal werden behandeld. Na de moeilijkheden besproken te hebben, waarmee zij te kampen hadden om het beste preparaat, de doseering van het nieuwe medicament en de beste wijze van toediening uit te zoeken, toonden zij de enorme waarde van het vitamine K aan bij de prophylaxe van postoperatieve bloedingen en om het prothrombinedeficit bij den afsluitingsicterus binnen zeer korten tijd aan te vullen. Gaven zij aan de patiënten uitsluitend vitamine K, zonder gal, dan zagen zij daarvan totaal geen invloed op het lage prothrombinegehalte in het bloed, terwijl bij omschakeling op het vitamine K plus gal, het prothrombinegehalte binnen 24 uur normaal werd. Butt, Snell en Osterberg zagen echter tevens de goede werking van gal alleen bij hypoprothrombinaemie van den afsluitingsicterus. Een patiënt, die vóór de operatie een prothrombinestollingstijd had van 45 sec.

(Quick), kreeg uitsluitend gal naast een algemeen dieet. Binnen 2 dagen bedroeg deze stollingstijd 22 sec. Na de operatie bleef het prothrombinegehalte normaal.

Enkele maanden later gaven Butt, Snell en Osterberg verdere gegevens over hun onderzoekingen van het vitamine K in de kliniek. Hoewel men toen het vitamine K nog niet in chemisch zuiveren vorm kende en dus niet wist welke andere stoffen de Alfalfaconcentraten, die misschien ook invloed hadden op het prothrombine, konden bevatten, stond het onomstootelijk vast, dat vitamine K-concentraten in staat waren om effectief de haemorrhagische diathese in gevallen van icterus te voorkomen en te genezen.

Ook in 1939 hebben Butt, Snell en Osterberg een nauwkeurig en systematisch werk geschreven over de enorme waarde van het vitamine K bij de haemorrhagische diathese van den afsluitingsicterus en vooral voor de contrôle van postoperatieve bloedingen daarvan.

Smith, Ziffren, Owen en Hoffman (1939) beschreven een geval van een man van 70 jaar met een afsluitingsicterus door een galsteen, als typisch voorbeeld van een effectieve vitamine K-werking.

Vóór de operatie bedroeg het prothrombinegehalte in het bloed van den patiënt 78—62 %, dus ruim binnen de niet gevaarlijke zône. Patiënt werd twee achtereenvolgende dagen vóór de ingreep behandeld met 300 gr. Alfalfa en 30 cc. van een 2 % galoplossing per dag. Geen vitamine K werd na de operatie toegediend. Zes dagen post-operationem trad een bloeding op uit de wond. Weer werden hem vitamine K en galzure zouten toegediend, waardoor binnen twee dagen de bloeding tot staan kwam en binnen vijf dagen het prothrombine van 22 % steeg tot 95 %.

Stewart (1939) vond met de methode van Warner, Brinkhous en Smith voor het bepalen van het prothrombinegehalte in het bloed, dat de frequentie van het aantal gevallen van afsluitingsicterus, waarbij het prothrombine in het bloed is verminderd, opmerkelijk groot is. Slechts één geval trof hij tijdens dit onderzoek aan, waarbij een icterus, die langer bestond dan een week, niet gevolgd werd door een prothrombinewaarde van minder dan 84 %. In dit geval bleek de afsluiting niet geheel compleet te zijn en de eetlust van den patiënt niet verminderd.

Bij 13 patiënten, waarvan er 12 bij den afsluitingsicterus nog verschillende graden van leverfunctiebeschadiging hadden (bepaald door middel van verschillende leverfunctieproeven) en 1 met een postoperatieve externe galfistel, ging Stewart de reactie van het prothrombine na op een vitamine K-therapie. Bij toediening van de antihæmorrhagische factor gedurende 1 tot 6 dagen bedroeg de prothrombinestijging gemiddeld 32,8 %.

Hierbij bleek ook, dat, hoe grooter de leverbeschadiging was, hoe minder uitgesproken de stijging van het prothrombine optrad. Er was verder geen correlatie tusschen den graad van prothrombinevermindering en het plasmabilirubinegehalte.

De conclusie van Stewart was dan ook o.a., dat toediening van vitamine K en galzure zouten leidt tot restauratie van het plasmaprothrombine en contrôle van de hæmorrhagische diathese bij den afsluitingsicterus. Deze restauratie hangt echter af van de functioneele capaciteiten van de lever en van de resorptie van het vitamine K door de darmen.

Tidrick, Joyce en Smith hebben in 1939 een aanvullend onderzoek gedaan over het antihæmorrhagische vitamine. Tot nog toe waren er slechts 2 biologische methoden om de vitamine K-werking van bepaalde materialen te onderzoeken, n.l. de preventieve en de curatieve methode. Daarbij bestonden echter geen gegevens over het verband tusschen het prothrombinegehalte en den stollingstijd van het totale bloed. Tidrick en medewerkers vonden, dat kuikens, die een vitamine K-vrij dieet kregen, een duidelijk verlengden stollingstijd van het totale bloed vertoonden, wanneer het prothrombinegehalte in het plasma ongeveer 30 % bedroeg. Bij 10 % traden daarbij vrijwel altijd bloedingen op. Ook toonden zij aan, dat een flinke dosis vitamine K binnen 6 uren het prothrombinetekort weer geheel normaal kon doen worden. Kleinere doseringen waren minder effectief, maar zij waren bijna altijd in staat om in 18 uren een volledige verbetering van het prothrombinegehalte bij de kuikens te veroorzaken.

Flynn en Warner hebben in 1940 bij hun onderzoekingen over de werking van synthetische preparaten nogmaals den invloed van een vitamine K vrij dieet bij zoogdieren nagegaan. Het was reeds eerder aan Greaves in 1939 niet gelukt om bij ratten door middel van vitamine K-onthouding in het voedsel, een

haemorrhagische diathese teweeg te brengen, wel als hij tevens de ductus choledochus van de dieren afbond.

Flynn en Warner gaven aan ratten gedurende 7—8 weken totaal geen vitamine K, waarna zij bij de diertjes de galafvoerbuis afbonden. Ook hier bleek, dat het niet mogelijk was om in de eerste 7—8 weken het prothrombine ver beneden het normale gehalte te doen vallen. Na afbinding van de ductus choledochus traden prompt bloedingen op en wel meestal binnen 72 uren na de operatie. Het prothrombinegehalte van de ratten bedroeg dan gemiddeld 10—25 %. Bij 10 % prothrombine traden er zonder uitzondering bij alle ratten bloedingen op, terwijl bij een gehalte van 20—25 % wel heel dikwijls, maar niet altijd, een haemorrhagische diathese ontstond. Intraperitoneale of intraveneuze toediening van vrij kleine hoeveelheden vitamine K deed het prothrombinegehalte bij de dieren binnen 2 dagen weer normaal worden.

In het kort hebben wij hier de voornaamste werken, die sinds 1937 uitgegeven zijn, aangehaald, maar het aantal verschenen publicaties is legio.

Nog talrijke andere onderzoekers hebben de groote waarde van het vitamine K voor den afsluitingsicterus en vooral voor de zoo gevreesde nabloedingen bij operaties aan de lever en de galwegen aangetoond. Het heeft weinig zin om alle daarover verschenen werken op te noemen, daar alle meeningen over het vitamine K eensluidend gunstig zijn.

Samenvattend kunnen wij zeggen, dat men tot de volgende conclusies over de antihaemorrhagische factor is gekomen:

In gevallen, waarbij in het bloed een prothrombine-tekort bestaat b.v. door afwezigheid van gal in den darm (galfistel, afsluitingsicterus) blijkt het vitamine K een stijging van het prothrombinegehalte te kunnen veroorzaken. De gecombineerde toediening van het natuurlijke vitaminepreparaat met gal werkt beter dan gal of vitamine K alleen. De vitamine K-therapie zal weinig of geen effect hebben, indien er ook een belangrijke beschadiging van de leverfunctie bestaat.

Hiermede zijn wij dan gekomen tot de bespreking van een ander essentieel punt voor de goede werking van het vitamine K, n.l. het verband tusschen de lever en de antihaemorrhagische factor.

Men neemt immers op zeer goede gronden aan, dat de vorming

van het prothrombine hoofdzakelijk in de lever plaats vindt, in ieder geval is een goede leverfunctie noodzakelijk voor een normalen aanmaak van deze stollingsfactor (zie hoofdstuk I).

Daar men nu weet, dat het vitamine K een essentiële factor is bij de vorming van het prothrombine, is het ook logisch om aan te nemen, dat voor een goeden aanmaak van de stollingsfactor noodig zijn een adaequate hoeveelheid vitamine K en een goede leverfunctie.

Door talrijke dierproeven en waarnemingen in de kliniek heeft men de noodzakelijkheid van een goede leverfunctie bij een effectieve vitamine K-werking kunnen aantonen.

Brinkhous, Smith en Warner (1938) hadden onder hun overigens met vitamine K succesvol behandelde patiënten 2 gevallen, die totaal niet op een Alfalfatherapie reageerden. Beide patiënten hadden echter ook verschijnselen, die op de aanwezigheid van een flinke leverfunctiestoornis wezen. De een bleek een biliaire cirrhose te hebben en de ander talrijke carcinoommetastasen in de lever.

Stewart (1939) vond, zoals reeds eerder vermeld, bij 13 patiënten met een afsluitingsicterus en in meer of mindere mate ook een leverbeschadiging, dat, hoe grooter de stoornis was, hoe minder effectief het vitamine K werkte. Als voorbeeld beschreef hij een geval van een patiënt, die moribund in het ziekenhuis kwam met kanker van de pancreas, complete afsluiting van de ductus choledochus, oligurie, ascites, zware leverbeschadiging, enz. De patiënt kreeg 2 dagen achtereen vitamine K en gal per os. Het resultaat van deze therapie was volgens Stewart maar zeer matig, daar het prothrombinegehalte slechts steeg van 28 % tot 56,7 %. Dit resultaat zouden wij echter bevredigend willen noemen, daar de patiënt met zijn flinke leverbeschadiging, binnen 2 dagen toch van 28 % tot binnen de niet gevaarlijke zône kon komen. Er zijn immers nog talrijke betere voorbeelden bekend, waarbij het prothrombinegehalte ondanks herhaalde intraveneuze injecties van bekende, sterk werkende preparaten, geen spoor van reactie vertoont.

Stewart en Rourke publiceerden in December 1939 gegevens over de vitamine K-behandeling van patiënten met een afsluitingsicterus in het afgelopen jaar in het Massachusetts General Hospital. De methode van onderzoek, die zij gebruikten voor de prothrombinebepalingen, was die van Warner, Brink-

hous en Smith. Van enkele patiënten vertoonden zij aan de hand van typische curven de effectieve werking van het vitamine K. Verder bleek, dat, wanneer de patiënten een prothrombinegehalte van 40 % of minder hadden, zij zich dan bevonden in de z.g. gevaarlijke zône, dus waarin de meeste bloedingen, b.v. na operaties, optraden.

De groote frequentie, waarmee een prothrombinedeficientie bij den afsluitingsicterus optrad, was zeer opmerkelijk. De reactie op een effectieve vitamine K-therapie trad bij hun patiënten meestal binnen 2 tot 4 dagen op, behalve wanneer er een flinke leverbeschadiging aanwezig was. Over het algemeen konden zij zeggen, dat, hoe langer de icterus bestond, hoe grooter de leverbeschadiging en hoe grooter de prothrombinevermindering waren.

Stewart en Rourke concludeerden uit de resultaten van hun onderzoek, dat de graad van prothrombinedeficientie een betere maatstaf was voor de beoordeeling van de leverfunctiestoornis dan andere standaardfunctieproeven.

Deze uitspraak is echter niet geheel juist. De lever heeft immers talrijke functies en één daarvan is vorming van het prothrombine. Het is heel goed mogelijk, dat bepaalde leveraandoeningen enkele leverfuncties meer beschadigen dan andere. Terecht merkte Dr. Smith in één van de discussies over het vitamine K-vraagstuk op, dat de prothrombinetest, evenals geen van alle andere leverfunctieproeven, gebruikt mag worden voor de beoordeeling van de geheele leverfunctie.

Toxische werking hebben Stewart en Rourke van het vitamine K niet kunnen ontdekken.

In verband met vaak voorkomende vitamine K-refractaire hypoprothrombinaemieën achten zij dan ook een geregelde contrôle van deze stollingsfactor noodzakelijk, om dan eventueel hoogere doseringen vitamine K te kunnen probeeren.

Ook door dierproeven heeft men de noodzakelijkheid van een goede leverfunctie voor de effectieve werking van het vitamine K kunnen aantonen.

Brinkhous en Warner (1940) namen twee honden van gelijken leeftijd en gelijk ras, die zij op dezelfde manier voedden en met kleine doses chloroform vergiftigden. Eén van de dieren kreeg echter ook vitamine K in den vorm van 200 gram Alfalfa-

poeder, opgelost in 30 cc. van een 2 % galsolutie per dag, in het voedsel. Beide honden vertoonden echter precies dezelfde daling van het prothrombine in het bloed en later, na het staken van de chronische chloroformintoxicatie, weer precies dezelfde stijging van deze stollingsfactor. Een andere hond kreeg een week lang, vóórdat men met de chloroformvergiftiging begon, vitamine K en gal. Ook deze prophylactische toediening had echter geen invloed op den val van het prothrombine.

Welke conclusies mogen wij nu uit bovenstaande resultaten trekken? In de eerste plaats, dat bij een zware leverbeschadiging, zooals die optreedt na langdurige chloroformintoxicatie, het vitamine K totaal onwerkzaam is. De mogelijkheid bestaat natuurlijk nog, dat het chloroform tevens ook het vitamine K zelf vernietigt, maar dan is het verwonderlijk, waarom het prothrombinegehalte na het staken van de chloroformvergiftiging bij de tweede hond, die ook extra vitamine K kreeg, niet sneller toenam dan bij de eerste hond, die geen extra vitamine kreeg.

Bij den afsluitingsicterus in de kliniek hebben wij vaak met twee factoren te maken, n.l. een vitamine K-deficientie door resorptiestoornis en de aanwezigheid van lichtere of zwaardere leverbeschadiging. Geven wij zoo'n patiënt vitamine K, dan zal wel de eerste factor worden verbeterd, maar het zal geen invloed uitoefenen op de leverbeschadiging, en zodoende dus ook weinig of niet op de prothrombinevorming.

Bollman, Butt en Snell hebben in 1940 ook door dierproeven de noodzakelijkheid van een goede leverfunctie voor de vitamine K-werking aangetoond. Ratten werden dagelijks 30 minuten lang met een tetrachloorkoolstofspray behandeld, waardoor bij de dieren een flinke leverbeschadiging optrad. De ratten, die aan de vergiftiging overleden, vertoonden vlak voor den dood massieve darmbloedingen. Deze dieren hadden meestal minder dan 30 % prothrombine in het plasma. Een groep van de dieren kreeg naast de chronische vergiftiging met tetrachloorkoolstof ook vitamine K oraal of intraveneus toegediend, maar dit had totaal geen invloed op het optreden van de bloedingen of op de vermindering van het prothrombine. Ook zeer groote doses vitamine K bleken niet werkzaam te zijn.

Bollman, Butt en Snell hebben ook de resultaten van

een vitamine K-therapie beschreven bij 2 patiënten met een afsluitingsicterus en een flinke leverbeschadiging. Beide patiënten hadden een levercirrhose en een prothrombinegehalte in het bloed van respectievelijk 50 en 42 %. Ondanks orale en parenterale toediening van vitamine K, zakte het prothrombinegehalte gedurende de behandeling nog meer.

Uit deze waarnemingen concludeerden Bollman, Butt en Snell, dat vitamine K ineffectief zal werken bij aanwezigheid van een leverbeschadiging. Verder bleek uit de proeven, dat de ratten, die tijdens de tetrachloorkoolstofvergiftiging een koolhydraatrijk dieet kregen, langer bleven leven dan de dieren, die meer vetten bij de voeding kregen. De levers van de eerste dieren vertoonden ook minder necrose dan die van de tweede groep ratten. Nogmaals bevelen zij bij leveraandoeningen aan vooral veel koolhydraten te geven.

Pohle en Stewart (1940) zagen ook, dat het resultaat van een vitamine K-therapie bij 46 patiënten niet uniform was. Bij 18 patiënten trad na geruimen tijd praktisch toch geen vermeerdering op van het prothrombinegehalte in het bloed. Deze mislukking schreven deze onderzoekers toe aan het gelijktijdig bestaan van een leverbeschadiging, zonder dat zij echter deze veronderstelling door nadere onderzoekingen hebben vastgesteld.

Hoe zwaar de leverfunctie vernietigd moet zijn, weten wij niet. De anti-haemorrhagische preparaten worden steeds sterker in werking en het is niet onwaarschijnlijk, dat in de toekomst het aantal vitamine K-resistente gevallen steeds minder zal worden. Rhoads en Fliegelman (1940) hebben b.v. gevonden, dat patiënten die niet reageerden op het natuurlijke vitamine K en op andere Chinonderivaten, toch wel bleken een vermeerdering van het prothrombine te kunnen krijgen door toediening van het sterk werkend 2 methyl 1.4. Naphtochinon. Bij de oude wijze van toediening moest het vitamine K per os worden gegeven met gal. Afgezien van de mogelijkheid, dat het vitamine zich niet voldoende mengt met de gal, kan de resorptie toch nog onvoldoende zijn door afwijkingen aan het darmslijmvlies. Verder is daar ook nog de moeilijkheid van de goede doseering van het medicament. Wat is de adaequate hoeveelheid gal, die noodig is voor een optimale resorptie van het vitamine K? Hoeveel van deze antihemorrhagische

factor heeft men noodig om bij een bepaalden graad van lever-insufficiëntie nog maximale prothrombinevorming te kunnen krijgen?

Vitamine K bij operaties aan de galwegen.

Iets dieper willen wij hier ingaan op de groote beteekenis van het vitamine K bij operaties aan de lever en galwegen.

Vóór 1919 was de postoperatieve bloeding de grootste vrees van de chirurgen en een storende factor in de reconvalescentie van patiënten, die werden geopereerd voor obstructies aan de galwegen.

Na de invoering van praeoperatieve bloedtransfusie aan dergelijke patiënten (Pemberton 1919) nam het aantal postoperatieve bloedingen beduidend af. Sinds 1921, toen de intraveneuze injectie van CaCl_2 en glucose vóór en na de operatie werd toegepast, werd het aantal postoperatieve bloedingen bij icteruspatiënten nog kleiner.

Walters (1938, disc. proc. staff. meet. Mayo Cl.) verklaarde, dat als resultaat van bovengenoemde maatregelen en ook van de verbeterde operatietechniek, de mortaliteit in de Mayo Clinics onder 209 patiënten 3,5 % bedroeg. Hiervan slechts 1 % door verbloeding.

Het risico van de operatie in gevallen van biliaire obstructie door maligne afwijkingen is grooter en bedraagt 10—14 %. In deze gevallen is de icterus meestal sterker, de obstructie completer en de functiestoornis van de lever grooter.

Butt, Snell en Osterberg meenen, dat vroeger ongeveer 50 % van de mortaliteit bij operaties aan icterische patiënten toegeschreven kan worden aan cholaemische bloeding en dat deze bloeding op zichzelf een operatierisico van 5 % vormde.

Waltmann Walters heeft in 1921 uitgerekend hoe groot de mortaliteit was van patiënten, die wegens obstructie aan de galwegen, in de Mayo Clinics werden geopereerd.

Van 29 patiënten met icterus, die werden geopereerd, overleden er 15 gedurende de jaren 1918, 1919 en 1920, dus meer dan 50 %, aan een intra-abdominale verbloeding. Van een groep van 34 patiënten zonder icterus bedroeg de mortaliteit 6 %, ook tengevolge van verbloedingen in de buikholte.

Zelfs bloedtransfusies (herhaalde) bleken vaak niet in staat om

een patiënt van een verbloeding te redden, daar deze ingreep maar tijdelijk werkt.

Toen het verband tusschen het vitamine K en de cholaemische haemorrhagische diathese bekend was, heeft men natuurlijk dadelijk dit antihemorrhagische principe toegepast bij operaties aan icterische patiënten. De resultaten daarvan waren prachtig.

Butt, Snell en Osterberg hebben in 1938 de eerste gegevens gepubliceerd over de vitamine K-behandeling van patiënten, die wegens icterus werden geopereerd.

127 patiënten met icterus werden behandeld met vitamine K-concentraten en galzouten.

64 daarvan ondergingen een operatieve ingreep, waarbij er in 13 gevallen postoperatief een bloeding ontstond, die echter door behandeling met vitamine K en gal tot staan werd gebracht.

Daarbij bleek ook, dat de bloeding meestal optrad wanneer de prothrombinestollingstijd 48 sec. of hooger bedroeg.

Dit gevaar van nabloeding trad bij de patiënten op 1—4 dagen na de operatie. Deze 4 dagen zijn dus de gevaarlijkste, ofschoon ook wel voorkomt dat er een bloeding optreedt op den 7en—10en dag na de operatie. Een bloedtransfusie met totaal of citraatbloed zal meestal ook tijdelijk het gevaar keeren en zodoende het vitamine K de gelegenheid geven om zijn werking te ontplooien.

Zij vergeleken ook de voordeelen van een vitamine K-voeding vóór en na de operatie.

In 14 gevallen van icterus, waarbij voor de operatie geen vitamine werd toegediend, trad 9 maal postoperatief een bloeding (64 %) op. Dit werd echter door toediening van vitamine K en gal bedwongen. Aan 22 patiënten met icterus werd vóór en na de operatie vitamine K gegeven. Hierna kregen er 3—11 % een postoperatieve bloeding, die echter minimaal was.

Butt, Snell en Osterberg waren dan ook van meening, dat het prothrombinegehalte van iederen icteruspatiënt moet worden bepaald en dat iedere operatie van een icteruspatiënt ook moet worden voorafgegaan door een prophylactische behandeling met vitamine K. Na de operatie moet het prothrombinegehalte gedurende de eerste 4 dagen dagelijks worden nagegaan en daarna gedurende 4 dagen om den anderen dag. Een daling van het prothrombine-

gehalte kan dan dadelijk worden tegengegaan door toediening van vitamine K.

Later, in 1939, hebben bovengenoemde onderzoekers nog meer cijfers over deze pre- en postoperatieve behandeling van icteruspatiënten gepubliceerd.

5 van 8 patiënten, die niet werden voorbehandeld met vitamine K, kregen een postoperatieve bloeding = 63 %. Dit is ongeveer 16 maal zoo groot als het aantal postoperatieve bloedingen bij 45 icteruspatiënten, die zowel vóór als na de ingreep met vitamine K werden behandeld.

Zij meenden tevens, dat het misschien wel zoo verstandig is om toch het antihaemorrhagische vitamine gedurende eenige dagen na de operatie te geven, onafhankelijk van het prothrombinegehalte, daar zelfs een normale stollingstijd vóór de operatie geen garantie is voor het niet optreden van een bloeding daarna.

Een patiënt met een prothrombine stollingstijd van meer dan 30 sec. (Quick) moet met zorg worden behandeld en bij een stollingstijd van meer dan 45 sec. kunnen wij hem beschouwen als een potentieele bloeder.

Ravdin (abstr. disc. Journ. Am. Med. Ass. 1939. 113/389) raadt bij deze voorbehandeling tevens aan de lever te behoeden tegen beschadigingen. Dus naast de vitamine K-behandeling vóór en na een operatie is het raadzaam om den patiënt ook veel koolhydraten en eiwitten (proteïne) toe te voeren.

Stewart (abstr. disc. 1939) heeft de postoperatieve prothrombinedaling bestudeerd. In een groep van 19 patiënten, die wegens een afsluitingsicterus werden geopereerd, bedroeg de vermindering van het prothrombine gemiddeld 23%. De daling was meestal maximaal binnen 3 dagen.

Belangrijk was de bevinding, dat er geen verschil op te merken was tusschen een verdooving met aether, lumbaalanaesthesie, of met procaine block. Patiënten zonder leverziekten, die geopereerd werden wegens andere afwijkingen, vertoonden na den ingreep een gemiddelde prothrombinedaling van ongeveer 5%.

Stewart en Rourke (1939) deden eveneens belangrijke mededeelingen over het goede effect van vitamine K bij operaties aan icterische patiënten. Meestal trad er postoperatief een bloeding op wanneer het prothrombinegehalte minder dan 40% bedroeg.

Ook zij waren echter van meening, dat naast een vitamine K-therapie toch ook de lever tegen beschadigingen moet worden beschermd en wel door middel van glucose per os of intraveneus en ook flink veel vocht voor een goede doorstroming van lever en nieren.

Deze vitamine K-behandeling van patiënten met een icterus prae- en postoperatief, won meer en meer aanhangers, vooral toen men gebruik kon maken van de gemakkelijk toe te dienen, in water oplosbare, synthetische preparaten. De bijna altijd optredende daling van het prothrombine na een operatie aan de galwegen meent men te moeten toeschrijven aan factoren zooals bloedverlies, bloedstolling aan het wondoppervlak, waarvoor een hoeveelheid prothrombine noodig is. Misschien ook lichte beschadigingen van de lever door de narcose.

Wanneer er een galfistel wordt aangelegd, zal tevens na de operatie geen vitamine K worden geresorbeerd, daar niet voldoende gal in de darmen komt.

D a m en G l a v i n d meenen deze postoperatieve prothrombinedaling te kunnen verklaren uit het feit, dat de hoeveelheid galzouten in de gal gedurende de eerste week na het opheffen van een obstructie aan de galwegen, abnormaal laag is.

B r e u s c h en J o h n s t o n (1934 Kl. Wochensch. 13/1856) hebben in dergelijke gal geen galzure zouten kunnen aantoonen voor den zesden postoperatieven dag en zelfs na twee weken was de hoeveelheid galzouten nog laag.

Ofschoon verschillende onderzoekers het bestaan van een hyperprothrombinaemie betwijfelen (S t e w a r t en R o u r k e, D a m) schijnt het toch mogelijk te zijn om door toediening van vitamine K bij normale personen den stollingstijd van het totale bloed te reduceeren tot 1 à 2 minuten (C h e n e y 1940).

De mogelijkheid bestaat, dat wij dan te maken hebben met gevallen van subklinische K-hypovitaminose.

C h e n e y stelde voor om patiënten, die b.v. een oog- of prostaatoperatie, waarbij een postoperatieve bloeding zeer ongewenscht is, moeten ondergaan, voor te behandelen met vitamine K.

H o e t (pers. mededeeling) zegt, dat het mogelijk is om patiënten met een hypoprothrombinaemie door een vitamine K-behandeling

hyperprothrombinaemisch te maken. De prothrombinestollingstijd van deze personen zou dan onder de normale waarde liggen.

Het prothrombinegehalte in bewaard bloed.

Het gebruik van bewaard bloed voor bloedtransfusies wordt tegenwoordig in vele landen toegepast.

Over het voor en tegen van deze methode zullen wij het hier niet hebben. Dat dit „stored blood” na eenigen tijd niet in alle opzichten aequivalent is aan versch bloed, mag wel worden aangenomen.

Naar aanleiding van het feit, dat men in het Pennsylvania University Hospital sinds eenige jaren bij wijze van routine-handeling iederen icteruspatiënt vóór en na de operatie met bloed transfundeerde, waarbij men vaak ook gebruik maakte van „stored blood”, hebben Rhoads en Panzer in 1939 het prothrombinegehalte van bij 4 graden Celsius bewaard citraatbloed nagegaan. Zij maakten daarbij gebruik van de onderzoekingsmethode van Quick.

In 42 bloedmonsters was het prothrombinegehalte op den derden dag met meer dan 50 % verminderd. In 66 monsters bedroeg de prothrombineconcentratie op den zevenden dag minder dan 25 % en ongeveer 20 %. Hieruit concludeerden zij, dat bloed van meer dan 1 week oud niet meer te gebruiken was voor de behandeling van een acuut prothrombinegebrek in het bloed van een icteruspatiënt. Bloed dat 3 dagen oud is, heeft nog wel eenigszins waarde. Ziegler, Osterberg en Hovig hebben dit onderzoek in 1940 opnieuw verricht.

Zij vergeleken daarbij de uitkomsten van het onderzoek, verkregen met de methode van Quick en die van Smith, Warner en Brinkhous en vonden, dat de correlatie tusschen die twee vrij goed was.

Verder vonden zij, dat citraatbloed, bewaard bij 34 graden Fahrenheit, een langzame vermindering vertoonde van het prothrombinegehalte.

Gedurende de eerste 12 dagen is de daling vrij snel en bedraagt

de vermindering ongeveer 30—60 %. Daarna geschiedt deze prothrombinedaling veel langzamer.

Ook zij kwamen tot de conclusie, dat oud bewaard bloed niet geschikt was om het prothrombinegehalte in het bloed van patiënten met een hypoprothrombinaemie te verbeteren.

Quick (1940) vroeg zich af wat de oorzaak kon zijn van de verlenging van den prothrombinestollingstijd in bewaard oxalaatbloed. Hij kon aantonen, dat het niet lag aan vermindering van het fibrinogeengehalte of aan een vermeerdering van antistollingsstoffen en het is haast zeker, dat de oorzaak gezocht moet worden in een verandering van het prothrombine zelf. De eenvoudigste verklaring is wel het aannemen van een quantitative vermindering van de hoeveelheid prothrombine in het plasma.

Wanneer men plasma gedurende 15 minuten bij 56 graden verwarmt, dan zal het prothrombine grootendeels worden vernietigd.

Andere ziekten, waarbij een vitamine K-tekort kan optreden.

Toen Quick in 1935 het prothrombinedeficit als oorzaak voor de icterische haemorrhagische diathese had vastgesteld, heeft men dadelijk alle andere ziekten, die gepaard kunnen gaan met spontane bloedingen, daarop onderzocht. Vooral voor de haemophilie had men belangstelling, daar het vitamine K misschien een middel zou kunnen blijken te zijn voor de zoo gevreesde bloedingen. Helaas bleek het prothrombinegehalte bij deze bloederziekte geheel normaal te zijn, (Quick 1935, Dam—Glavind 1938, Warner, Brinkhous, Smith 1936. Zie haemophilie), in tegenstelling met de theorie van Patek en Taylor, die in 1936 beweerden, dat het prothrombinegehalte bij de haemophilie zou zijn veranderd. (A. J. Patek Jr. en F. H. L. Taylor. Science 84/271—1936).

Het is dan ook te verwachten, dat een behandeling van de haemophilie met vitamine K vruchteloos zal zijn, wat ook later werd bevestigd.

Ook andere condities, die gepaard gaan met een abnormale neiging tot bloedingen, heeft men vaak op het prothrombinegehalte onderzocht en behalve bij de morbus haemorrhagicus neonatorum heeft men steeds negatieve resultaten verkregen.

Als voorbeeld geven wij hier één van de vele daarover bestaande onderzoektabellen.

Butt—Snel—Osterberg (Jama 113/383—'39).

Aantal gevallen	Diagnose	Prothrombinetijd in seconden. (Quick-methode)
3	Menorrhagia	19, 22, 25
2	Metrorrhagia	22, 19
5	Haemophilia	20, 22, 25, 20, 23
4	Essentiele thrombocytopenische purpura	21, 21, 24, 22
3	Toxische purpura	21, 23, 22
2	Essentiele haematurie	21, 19
2	Banti's syndroom	21, 19
2	Ongecompliceerde haemol. icterus	26, 18
1	Famil. neiging tot bloedingen	25
1	Aplastische anaemie	24
5	Haemorrhagisch ulc. duodeni	24, 23, 26, 22, 21

Het prothrombinegehalte bij de Pernicieuze Anaemie.

Een kort woordje zullen wij wijden aan het prothrombinegehalte bij de pernicieuze anaemie.

Het is algemeen bekend, dat bij de ziekte van Biermer soms ook spontane bloedingen kunnen optreden, b.v. in de huid en in het netvlies.

Men heeft de oorzaak daarvan steeds gezocht in de begeleidende thrombocytopenie bij de pernicieuze anaemie, maar men zal ook herhaaldelijk in het stadium van de bloedingen kunnen vinden, dat deze bloedvormsels weinig of niet zijn verminderd. Ook al zou het waar zijn, dat de pernicieuze anaemie constant gepaard gaat met een vermindering van het aantal thrombocyten in het bloed, dan is meestal deze vermindering te weinig om daarmee alleen het syndroom van de haemorrhagieën bij de ziekte van Biermer te kunnen verklaren.

v. d. Vijve heeft in 1941 het prothrombinegehalte in het bloed van eenige pernicieuze anaemie-patiënten bestudeerd. Daarbij vond hij, dat een patiënt met deze ziekte, die tevens tandvleesch-

bloedingen, haematemesis en melaena vertoonde, een aantal thrombocyten in het bloed had van 204.000 per mm³.

Tevens kon v. d. V i j v e aantonen, dat bij een aantal onbehandelde pernicieuze anaemie-patiënten het prothrombinegehalte in het bloed duidelijk was verminderd.

Deze hypoprothrombinaemie bij de Biermersche ziekte reageerde ook op parenterale toedieningen van het synthetische vitamine K, hoewel langzaam en incompleet.

Hoe men deze hypoprothrombinaemie bij de pernicieuze anaemie moet verklaren, is niet erg duidelijk. Moet men aannemen, dat er een resorptiestoornis van in vet oplosbare stoffen bestaat of is er bij deze hyperchrome anaemie een leverfunctiestoornis of beide?

Uit het feit, dat de hypoprothrombinaemie bij de pernicieuze anaemie slechts langzaam en incompleet op de vitamine K-toediening reageert, moet men misschien wel aannemen, dat hier niet uitsluitend een vitamine K-deficientie in het spel is, zolang het niet vaststaat, dat er bij deze ziekte een beschadiging van de leverfunctie, wat betreft de prothrombinevorming, bestaat.

Bij welke stoornissen kunnen wij verwachten dat het vitamine K een rol speelt? Deze kunnen wij in 4 groote groepen verdeelen.

Groep 1. *Vitamine K-deficientie.*

- a. bij afwezigheid van gal in de darmen.
- b. stoornis in de resorptie door afwijkingen van het darmslijmvlies.
- c. volkomen gebrek aan vitamine K in de voeding.

Groep 2. *Leverbeschadigingen met of zonder icterus.*

Groep 3. *Hypoprothrombinaemie, waarbij de samenhang met een vitamine K-deficientie niet duidelijk is.*

Groep 4. *Haemorrhagische diathese van de pasgeborene.*

Groep 1.

- a. Is in voorgaande hoofdstukken genoeg uiteengezet.
- b. We kunnen ons voorstellen, dat er een vitamine K-resorptie-

stoornis optreedt, doordat het darmslijmvlies ziek is, of doordat de passage van het voedsel in de darmen zóó snel plaats heeft, dat er geen voldoende resorptie van voedingsstoffen kan bestaan.

Het is natuurlijk ook mogelijk, dat er door een pancreas-aandoening een vetresorptiestoornis optreedt, zoodat alle in vet oplosbare bestanddeelen niet door den darm worden opgenomen.

Inderdaad worden in de literatuur gevallen vermeld van spruw met vetontlasting, zware colitiden met profuse diarrheeën en chronische dysenterieën, die gepaard gaan met een hypoprothrombinaemie.

F a n c o n i (1938) noemde in een monografie over de coeliakie als één van de complicaties de haemorrhagische diathese. Reeds in 1927 zou hij in een Zwitsersch tijdschrift voor paediatric beschreven hebben, dat er naast de verschijnselen van scorbuut ook nog een tweede soort van haemorrhagische diathese kan optreden die hij „scorbutoid” noemde.

In 1928 heeft hij dien naam veranderd in „hypoprothrombinaemie”.

Deze scorbutoide haemorrhagische diathese kan soms doodelijk verlopen onder het beeld van een Purpura fulminans.

Bij een aantal patiënten kon hij aantoonen, dat daar steeds een verlengde stollingstijd bestond. Aantal thrombocyten, bloedingstijd en retractie waren normaal.

In tegenstelling met de echte scorbuut was het fenomeen van R u m p e l—L e e d e bijna altijd negatief. Gehalte aan fibrinogeen en calcium was normaal.

F a n c o n i nam dan ook aan, dat de hypoprothrombinaemie bij de coeliakie identiek is met de K-avitaminose bij kuikens, zooals die door D a m e n medewerkers is beschreven.

Vitamine K is immers een in vet oplosbare substantie en juist bij de coeliakie bestaat een vetresorptiestoornis.

Voorzoover wij het hebben kunnen nagaan, is deze mogelijkheid vóór 1938 nooit aangetoond, totdat B u t t, S n e l l en O s t e r b e r g in 1938 aan de hand van 2 patiënten aantoonde, dat er inderdaad een prothrombine-deficientie kan bestaan door afwijking aan het absorptie-oppervlak van de darmen. De eerste patiënt had spruw en de tweede een intestinale kortsluiting. Bij den laatste trad tevens een flinke bloeding op, die echter tot staan kon worden gebracht door vitamine K-toediening.

Butt, Snell en Osterberg beschreven in 1939 7 patiënten die een K-avitaminose hadden door een inadaequate voedselopname of door een insufficient intestinaal absorptieoppervlak, of door beide tegelijk. Daarvan waren er 4 patiënten, die tevens een colonresectie of een enterostomie ondergingen wegens een chronische ulceratieve colitis, zoodat daarbij in aanmerking moet worden genomen het onbruikbaar maken van een stuk darm voor resorptie-doeleinden en ook een beperking van de bacteriële vitamine K-vorming.

Van deze 4 patiënten waren er 3, die na de operatie spontaan begonnen te bloeden uit de operatiewond.

In alle vier gevallen kwam de bloeding tot staan en steeg het prothrombinegehalte van het bloed na toediening van gal en vitamine K-concentraten.

Een vijfde patiënt met een gastrojejuncolon-fistel, die twee jaar bestond, had een prothrombinegehalte van 9—12 %, zonder dat er ooit een spontane bloeding ontstond. Gecombineerde intramusculaire en orale toediening van vitamine K deed het prothrombinegehalte stijgen.

Twee patiënten met non-tropical-spruw hadden respectievelijk 47 % en 62 % prothrombine, zonder haemorrhagische diathese. Er werd niet vermeld of deze hypoprothrombinaemie op een vitamine K-therapie reageerde.

Anderen meenen, dat er bij de spruw een fatale haemorrhagische diathese kan optreden.

Ook Engel (1939) maakte deze veronderstelling.

Garnett Cheney beschrijft in 1940 ook een geval van spruw zonder haemorrhagische diathese, echter wel met een verlengden prothrombinestollingstijd (volgens methode Quick), die door vitamine K-toediening weer normaal werd.

Hoewel verschillende darmaandoeningen, waarbij vooral vetdiarree optreedt, dus gepaard kunnen gaan met een prothrombinevermindering, zien wij toch betrekkelijk zelden, dat er bloedingen optreden.

Dit is natuurlijk niet zoo vreemd als het lijkt.

Het prothrombinegehalte moet immers onder de 40 % komen, vóórdat spontane bloedingen beginnen op te treden. In de meeste gevallen van aandoeningen van het darmslijmvlies wordt dus nog

net zooveel vitamine K geresorbeerd, dat het prothrombinegehalte van het bloed binnen de „veilige zône” kan blijven.

Anders wordt het natuurlijk wanneer men daarbij nog een groot stuk van het darmstelsel uitschakelt, b.v. door resectie of door een enterostomie.

c. Wij hebben reeds gezien, dat totale afwezigheid van vitamine K in de voeding bij kuikens een haemorrhagische diathese doet ontstaan. Ook bij enkele andere vogels, zooals jonge eenden en duiven, heeft men experimenteel deze bloedingen door dieetische factoren kunnen opwekken. Het was echter zeer moeilijk en practisch onmogelijk om bij zoogdieren dergelijke grappen uit te halen. De verklaring daarvan moet misschien gezocht worden in het feit dat zoogdieren een veel langer darmstelsel bezitten dan vogels en zodoende meer profijt kunnen trekken van de bacterieele vitamine K-vorming.

Bij den mensch is dit practisch ook het geval. Men zou zich wel kunnen indenken, dat door een langdurige obstructie van de oesophagus of pylorus of zelfs hoog in het jejunum geen voedsel naar het darmstelsel komen kan, zoodat absorptie van vitamine K uitblijft.

Daarbij komt nog het feit, dat deze patiënten het grootste deel van het voedsel uitbraken. Dat er daardoor een hypoprothrombinaemie kan optreden door gebrek aan vitamine K, hebben Clark, Dixon, Butt en Snell in 1939 aangetoond.

Meestal is de structuur niet zoo volledig, dat er geen voedsel in den darm komen kan en ook voorkomt meestal snel medisch ingrijpen een langdurige stenose.

Toch heeft men wel eens gevallen van K-avitaminose waargenomen bij patiënten, die door bepaalde omstandigheden een insufficiënte voeding hadden.

Kark en Lozner (1939) hebben, voor zoover ons bekend, de eenige 4 gevallen gepubliceerd die wijzen op het bestaan van K-avitaminose door insufficient dieet.

1e geval: vrouw met aortainsufficiëntie en tabes dorsales, die gedurende een jaar weinig of geen vruchten of groene groenten at. Zij vertoonde een groote ecchymose op de dij. Gehalte aan vitamine

C in het bloed was 0. De diagnose werd gesteld op scheurbuik (scorbuut).

2e geval: man, die gedurende 9 jaar alleen leefde en zijn eigen maal kookte. At weinig vruchten en groene groenten. Hij vertoonde groote ecchymosen aan beide beenen en had een gezwollen en makkelijk bloedend tandvleesch. Vitamine C-gehalte in het bloed was 0; diagnose scheurbuik.

3e geval: man, die gedurende 5 jaar weinig groene groenten at; ook hij vertoonde uitgebreide ecchymoses en gezwollen tandvleesch. Vitamine C 0, diagnose scheurbuik.

4e geval: man, die gedurende 5 maanden onregelmatig at en dagelijks minstens een halve liter whiskey dronk. Hij vertoonde een dermatitis aan handen en gelaat. Vitamine C 0. Diagnose: Pellagra met subklinische scorbuut.

Alle 4 patiënten kregen een dieet, waarin weinig vitamines C, B en K aanwezig waren.

Alle 4 patiënten vertoonden een verlengden prothrombine-stollingstijd, die, hoewel niet uitgesproken, toch duidelijk was.

Iedere patiënt kreeg per os vitamine K, waardoor de prothrombine-stollingstijd na 24 uur normaal werd.

Eén der patiënten kreeg inplaats van vitamine K het vitamine C in den vorm van ascorbinezuur per os. Hoewel het vitamine C-gehalte in het bloed daardoor steeg, bleef het prothrombinegehalte steeds verminderd. Er scheen dus geen relatie te bestaan tusschen den vitamine C-spiegel en het prothrombinegehalte in het bloed.

Auteurs schreven dezen verlengden prothrombinestollingstijd toe aan een vitamine K-deficit, hoewel zij het optreden van de ecchymosen, die bij de patiënten optraden, verklaarden door een vitamine C gebrek.

Het is dus mogelijk, dat men door een langdurig insufficient dieet, een matige avitaminose K krijgt.

Scarborough publiceerde in 1940 de resultaten van zijn onderzoek naar het prothrombinegehalte in het plasma bij klinische hypovitaminosen.

Alle 18 gevallen vertoonden klinisch duidelijk symptomen van het bestaan van één of meerdere vitaminedeficienties, terwijl de diagnoses verder werden gesteund door laboratoriumonderzoekingen van het dieet der patiënten. Geen van de patiënten had icterus of

vertoonde klinisch teekenen, die konden wijzen op het bestaan van een leveraandoening.

Scarborough vond, dat het prothrombinegehalte in het bloed van zijn patiënten verlaagd was en dat er alle reden voor bestond om hier een vitamine K-deficientie te mogen aannemen, daar de patiënten ook gebrek hadden aan andere vitaminen.

Verder wordt in de literatuur vermeld, dat er een vitamine K-deficientie kan voorkomen bij gravidæ. Shettles, Delfs en Hellman (cit. G. Cheney '40 Bull. Johns Hopkins 65/419 November) zouden in 1939 een serie van 15 gevallen hebben beschreven, die met vitamine K werden voorbehandeld en na de partus minder zouden bloeden dan andere vrouwen.

In hoeverre deze waarnemingen waardevol zijn, kunnen wij niet beoordeelen, daar wij het oorspronkelijke stuk niet in handen hebben kunnen krijgen.

Groep 2.

Hypoprothrombinaemie bij leverbeschadigingen.

Daar gebleken is, dat de lever ontgeenzeggelijk een essentiele betekenis heeft voor den prothrombineaanmaak en voor een goede vitamine K-werking, is het zeer begrijpelijk dat bij leveraandoeningen niet zelden een hypoprothrombinaemie bestaat.

In voorgaande hoofdstukken is hier genoeg over uitgewijd.

Groep 3.

Deze groep omvat verschillende aandoeningen, die gepaard gaan met een hypoprothrombinaemie, maar waarvan de samenhang met het vitamine K niet duidelijk is. Ook zijn er enkele haemorrhagische diathesen, die niet samengaan met een hypoprothrombinaemie, maar toch wel reageren op een vitamine K-therapie.

Deelen (Ned. Tijdschr. v. Gen. II/1974—1940) beschrijft een geval van een patiënte met haemorrhagische thrombasthenie (Glazmann) die een normalen prothrombinestollingstijd had en waarbij geen redenen waren om een avitaminose K te veronderstellen.

De retractie van de bloedkoek van de patiënte was zeer vertraagd, maar kon door toediening van het Davitamon K (natuurlijk preparaat) per os, normaal worden gemaakt.

Wordt de therapie gestaakt, dan vermindert ook het retractie-
vermogen en treden weer huidbloedingen op.

Het synthetische preparaat (β . methyl naphthochinon) had
practisch geen invloed op de retractiliteit. Het natuurlijke vitamine
K was ook in staat om in vitro het retractie-vermogen van de
bloedkoek terug te doen keeren, terwijl het β -methyl 1.4. naphtho-
chinon deze eigenschap niet bezat.

Deelen opperde de mogelijkheid, dat er zich in het Davita-
mon K (natuurlijke preparaat) een stof bevindt, die niet gelijk is te
stellen aan het vitamine K.

Engelkes: (Ned. Tijdschr. v. Gen. II/1985 Mei 1941) be-
schrijft een geval van intestinalen vorm van thrombasthenische
purpura, die na jaren lang recidiveeren door een geregelde vita-
mine K-toediening werd genezen. Ook hier werd retractie van de
bloedkoek normaal. De patiënt kreeg aanvankelijk het natuurlijke
vitamine K, maar later werd hij behandeld met intramusculaire
 β -methyl naphthochinon-injecties. Het herstel was na zes maanden
nog onveranderd.

Schrijver oppert de mogelijkheid, dat het vitamine K in thera-
peutische dosis activeerend werkt op de onderling nauwverwante
thrombocyten en endotheelcellen.

Cheney (1940) vond bij drie patiënten met hypertensie,
nephritis, uraemie, huid-slijmvliesbloedingen, dat de prothrombine-
stollingstijd iets verlengd was. Eén der patiënten, die purpura had
en gekweld werd door neusbloedingen, werd behandeld met één
intramusculaire vitamine K-injectie. De bloedingen verdwenen
prompt. Cheney was nog niet in staat om uit de weinige ge-
gevens, waarover hij beschikte, conclusies te trekken.

Groep 4.

Morbus Haemorrhagicus Neonatorum.

Een geheel apart hoofdstuk in het vraagstuk van het vitamine K
vormt de haemorrhagische diathese bij pasgeborenen. Het gevaar
van deze afwijking was reeds in de oudheid bekend. Reeds toen
wist men, dat de bloedingen vooral in de eerste week post partum
optraden. Wij ontleenen aan de publicatie van Quick en Gross-
man in 1940, dat het bestaan van deze afwijking bij pasgeborenen

voor het eerst werd beschreven in Europeesche literatuur door Mauriceau in 1682. Sindsdien heeft men herhaaldelijk de aandacht gevestigd op deze, vaak fataal verloopende, haemorrhagische diathese van de pasgeborenen. Natuurlijk heeft men getracht een oorzaak te vinden voor deze bloedingen.

Evenals bij de cholaemische haemorrhagische diathese heeft men in den loop der jaren talrijke oorzaken voor het ontstaan van de bloedingen bij pasgeborenen naar voren gebracht.

In een overzichtelijk werk heeft Salomonsen (1939) een samenvatting gegeven over deze Morbus haemorrhagicus neonatorum.

In vele gevallen zijn de bloedingen, die in de eerste levensdagen van den mensch optreden, het gevolg van een geboortetrauma of van een duidelijke infectie, die een toxische werking uitoefent op de capillairen.

Voor een aantal haemorrhagieën zijn echter geen oorzaken aan te wijzen en deze groep wordt dan samengevat onder den naam Morbus haemorrhagicus neonatorum. (Townsend 1894). Deze afwijking van de pasgeborenen lijkt klinisch het meest op de haemophilie. Ook hierbij is het optreden van spontane bloedingen zeldzaam. Meestal merkt men pas na een trauma (b.v. huidschrammen, prikken enz.), dat er een neiging bestaat tot bloeden. De localisatie van de haemorrhagieën is verschillend, maar het meest treden ze op aan de navelstreng en aan de huid (kleine verwondingen).

Salomonsen vond bij zijn onderzoek de verdeling als volgt:

Huid	33
Navelstreng	35
Neus en mond	21
Haematurie	1
Vulva	1
Nieren	2
Melaena	18
Cerebraal	16

Men heeft een rij van oorzaken opgenoemd voor het ontstaan van de afwijking; hereditaire praedispositie, dysfunctie van de lever, onvoldoende sluiting van de bloedvaten in de navelstreng,

infecties, congenitale lues, fibrinogeen- en thrombine deficiëntie, enz.

Morphologisch vertoont het bloed nooit eenige afwijking. In 1920 heeft R o d d a geobserveerd, dat de stollingstijd van het bloed van babies na de geboorte een neiging vertoont om toe te nemen. Hij bereikt zijn maximum op den vierden tot den vijfden dag en heeft meestal vóór den tienden dag zijn normale waarde terug.

L u c a s en medewerkers kwamen in 1921 tot de zelfde waarnemingen.

Beide bovengenoemde onderzoekers konden echter geen bevredigende verklaringen geven voor de gevonden feiten.

Ook de therapie van de haemorrhagische diathese bij zuigelingen was daarom niet specifiek en de resultaten van de behandeling waren niet zeer bevredigend. De meeste successen schijnt men nog te behalen met intraveneuse bloedtransfusies of intramusculaire bloedinjecties.

Toen men het groote belang van een prothrombinedeficiëntie bij haemorrhagische diathesen herkende en tevens ontdekte, dat het vitamine K een essentieele factor is bij de vorming van de stollingsfactor, werd de studie van de morbus haemorrhagicus neonatorum natuurlijk ook naar dit terrein verplaatst.

Vooralsin toen Q u i c k in 1935 en W a r n e r, B r i n k h o u s en S m i t h in 1936 methoden hebben beschreven om op betrekkelijk eenvoudige wijze het prothrombinegehalte in het bloed te kunnen nagaan, namen de onderzoekingen over het wezen van de morbus haemorrhagicus neonatorum een groote vlucht.

B r i n k h o u s, S m i t h en W a r n e r hebben in 1937 uitgebreide prothrombinebepalingen gedaan in het bloed van normale en „zieke” kinderen.

Bij 21 normale kinderen werd het prothrombinegehalte gedurende 12 maanden vervolgd. Gedurende de eerste 9 maanden nam dit geleidelijk aan toe, tot het na 11 of 12 maanden de normale waarde bereikte van die van oudere kinderen. Het prothrombinegehalte van pasgeborenen was niet alleen laag, maar was ook van kind tot kind zeer verschillend.

Bij 8 pasgeborenen vonden zij prothrombinewaarden van 14—39%. Enkele oudere zuigelingen kregen verschillende hoeveelheden vitamine A en B, zonder dat er echter eenige invloed daarvan te bespeuren was op het prothrombinegehalte.

Brinkhous en medewerkers konden ook geen verband vinden tusschen deze lage prothrombinewaarden van de zuigelingen en die van de moeders. Een aantal zwangere vrouwen, die zij onderzochten, had normale hoeveelheden prothrombine, ook vlak vóór en vlak na de bevalling.

Een pasgeborene met een haemorrhagische diathese, die 3 dagen na de geboorte uit de navelstreng begon te bloeden, had een prothrombinegehalte in het bloed van 5 %. Brinkhous en medewerkers meenden dan ook te mogen concludeeren dat misschien de meeste kinderen worden geboren met een laag prothrombinegehalte en dat enkele daarvan om onbekende redenen in de gevaarlijke zône komen.

Salomonsen (1939) onderzocht het bloed van 66 normale pasgeborenen met de onderzoekmethode van Quick.

Hij vond, dat de stollingstijd van het plasma op den eersten dag meestal normaal was (10—20 sec.) en op den 3en dag een maximale verlenging vertoonde.

Na den vijfden dag was de prothrombinestollingstijd meestal weer normaal.

In 7 gevallen van haemorrhagische diathese werd deze succesvol met vitamine K behandeld.

Dam, Tage-Hansen en Plum (1939) vonden bij kinderen met icterus gravis en bloedingen, hydrops congenitus en andere haemorrhagische diathesen zeer lage prothrombinewaarden in het bloed. Zij werden met succes met vitamine K behandeld. Verder vonden Dam en medewerkers, dat normale pasgeborenen in de eerste dagen post partum een lage prothrombinewaarde hebben (hooge R-waarde). Na een week zijn de R-waarden meestal weer normaal.

Dam verklaarde deze „physiologische” hyperprothrombinaemie bij zuigelingen door een onvoldoenden toevoer van vitamine K aan het kind, dat zelf nog geen depôt van die factor bezit.

Het vitamine K moet na de geboorte deels komen met de voeding en deels door bacterieelen aanmaak in den darm.

Melk bevat heel weinig vitamine K en het is onwaarschijnlijk dat er in de eerste dagen na de geboorte in de darmen van het kind veel vitamine K door bacteriën zal worden gevormd. Mogelijk bestaat er bij de pasgeborene ook een resorptiestoornis, want over

de samenstelling van en over de hoeveelheid gal, die bij pasgeborenen in den darm wordt uitgescheiden, weet men nog niet veel.

Uit bovenstaande feiten is het wel waarschijnlijk, dat de hypoprothrombinaemie bij zuigelingen een gevolg is van de vitamine K-deficientie en dat de directe oorzaak van de haemorrhagieën een te laag prothrombinegehalte in het bloed is. Quick en Grossman (1939) bestudeerden het prothrombinegehalte van pasgeboren babies. Direct na de geboorte bleek het gehalte aan deze stollingsfactor relatief hoog te zijn, ongeveer 60—75 %. Het feit dat navelstrengbloed, waar zij een groote serie van hebben nagekeken, steeds prothrombinewaarden hadden van 60—70 %, deed Quick en Grossman vermoeden, dat het prothrombinegehalte van het bloed van alle babies vlak na de geboorte betrekkelijk hoog moet zijn. Bij het dagelijks vervolgen van de prothrombineconcentraties bleek, dat deze het laagst waren op den eersten dag, gedurende den tweeden dag iets stegen en bijna altijd normaal waren na den derden dag.

Deze vondst was in overeenstemming met die van Waddell en Guerry '39, Owen Hoffman, Ziffren en Smith '39, behalve dat de laatste onderzoekers een maximale prothrombinevermindering vonden op den tweeden en derden dag en dat deze na den vijfden dag weer normaal werd.

De veelvuldigheid waarmede een prothrombinevermindering bij babies optreedt, maakt het zeer aannemelijk, *dat alle pasgeborenen gedurende de eerste dagen na de partus gevaar loopen een bloeding te krijgen*. Deze conditie wordt duidelijk veroorzaakt door een vitamine K-gebrek bij de pasgeborene, want niet alleen zal het prothrombinegehalte van de babies onmiddellijk normaal worden door vitamine K-toediening, maar deze prothrombinevermindering kan worden voorkomen door een orale toediening van de antihaemorrhagische factor. Waddell en Guerry '39 (Jama 112/2259—1939).

Waddell, Du Pont Guerry, Bray en Kelly '39, vonden dat bij 2 kinderen, die op den derden tot vierden dag een zeer laag prothrombinegehalte in het bloed bleken te hebben, een vitamine K-toediening per os binnen 2 uren de concentratie van de stollingsfactor normaal deed worden.

Owen, Hoffman, Ziffren en Smith (1939), die ook

de methode van Quick bij hun onderzoekingen gebruikten, toonden bij 38 normale pasgeborenen een hypoprothrombinaemie aan, die een minimumwaarde bereikte tusschen den tweeden en zesden dag postpartum.

W a d d e l l en G u e r r y (1939) bestudeerden 20 pasgeboren kinderen, die zij in 2 groepen van elk 10 verdeelden. De groep, die dadelijk na de geboorte met vitamine K werd behandeld, vertoonde constant een veel korteren prothrombinestollingstijd dan de groep, die als contrôle diende en waaraan geen vitamine K werd toegediend. Deze laatste groep vertoonde een maximaal verlengden prothrombinestollingstijd tusschen 48 en 72 uren na de partus.

K a t o en P o n c h e r bestudeerden in 1940 het prothrombine in het bloed van pasgeboren voldragen en onvoldragen babies.

Bij honderd voldragen zuigelingen vonden zij met hun micro-methode een gemiddelden prothrombinestollingstijd van 43,2 sec. op den eersten dag na de geboorte (normale stolling 20—21 sec.). De stollingstijd werd geleidelijk aan korter, naarmate de zuigelingen ouder werden en op den tienden dag bedroeg de gemiddelde stollingstijd 25 sec.

Bij 73 praematuur babies was de gemiddelde prothrombine-stollingstijd op den geboortedag 46,5 sec. De stijging van de stollingsfactor met het ouder worden van de babies ging meer abrupt.

K a t o en P o n c h e r konden geen verband vinden tusschen den graad van onvoldragenheid der pasgeborenen en den prothrombine-stollingstijd van het bloed. Ook onderzochten zij het bloed van kinderen met een haemorrhagische diathese. Het prothrombinegehalte bleek dan meestal 10 % te bedragen. Ook in enkele gevallen van intracraniale bloedingen was het mogelijk, dat een trauma of een moeilijke bevalling een provoocerende rol speelde, maar de fundamenteele factor was toch het lage prothrombinegehalte in het bloed van die kinderen.

V a n V i j v e (1941) onderzocht het prothrombinegehalte in het bloed van zuigelingen, die werden geboren in verschillende jaargetijden.

Daarbij viel het hem op, dat hij met de methode van Quick vaak hogere waarden vond dan met die van S m i t h, W a r n e r en B r i n k h o u s. Maar ook hij zag dat bij de pasgeborenen een

physiologische hypoprothrombinaemie bestond, die hij ook kon aantoonen bij pasgeboren dieren. De graad van deze physiologische hypoprothrombinaemie wisselt met de jaargetijden en is het meest uitgesproken in den winter.

Hoe kan men zich nu het ontstaan van de hypoprothrombinaemie der pasgeborenen voorstellen? Tijdens het intra-uterine leven ontvangt het kind via de moeder het vitamine K, dat het dan verbruikt voor de vorming van zijn eigen prothrombine. Vermoedelijk wordt van deze antihæmorrhagische stof geen depôt aangelegd, daar het prothrombinegehalte korten tijd na de geboorte beduidend daalt. Er bestaat geen direct verband tusschen het prothrombinegehalte van moeder en kind. Hellman en Shettles (1939) publiceerden zeer lage prothrombinewaarden in het bloed van 19 voldragen normale en 9 onvoldragen babies, terwijl de respectievelijke moeders geheel normale prothrombinegehalten in het bloed hadden.

Wel kan men de concentratie van de stollingsfactor in het bloed van pasgeborenen beïnvloeden door aan de moeders vlak vóór de partus vitamine K toe te dienen. Hellman en Shettles vonden, dat deze prophylactische vitamine K-toediening aan de moeders het plasmaprothrombinegehalte van de babies deed stijgen van 68 tot 130 % van dat der contrôlekinderen.

Waddell en Guerry (1939) publiceerden het volgende geval: Een moeder had reeds vier opeenvolgende kinderen met een fataal verloopende hæmorrhagische diathese ter wereld gebracht. Gedurende haar vijfde zwangerschap bleek zij een laag prothrombinegehalte in het bloed te hebben, dat echter door een vet- en eiwitrijk dieet weer normaal kon worden gemaakt. Het vijfde kind was normaal en vertoonde geen hæmorrhagische diathese. Haar zesde zwangerschap ging wederom gepaard met een laag prothrombinegehalte in het bloed, maar zij weigerde het voorgeschreven dieet te gebruiken. Het zesde kind kreeg een zware hæmorrhagische diathese. Gedurende haar zevende zwangerschap werd het prothrombinegehalte in het bloed door een dieet normaal gehouden en het zevende kind bleef weer geheel zonder bloeding.

Na de geboorte moet de zuigeling zijn vitamine K-behoefte putten uit het voedsel en uit de bacteriële synthese in de darmen. Melk bleek zeer weinig vitamine K te bevatten en bij de geboorte is de

darminhoud van de baby steriel, zoodat de pasgeborene den eersten tijd geen anti-haemorrhagische factor tot zijn beschikking heeft. Zijn aanvankelijk betrekkelijk hoog prothrombinegehalte in het bloed zal niet meer worden aangevuld, zoodat het nu begrijpelijk is waarom in de meeste gevallen de prothrombinevermindering pas enkele dagen na de geboorte haar maximum bereikt. Meestal herstelt de zuigeling na eenigen tijd (7 dagen) zelf zijn prothrombineconcentratie, doordat zich vrij snel na de geboorte een darmflora bij het kind ontwikkelt en bacteriën vitamine K gaan vormen. Dit blijft voorloopig de eenige bron, waaruit de zuigeling zijn vitamine K kan putten en mist de toevoer via het voedsel. Misschien is dit de verklaring voor het feit, dat de meeste kinderen zelfs nog in het tweede levensjaar een veel lager prothrombinegehalte in het bloed hebben dan oudere kinderen. Nu het gebleken is, dat practisch alle kinderen in de eerste levensdagen een hypoprothrombinaemie hebben, kan men op zeer bevredigende wijze de pathogenese van de morbus haemorrhagicus neonatorum verklaren. Meestal leidt de physiologische hypoprothrombinaemie niet tot het ontstaan van bloedingen, maar om onbekende redenen kan soms het prothrombinegehalte zóó laag worden, dat het wel haemorrhagieën uit de navelstreng, nieren, darmen enz. veroorzaakt. In al deze gevallen bleek, dat na toediening van het vitamine K onmiddellijk de bloedingen ophielden.

Kato en Poncher hebben in 1940 een publicatie uitgegeven over de behandeling van de hypoprothrombinemia haemorrhagica neonatorum. Een jaar tevoren hebben reeds andere onderzoekers de verbluffend goede resultaten van de vitamine K-behandeling van de haemorrhagische diathese bij zuigelingen gepubliceerd. Waddell en Dupont Guerry, Juni 1939 en December 1939; Nijgaard 1939, en anderen.

Kato en Poncher behandelden 21 pasgeborenen met een haemorrhagische diathese en een laag prothrombinegehalte met vitamine K. Zij gaven oraal het synthetische preparaat 2 methyl-1.4. naphthochinon (10 mg) en subcutaan of intramusculair enkele in water oplosbare verbindingen (1 à 2 mg).

In vele gevallen zagen zij reeds een duidelijke toename van het prothrombinegehalte in 2—6 uren na de toediening en kwamen de bloedingen tot staan. 24 uur na toediening van een enkele dosis vitamine K (1 tot 10 mg subcutaan, intramusculair of oraal) was

de prothrombinestollingstijd praktisch normaal. Verder was ook een belangrijk feit, dat zij na die enkele vitamine K-toediening een permanente genezing zagen. In geen van de gevallen werd een bloedtransfusie gegeven. Slechts aan enkele zeer uitgedroogde babies gaven zij een hypodermoclyse.

Kugelmass (1940) vond, dat zeer zware gevallen van bloedingen bij pasgeborenen maar matig op een vitamine K-therapie reageerden. Bij milde uitingen van een haemorrhagische diathese werkt het echter prompt, evenals een bloedtransfusie. Hij raadde ook aan om bij de therapie van de morbus haemorrhagicus neonatorum niet alleen te volstaan met vitamine K, maar, indien mogelijk, ook bloed bij de pasgeborene in te spuiten.

Ook bij den icterus gravis neonatorum, hydrops congenitus en anaemia neonatorum vindt men vaak een laag prothrombinegehalte in het plasma, dat ook goed op een vitamine K toediening reageert. (Dam en Plum 1939). Ofschoon men het vaak betwijfelt, dat spontane intracraniale bloedingen bij de zuigeling tot dezelfde groep van haemorrhagieën behooren, zooals de melaena, navelstrengbloedingen, is er althans één overeenkomst te bespeuren. Het prothrombinegehalte in het plasma bij talrijke gevallen van intracraniale bloedingen kan bijzonder laag zijn.

Er is natuurlijk nog een aantal spontaan optredende haemorrhagieën bij zuigelingen, die op andere oorzaken berusten, b.v. de essentieele of aangeboren fibrinopenie en misschien een haemophilie, die op zeer jeugdigen leeftijd manifest wordt. Deze bloedingen zullen ook naar alle waarschijnlijkheid niet reageren op het vitamine K.

Het is misschien aan te raden, om het prothrombinegehalte in het plasma van alle pasgeborenen gedurende de eerste dagen na de partus geregeld na te gaan, daar talrijke onderzoekingen in het bloed van pasgeborenen babies aangetoond hebben, dat het prothrombinegehalte daarin in de eerste levensweek zeer laag kan zijn. Door tijdige toediening van het vitamine K kan men dan levensgevaarlijke bloedingen voorkomen. Dit is vooral aan te raden, indien er in de voorgeschiedenis van de moeder reeds andere kinderen waren met haemorrhagieën. Men doet misschien wel goed om dan ook de moeder eenigen tijd voor de bevalling met het vitamine K te behandelen.

HOOFDSTUK IV.

METHODE VAN ONDERZOEK.

Beschouwingen en eigen onderzoek over de practische waarde van de methode van Quick voor de prothrombinebepaling in plasma.

Alle bestaande methoden om een vitamine K-deficientie op het spoor te komen, berusten op indirecte waarnemingen en wel van een bijzondere bloedstollingsanomalie. Het is nog niet mogelijk om het vitamine K in bloed, weefsels of voedingsmiddelen direct door middel van b.v. een specifiek chemische reactie quantitatief of kwalitatief aan te toonen. Wij kunnen een vitamine K-deficientie slechts vermoeden, indien het bloed een bepaalde afwijking vertoont, n.l. een trage stolling, en verder met groote zekerheid de deficientie aantonen, wanneer deze stollingsanomalie door toediening van vitamine K verdwijnt. Het moet zeker toegegeven worden, dat wij voor het stellen van een avitaminose K afhankelijk zijn van vrij onbevredigende onderzoekmethoden, daar het nog niet mogelijk is om het vitamine K direct aan te toonen. Eenige specificiteit wordt aan het onderzoek wel gegeven door de bepaalde wijze waarop de stollingsanomalie wordt nagegaan. De vrij grove bepaling van stollings- en bloedingstijd volgens de oude klinische methoden laat ons bij den afsluitingsicterus en bij de meeste leveraandoeningen in den steek. Er moet reeds een uitgesproken vermindering van een bepaalde stollingsfactor zijn, voordat stollings- en bloedingstijd een duidelijke afwijking vertoonen. En verder zegt het heelemaal niets over de oorzaak van den verlengden bloedstollingstijd. Daar het vitamine K een specifieke werking heeft op de vorming van het prothrombine, berusten alle bestaande onderzoekmethoden op het aantonen van een prothrombinedeficientie, die zich in een vertraagde bloedstolling uit.

Wij willen hier slechts volstaan met enkele methoden in het kort te beschrijven, om daarna uitvoerig in te gaan op de in dit proefschrift gebezigde werkwijze.

Methoden van Dam en Glavind.

Het principe van deze methode werd door A. Fischer in 1930 voor het eerst beschreven, die tevens een werkwijze ontwierp voor de bepaling van de bloedstolling bij vogels. Deze oorspronkelijke methode gebruikten Dam en medewerkers voor hun vitamine K-proeven bij kuikens. In 1938 werd een modificatie daarvan ontworpen en gebruikt voor de onderzoeken van het menselijk bloed. Dit gaat in principe als volgt:

Veneus bloed wordt met heparine onstolbaar gemaakt en in een centrifuge afgedraaid. Een kleine hoeveelheid plasma wordt in een microreageerbuis gebracht en daaraan toegevoegd een druppel weefselextract (mensenhersens). Bij een temperatuur van 39 graden Celsius (in een constant waterbad) wordt het oogenblik afgelezen, waarop dit mengsel stolt. De tijd, die er dan verloopt na de toevoeging van het weefselextract tot aan het oogenblik waarop het mengsel stolt, noemt men den stollingstijd van het onderzochte plasma. Door gebruik te maken van verschillende concentraties hersenweefselextract is het mogelijk die concentratie te bepalen, waarbij de stolling in 3 minuten optreedt. De concentratie aan weefselextract, die normaal plasma in 3 minuten doet stollen, noemen zij K_n en die, welke noodig is om aan dezelfde voorwaarden te voldoen voor het onderzochte plasma, K. De quotient $\frac{K}{K_n} = R$. gebruiken zij als maat voor de stollingsafwijking van het onderzochte bloed. Normaal is $R = 1$. Hoe slechter het bloed stolt, hoe grooter de waarde R is.

Deze methode heeft weinig opgang gemaakt. Hoewel gevoeliger dan de oude klinische methoden om den stollingstijd te bepalen, is ze vrij ingewikkeld en blijkt toch niet geschikt te zijn om kleine stollingsafwijkingen op het spoor te komen. Verder is ze weinig specifiek voor het aantoonen van een prothrombinedeficientie.

In 1935 heeft Quick een gevoeliger en meer specifieke methode beschreven, die nu bijna overal voor het routineonderzoek wordt gebruikt. Hierover later meer.

Methode van Smith, Warner en Brinkhous.

Deze is vermoedelijk de beste, maar tevens de meest ingewikkelde en bewerkelijke methode om het prothrombine in het plasma te bepalen. Dit is de z.g. „two stage technic”, in tegenstelling met de „one stage method” van Quick en van Dam en Glavind. De totale stollingstijd bestaat immers uit den z.g. prothrombine-conversietijd, d.w.z. de tijd, noodig voor de omvorming van het prothrombine in het thrombine, plus de tijd, die noodig is voor de reactie van het thrombine met het fibrinogeen.

Smith, Warner en Brinkhous meenen, dat het beter is om deze twee fasen bij de bepalingen van elkaar te scheiden en alleen de tweede fase te gebruiken voor de determinatie van het prothrombine. Alleen het gehalte aan thrombine bepaalt immers de snelheid, waarmee het bloed stolt en het thrombinegehalte zelf is natuurlijk afhankelijk van de hoeveelheid prothrombine.

In principe gaat dus de bepaling als volgt:

Het prothrombine in het plasma wordt eerst omgevormd tot thrombine en dit wordt met fibrinogeen getitreerd.

Mehode van Smith, Ziffren, Owen en Hoffman.

In 1939 ontwierpen deze onderzoekers een z.g. „Bedside-test”, die, hoewel ook niet specifiek, toch zeker in de practijk goed kan worden gebruikt voor routineonderzoek van het prothrombine bij de vitamine K-therapie. Deze methode zullen wij gemakshalve precies beschrijven.

0,1 cc thromboplastin = weefselextract (bereiding zie methode van Quick) wordt in een serologisch buisje van 75 mm hoogte en 10 mm middellijn gedaan. Door middel van een venapunctie wordt wat bloed van den patiënt afgetapt en dadelijk 1 cc daarvan toegevoegd aan het thromboplastine. Voor het gemak kan men een 1 cc streepje aan den buitenkant van het buisje aanbrengen. Het buisje wordt met den vinger afgesloten en iedere 2 seconden omgekeerd, tot het bloed stolt. Als contrôleproef wordt deze test ook uitgevoerd met normaal bloed. De tijd, die verloopt tusschen het toevoegen van het totale bloed aan het thromboplastine en het oogenblik waarop de massa stolt, noemt men den stollingstijd.

Nu is $\frac{\text{stollingstijd van normaal persoon}}{\text{stollingstijd van patiënt}} \times 100 = \text{„Clotting activity”}$ en wordt in procenten van het normale uitgedrukt.

Wanneer het bloed van den patiënt dus b.v. in 50 seconden stolt en dat van den normalen conrôlepersoon in 25 seconden, dan bedraagt de Clotting activity $\frac{25}{50} \times 100 = 50\%$ van het normale.

Het oorspronkelijke thromboplastine-preparaat werd door Smith en medewerkers bereid uit versche konijnen- of ossenlong. Dit weefsel wordt fijngemaakt en aan iedere 10 gram van het materiaal wordt dan 10 cc. physiologische zoutoplossing (0,9 %) toegevoegd. Dit mengsel roert men verscheidene uren lang met tusschenpoozen goed door elkaar en filtreert het daarna door een stuk gaas. Het filtraat noemt men dan het z.g. thromboplastine. Volgens de auteurs zou dit preparaat goed in een ijskast te bewaren zijn.

Methode van Quick en Grossman voor het bepalen van het prothrombine bij zuigelingen.

Op een glazen plaatje of een horlogeglas brengt men een druppel weefselextract (thromboplastine). Door middel van punctie in den hiel laat men een druppel bloed op het druppeltje weefselextract vallen en roert dit dan met een puntig staafje goed door elkaar. Door de reactie boven een lichtbron te bekijken, kan men vrij nauwkeurig het moment van stolling vaststellen. Normaal bloed stolt dan in 15—20 sec. (afhankelijk van de activiteit van het weefselextract).

Later hebben Kato en Poncher deze methode veel verbeterd en een microprothrombinetest in de wereld gebracht, die op dezelfde principes berust als de origineele methode van Quick. Deze microtest is heel eenvoudig, daar een venapunctie bij zuigelingen meestal bezwaarlijk gaat en herhaalde puncties in de sinus longitudinalis superior of in de vena jugularis niet wenschelijk zijn. Bij deze methode van Kato en Poncher volstaat men met 10—15 cubieke mm capillair bloed, b.v. uit den hiel.

In een speciaal daarvoor gemaakt instrument zuigt men citraatbloed en andere reagentia in bepaalde verhoudingen op en kan zodoende den stollingstijd van het plasma goed beoordeelen.

Rerábek: Micromethode voor de prothrombinebepaling (1941).

Een modificatie op de micromethode van Plum en Dam.

Het nadeel van de methode van beide laatste onderzoekers zou o.a. zijn de beïnvloeding van de enzymatische processen bij de bloedstolling, omdat daarbij heparine wordt gebruikt voor het onstolbaar maken van het bloed. Rerábek deed de bepaling op de volgende wijze:

In een pipet zuigt men 0,1 cc 3 % Natriumcitraat, daarna brengt men de punt van de pipet in een bloeddruuppel (vinger) en zuigt 0,1 cc bloed op, zoodat de totale inhoud van het citraatbloed in de pipet 0,2 cc bedraagt. Dit blaast men uit in een reageerbuisje met een doorsnede van 8 mm of kleiner en voegt daaraan toe 0,2 cc 1,1 % calciumchloride. Dit mengsel schudt men goed door elkaar en met een andere 1 cc pipet voegt men daaraan toe 1 druppel thrombokinase-oplossing. Tegelijkertijd zet men een stopwatch in beweging. Door het reageerbuisje heen en weer te kantelen, observeert men het oogenblik waarop het mengsel stolt en leest dan op het uurwerk den stollingstijd af. Gemiddeld bedraagt de prothrombinestollingstijd voor normaal plasma 53,5 sec. Deze waarde is natuurlijk afhankelijk van de activiteit van het thrombokinase (weefselextract). De bereiding van het weefselextract geschiedt als volgt: Gelijke gewichtshoeveelheden menschen- of konijnshersens en physiologisch water wrijft men uit tot een papje. Deze brei laat men 30 minuten bij een temperatuur van ongeveer 16° C staan. Daarna filtreert men het papje door eenige lagen verbandgaas tot het filtraat vrij van grove bestanddeelen is. In fleschjes of ampullen bewaart men het filtraat bij ijskasttemperatuur. Rerábek raadt aan om de bereiding van het thrombokinase zoo snel mogelijk te doen en liefst bij lage temperatuur. Vóór het gebruik verwarmt men het fleschje of de ampulle in de hand en mengt den inhoud eerst goed door elkaar.

Methode van Quick voor de bepaling van den prothrombinestollingstijd in het plasma.

In 1935 beschreven Quick, Stanley-Brown en Bancroft een methode om het prothrombinegehalte in het plasma te bepalen. Zij gingen uit van den volgenden gedachtengang: Het stollingsproces heeft 2 fasen.

1e Phase: Prothrombine + Thromboplastine + Calcium =
Thrombine.

2e Phase: Thrombine + Fibrinogeen = Fibrine.

Talrijke onderzoekingen hebben aangetoond, dat de snelheid, waarmee het stollingsproces optreedt, practisch alleen afhangt van het gehalte aan thrombine en dus indirect van het prothrombine in het bloed. De hoeveelheid fibrinogeen bepaalt alleen de stevigheid van het stolsel.

Bij den afsluitingsicterus heeft men vaak genoeg aangetoond, dat het calciumgehalte en het fibrinogeengehalte in het bloed niet verminderd zijn (zie hoofdstuk over haemorrhagische diathesen).

Wanneer men dus het gehalte aan thromboplastine en calcium constant houdt, dan hangt de hoeveelheid gevormde thrombine af van het gehalte aan prothrombine. Neemt men nu oxalaatplasma (door het oxalaat wordt het calcium in het bloed gebonden) en voegt daaraan toe een constante hoeveelheid thromboplastine en calcium, dan is het prothrombinegehalte de eenige variabele factor. De stollingstijd van het plasma kan men dan onder deze omstandigheden als directe maatstaf nemen voor het prothrombinegehalte in het bloed (plasma).

Door het uitproberen van verschillende concentraties calcium en thromboplastine kwamen **Quick** en medewerkers tot de volgende methode:

9 cc bloed wordt door middel van een venapunctie in een recordspuit opgezogen, waarin van te voren 1 cc 1/10 molair natrium-oxalaat gebracht is. Het oxalaatbloed wordt in een centrifuge gedurende 5 minuten afgedraaid (niet te hooge snelheid) en het plasma afgepipeteerd. 0,1 cc daarvan brengt men in een droog en schoon reageerbuisje (hoogte 100 mm en diameter 13 mm). Daaraan voegt men toe 0,1 cc thromboplastine en 0,1 cc calciumchloride 1/40 molair. Het buisje wordt afgesloten, de inhoud snel gemengd en het buisje regelmatig op en neer gekeerd in een waterbad met een temperatuur van 37 gr. Celsius. De tijd, die dan verloopt tusschen de toevoeging van het calcium en de vorming van een solide massa, noemt **Quick** den prothrombine-stollingstijd. Hoeveel deze voor normaal bloed bedraagt is zeer wisselend en hangt af van de activiteit van het thromboplastine.

Quick geeft als normale waarde aan een stollingstijd van

22—25 seconden, terwijl hij in dezelfde publicatie (1935) 16—17 sec. normaal noemt. Deze waarden zullen vanzelfsprekend steeds variëren, naar gelang de werkzaamheid van de weefselextracten.

In tegenstelling met de methode van Dam en Glavind, bleek, dat Quick en medewerkers een minimumstollingstijd konden krijgen door kleine, optimale hoeveelheden thromboplastine (weefselextract) te gebruiken. De stollingstijd kon niet worden verkort door grootere hoeveelheden weefselextract aan de reactie toe te voegen. Dam en Glavind titreerden immers de hoeveelheid prothrombine met verschillende concentraties weefselextract om een minimalen stollingstijd te krijgen.

Quick vond, dat het geen verschil maakte of hij 0,01 cc, 0,10 cc of 0,20 cc thromboplastine gebruikte. Voor het gemak nam hij 0,10 cc.

Ook wij kwamen bij de contrôleproeven tot dezelfde resultaten als Quick en zijn medewerkers.

TABEL I

Thromboplastine toegevoegd aan 0,1 cc plasma en 0,1 cc CaCl ₂ (extract van menschenhersen).	Stollingstijd in seconden.				
	0,00 cc	140	115	165	125
0,005	70	35	53	50	73
0,01	30	23	27	31	35
0,02	27	21	24	26	26
0,05	22	21	22	20	24
0,10	22	22	22	20	24
0,20	22	21	22	20	24
0,25	23	23	22	21	24

Wanneer wij teveel weefselextract gebruiken, zal de prothrominestollingstijd weer oploopen, omdat wij dan het prothrombine in het plasma teveel verdunnen.

Dat dit zoo is, ziet men, wanneer van het plasma verschillende concentraties worden gemaakt en men daarvan den stollingstijd bepaalt. Om te voorkomen, dat daardoor ook de andere stollingsfactoren zullen worden verdund, kan men concentraties maken door aan het plasma toe te voegen prothrombinevrij plasma (plasma behandeld met aluminium-hydroxide). Merkwaardig is

echter, dat, als men physiologische zoutsolutie of Ringersche vloeistof als verdunningsmiddel gebruikt, men precies dezelfde uitkomsten krijgt als met het prothrombine-vrij plasma. Dit wijst er ook op, dat iedere verlenging van prothrombinestollingstijd uitsluitend te wijten is aan een vermindering van het prothrombine.

Quick nam de volgende resultaten waar.

TABEL II

Normaal plasma	Verdunning met phys. zoutopl.	Stollingstijd	Verdunning met prothr. vrij pl.	Stollingstijd
0,5 cc	0,0 cc	23 sec.	0,0 cc	23 sec.
0,4	0,1	30	0,1	31
0,3	0,2	35	0,2	35
0,2	0,3	45	0,3	45
0,1	0,4	65	0,4	65

Enkele nadere bijzonderheden over de methode van Quick.

Deze methode is in de Utrechtsche kliniek, evenals in vele andere ziekenhuizen, gebleken zeer geschikt te zijn voor het routinebloedonderzoek van icterische patiënten.

Wij zuigen voor een enkel onderzoek 0,2 cc 1/10 mol. Natriumoxalaat in een recordspuit en door middel van een venapunctie wordt de spuit aangevuld met bloed tot een hoeveelheid van 2 cc. Deze quantiteit is meer dan voldoende voor het verkrijgen van plasma, genoeg voor een serie bepalingen. Voorzichtig mengen, daar er door te hard schudden vaak haemolyse kan optreden. Dit oxalaatbloed wordt 5 minuten, met een snelheid van 3000 omwentelingen per minuut, in een centrifuge afgedraaid. Hierbij dient men rekening te houden met de noodzakelijkheid, het bloed steeds met dezelfde snelheid en gedurende denzelfden tijd af te draaien.

Het was reeds Quick opgevallen, dat de prothrombinestollingstijd toenam, naarmate hij de snelheid en den duur waarmede hij het oxalaatbloed afdraaide, vergrootte. Quick meende dit verschijnsel te kunnen verklaren door aan te nemen, dat door de grootere snelheid steeds meer thrombocyten uit het plasma worden verwijderd.

Het is natuurlijk ook mogelijk, dat het prothrombine zelf door het centrifugeeren uit het plasma wordt neergeslagen of door de beweging wordt vernietigd. Teneinde dit na te gaan, hebben wij plasma blootgesteld aan het mechanisch geweld van een schokmachine, daar wij ons moeilijk kunnen voorstellen, dat er bij een regelmatig ronddraaiende beweging van een centrifuge sprake kan zijn van mechanische beschadiging. Dit bleek echter geen invloed uit te oefenen op den prothrombinestollingstijd.

TABEL III.

Plasma-monsters	Prothrombinestollingstijd bij bepaalde duur en snelheid waarmede het plasma wordt afgedraaid.					
	5 min.	10 min.	½ uur	2 uur	4 uur	6 uur
1	23 sec.	23 sec.	28 sec.	30 sec.		geen stolling na 3 min.
2	21 ..	21 ..			50 sec.	geen stolling na 5 min.
3	25 ..	25 ..	40 ..	165 ..	230 ..	geen stolling na 8 min.
4	25 ..	25 ..	32 ..	45 ..	180 ..	

TABEL IV.

Schokmachine.

Plasma-monsters	Begin	1 uur	2 uur	3 uur	5 uur
1	21 sec.	21 sec.	25 sec.	22 sec.	25 sec.
2	23 ..		23 ..	24 ..	24 ..
3	25 ..	26 ..	24 ..	26 ..	26 ..
4	26 ..	25 ..	27 ..	27 ..	27 ..

Onderzoeken wij nu de verschillende lagen van het afgedraaide plasma, dan merken wij daarin ook geen verschil in stollingstijd.

Deze bevindingen pleiten dus voor de opvatting van Quick, dat door een te snel en te lang afdraaien van het oxalaatbloed te weinig thrombocyten in het plasma overblijven. Nygaard heeft in 1934 gevonden, dat de stollingstijd van het plasma in groote

lijnen omgekeerd evenredig is aan het aantal thrombocyten, dat in het plasma overblijft.

TABEL V.

Plasma	Stollingstijd		
	10 min. afgedraaid	25 sec.	
3 uur	bovenste laag	na omroeren	onderste laag
	165 sec.	155 sec.	
6 uur	na 8 min. geen stolling	id.	id.

Het is verder noodzakelijk om het plasma zoo versch mogelijk te onderzoeken, daar het prothrombine vrij gevoelig is voor temperatuur en blijkbaar vernietigd wordt wanneer het te lang met de lucht in aanraking blijft. Is men toch genoodzaakt om het materiaal eenige uren weg te zetten, dan is het aan te bevelen om het plasma in een afgesloten fleschje of reageerbuisje bij ijskasttemperatuur te bewaren, ofschoon men daarmee het prothrombine niet vrijwaart tegen vernietiging.

TABEL VI.

Normaal plasma	Prothrombine stollingstijd				
	Versch	Bewaard bij kamertemp. 3 uur	Idem 8 uur	Idem 24 uur	Ijskast 24 uur
I.	25 sec.	25 sec.	28 sec.	37 sec.	28 sec.
II.	22 "	23 "	27 "	30 "	26 "
III.	22 "	22 "	28 "	28 "	25 "
IV.	22 "	23 "	28 "	40 "	30 "
V.	22 "	22 "	30 "	35 "	28 "
VI.	23 "	—	—	37 "	29 "
VII.	23 "	—	—	32 "	27 "

Wanneer men plasma gedurende 15 minuten bij 56° Celsius verwarmt, dan zal het prothrombine daarin grootendeels worden vernietigd.

Quick '40 heeft aangetoond dat de oorzaak van de verlenging

van den prothrombinestollingstijd in bewaard oxalaatplasma, niet gelegen is in een vermindering van het fibrinogeengehalte of in een vermeerdering van de hoeveelheid antistollingsstoffen, maar waarschijnlijk gezocht moet worden in een vermindering van het prothrombine zelf.

Voor de bepaling van den prothrombinestollingstijd gebruiken wij microreageerbuisjes met een lengte van $3\frac{1}{2}$ cm en een middellijn van 6 mm. Deze afmetingen bleken de geschikste te zijn voor een snel en gemakkelijk waarnemen van de stolling. Het gebruik van puntig uitlopende pipetten vergemakkelijkt het toevoegen van de verschillende reagentia. Ook komt het er zeer op aan, dat men steeds schoone reageerbuisjes en pipetten gebruikt.

Nadat men $\frac{1}{10}$ cc plasma, $\frac{1}{10}$ cc thromboplastine en snel $\frac{1}{10}$ cc $\frac{1}{40}$ mol. calciumchloride in het microreageerbuisje bij elkaar heeft gedaan, sluit men het af met den vinger en dompelt dit alles in een waterbad met een constante temperatuur van 37—38 gr. C. Regelmatig keert men het buisje om en om. De tijd, die er dan verloopt tusschen de toevoeging van het calciumchloride en het oogenblik waarop het plasma stolt, neemt men met een stopwatch op. Dit is dan de prothrombinestollingstijd van het plasma. Het moment, waarop de vloeibare massa verandert in een vast geheel, geschiedt plotseling en is scherp af te lezen. Maken wij verschillende verdunningen van het plasma, dan zal eindelijk ook de vermindering van het fibrinogeen een invloed uitoefenen op de stolling. Bij een verdunning van 20 % ontstaat het stolsel langzamer, is slap en doorschijnend, zoodat het moeilijker wordt om het begin van de stolling precies vast te stellen.

Bereiding van het thromboplastine.

Het is reeds lang bekend, dat verschillende weefselextracten de bloedstolling kunnen doen versnellen. Tevens wist men, dat deze extracten slechts bij aanwezigheid van het prothrombine in staat waren het fibrinogeen te doen stollen. Morawitz noemde de stof, die in de weefsels aanwezig moet zijn, thrombokinase. Later gebruikte men den naam cytozyme.

Howell stelde voor om aan de actieve stof den naam te geven van thromboplastin. Ook het thrombozyme gebruikt men

wel eens om de factor aan te duiden. Wij zullen ons houden aan den term thromboplastine, omdat Q u i c k in zijn werken ook van deze nomenclatuur gebruik maakt.

Als materiaal kan men gebruiken hersen-, long- of thymusweefsel. Het bezwaar van longweefsel is, dat men het niet gemakkelijk bloedvrij kan maken door de talrijke capillairen, die in het parenchym aanwezig zijn. Zodoende loopt men kans om het prothrombine van het bloed, dat men bij de bereiding van het extract niet geheel heeft kunnen verwijderen, ook mee te bepalen.

Q u i c k zelf gebruikte konijnenhersens, die hij oorspronkelijk op de volgende wijze toebereidde.

Versche konijnenhersens worden zorgvuldig van de bloedvaten en de pia mater ontdaan. Daarna worden ze goed in water gewasschen en in een mortier uitgewreven. Wil men versche emulsies gebruiken, dan neemt men 1 gr. van de uitgewreven massa en voegt daaraan toe 10 cc physiologische zoutoplossing. Men krijgt dus een 10%-emulsie. Dit mengsel wordt dan 15 min. lang op 60 gr. C. verwarmd, om de laatste resten prothrombine, die misschien toch nog in de emulsie zijn achtergebleven, te inactiveren. Daarna voorzichtig afcentrifugeeren en de bovenstaande, melkachtige vloeistof bevat dan het thromboplastine.

Ook kan men een droog preparaat bereiden, dat eenigen tijd houdbaar is. Het fijngewreven hersenweefsel smeert men gelijkmatig over een stuk verbandgaas en droogt het bij 37 gr. C. Daarvan knipt men stukjes van 1 gr. en bewaart ze in een gesloten flesch bij ijskasttemperatuur. Voor het gebruik neemt men 1 stukje van 1 gr. en emulgeert het in 10 cc physiologisch water. Deze emulsie inactieveert men 15 minuten lang bij een temperatuur van 54 gr. C.

Vóórdat men aan de prothrombinebepalingen begint, moet men er wel voor zorgen, dat alle reagentia weer de normale kamertemperatuur hebben bereikt.

Den laatsten tijd gebruiken wij extracten van menschenhersens, daar dit voor ons gemakkelijker te krijgen is dan konijnenhersens. Eenig belangrijk verschil in activiteit tusschen beide weefsels hebben wij niet kunnen waarnemen. Wij prefereeren tevens het menschelijk weefsel, omdat Q u i c k in 1936 vond, dat het thromboplastine een lichten graad van specificiteit bleek te hebben voor

het bloed van de eigen species. Hij sprak van „Species specificity”. Loeb vond reeds in 1904, dat bij de stollingsproeven met kreeftenbloed, het weefsel van het dier een specificiteit vertoonde voor zijn eigen bloed. Mendeléeff vond in 1934 dat het embryonaal weefsel van Guineesche biggetjes het beste bloedstollingbevorderend werkte op het eigen bloed en in mindere mate de stolling van konijnenplasma activeerde. Op het bloed van kuikens werkte het totaal niet. Het menselijk materiaal wordt op dezelfde wijze toe bereid als de konijnenhersens.

Later beschreef Quick (1938) een andere methode om het thromboplastine te bereiden. In plaats van het hersenweefsel bij 37 gr. C. te laten indrogen, wordt het met aceton uitgetrokken. Ook hier stroopt men zorgvuldig de pia met de bloedvaten af en wrijft dan het hersenweefsel in aceton fijn. Dit wordt na eenigen tijd afgegoten en een versche hoeveelheid aceton aan de fijn-gewreven massa toegevoegd. Dit proces herhaalt men eenige malen, totdat er een fijn poeder overblijft, dat verder bij 37 gr. C. wordt gedroogd. Dit preparaat bewaart men in een gesloten flesch bij ijskasttemperatuur, waar het ongeveer 4 weken zijn volle activiteit kan behouden. Voor het gebruik neemt men 0,3 gr. poeder en emulgeert dat in 5 cc physiologische zoutoplossing, waarin 0,1 ^{maal} cc natriumoxalaat is opgelost. Men inactiveert het geheel gedurende 10 minuten bij een temperatuur van 45 gr. C., centrifugeert voorzichtig af, waarna men de bovenstaande melkachtige vloeistof voor de bepalingen kan gebruiken. Voor iedere bepaling neemt men hiervan ook 0,1 cc.

Het bezwaar van al deze thromboplastine-preparaten blijft toch de betrekkelijk slechte houdbaarheid van de stof.

Quick neemt als maat voor de bruikbaarheid van een weefselpreparaat een stollingstijd aan van maximaal 22—25 sec., die men krijgt door aan 0,1 cc normaal menselijk plasma 0,1 cc weefselextract toe te voegen en met 0,1 cc 0,025 mol. CaCl_2 te recalcificeeren.

Volgens verschillende auteurs zou het gedroogd hersenweefsel slechts 2—3 weken houdbaar zijn, omdat het daarna dan teveel van de activiteit verloren zou hebben om nauwkeurige bepalingen te kunnen doen. Onze ervaring daarover is echter anders.

Meestal krijgen wij met het versch gedroogd preparaat (toe-

bereid volgens de oorspronkelijke methode) uitkomsten, die variëeren tusschen 13—17 sec. prothrombinestollingstijd voor normaal menschelijke plasma. Daarna vermindert langzamerhand de activiteit, maar na 6 weken is het meestal nog in staat om normale stollingstijden te produceeren van 22—25 sec., dus nog binnen de bruikbaarheidsgrens, die Quick gesteld heeft. Na 10 weken krijgen wij stollingstijden van 27—30 sec.

TABEL VII.

Gedroogd hersensweefsel	Stollingstijd van normaal plasma			
	13 sec.	15 sec.	15 sec.	17 sec.
1e week	13 sec.	15 sec.	15 sec.	17 sec.
2e "	15 "	15 "	17 "	19 "
3e "	20 "	19 "	22 "	21 "
4e "	20 "	22 "	22 "	21 "
6e "	23 "	24 "	23 "	23 "
8e "	24 "	25 "	25 "	24 "
10e "	29 "	30 "	27 "	29 "

Van 4 verschillende monsters hersensweefselpreparaten hebben wij de activiteit regelmatig van de eerste week tot en met de tiende week gecontroleerd door middel van bepalingen van den prothrombinestollingstijd van normaal menschelijk plasma. De gemiddelde waarden daarvan worden in bovenstaande tabel aangegeven.

Eénmaal hebben wij het thromboplastine bereid volgens de acetonmethode van Quick, maar helaas hebben wij daar te weinig gegevens over om met zekerheid de activiteit te kunnen beoordeelen. Wel hebben wij den indruk gekregen, dat er weinig verschil in activiteit bestaat tusschen het waterige en het acetonweefselextract.

Pohle en Stewart (1939) hebben bij een vergelijkend onderzoek van beide weefselextracten wel gevonden, dat het met aceton uitgetrokken materiaal actiever was dan het waterige extract.

Ook hebben wij opgemerkt, dat verschillende monsters van eenzelfde preparaat niet altijd een even groote activiteit vertoonen. Wanneer wij echter normaal plasma nemen van een aantal controlepersonen, dan zullen de prothrombinestollingstijden daarvan,

bepaald met eenzelfde monster thromboplastinepreparaat, praktisch gelijk zijn. Laten wij b.v. aannemen 20 sec. Bepalen wij nu van dezelfde plasma's den stollingstijd met een ander monster weefsel-emulsie, dan is het best mogelijk, dat wij een anderen normalen prothrombinestollingstijd vinden, b.v. 24 sec., maar alle monsters plasma zullen dan die normale waarde hebben.

Het prothrombinegehalte in het bloed van den mensch is dus opmerkelijk constant. Dit feit werd reeds door Quick in 1935 waargenomen.

Onderzoek van een serie monsters normaal bloedplasma.

TABEL VIII.

Normaal plasma	Prothrombine stollingstijden na toevoeging van verschillende monsters thromboplastine					
	16-9-'40	16-9-'40	18-9-'40	18-9-'40	21-9-'40	27-9-'40
I.	21 sec.	22 sec.	26 sec.	20 sec.	22 sec.	25 sec.
II.	21 "	23 "	25 "	20 "	23 "	25 "
III.	20 "	23 "	24 "	20 "	23 "	24 "
IV.	22 "	23 "	25 "	21 "	23 "	26 "
V.	21 "	22 "	24 "	20 "	24 "	24 "
VI.	21 "	23 "	25 "	20 "	22 "	26 "
VII.	21 "	22 "	24 "	21 "	23 "	24 "
VIII.	21 "	22 "	24 "	21 "	22 "	24 "
IX.	20 "	23 "	24 "	20 "	23 "	24 "
X.	21 "	23 "	25 "	22 "	23 "	25 "

Wij zijn daarom van meening, dat het niet juist is om te zeggen, dat de normale prothrombinestollingstijd van normaal menschelijk plasma, een bepaald aantal seconden moet bedragen.

Zoolang men werken moet met onstabiele, biologische reagentia, zal dat ook onmogelijk zijn. Want, behalve door de hoeveelheid prothrombine, zal de stollingstijd van het plasma ook bepaald worden door de activiteit van het thromboplastinepreparaat. *Om foutieve waarnemingen te vermijden, is het dus noodzakelijk, om bij elk onderzoek ook een contrôle-prothrombinebepaling te doen in normaal plasma.*

Berekening van het prothrombinegehalte in procenten van het normale.

Het gehalte aan prothrombine in het plasma kan men ook uitdrukken in procenten van het normale. Daartoe maakt men een reeks verdunningen van normaal plasma met physiologische zoutoplossing, Ringersche vloeistof of met prothrombinevrij plasma en bepaalt van deze verschillende concentraties den prothrombine-stollingstijd. *Quick* toonde aan, dat het geen verschil geeft, welke van de drie verdunningsmiddelen men gebruikt.

Aangezien men geen bepaalden minimum-stollingstijd kan vaststellen als normale waarde voor normaal menselijk plasma, is het ook onmogelijk om te spreken van vaste stollingstijden voor de verdunningen. Zetten wij echter de gevonden stollingswaarden uit in een curve, dan zal de gevormde lijn practisch altijd hetzelfde verloop hebben (fig. 2).

Voorbeeld van een verdunningstabel.

TABEL VIII.

Plasma + Physiol. water	%	Stollingstijd
1,0 cc + 0,0 cc =	100	22 sec.
0,9 " + 0,1 " =	90	23 "
0,8 " + 0,2 " =	80	25 "
0,7 " + 0,3 " =	70	26 "
0,6 " + 0,4 " =	60	27 "
0,5 " + 0,5 " =	50	28 "
0,4 " + 0,6 " =	40	32 "
0,3 " + 0,7 " =	30	36 "
0,2 " + 0,8 " =	20	45 "
0,1 " + 0,9 " =	10	60 "

In een curve uitgezet krijgt men de volgende lijn (fig. 1).

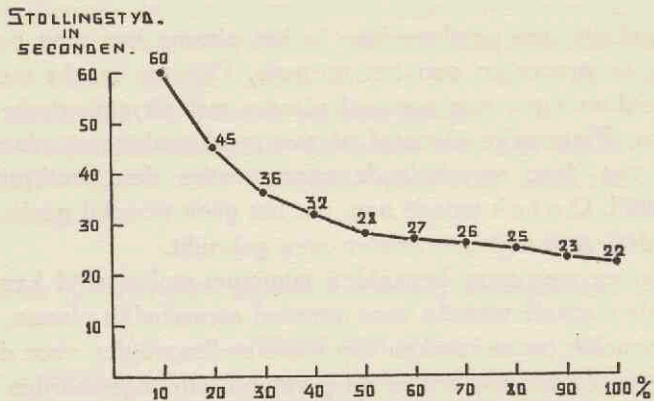


Fig. 1.

Heeft men nu van het onderzochte plasma een stollingstijd gevonden van b.v. 32 sec. en voor het controle normaalplasma b.v. 22 sec., dan bedraagt het prothrombinegehalte van het eerste plasma volgens bovenstaande tabel of curve 40 % van het normale.

Wij kunnen in fig. 2 opmerken, dat alle lijnen parallel aan elkaar loopen. Het verschil in hoogte, waarmede zij beginnen, wordt veroorzaakt door de meerdere of mindere activiteit van het thromboplastine dat men gebruikt. Verder zien we, dat de lijnen geleidelijk aan oploopen tot 20—30 %, waarna ze plotseling vrij steil stijgen. Er moet ongeveer 75 % van het prothrombine verdwenen zijn, vóórdat er een duidelijke stollingsvertraging optreedt. Daar is dus een vrij groote marge van veiligheid. Deze bevinding is in overeenstemming met de klinische waarnemingen, waar de ervaring geleerd heeft, dat een patiënt, in het algemeen bij een prothrombinegehalte van minder dan 40 %, zich bevindt in de gevaarlijke zône, waar de kans op het optreden van bloedingen het grootst is.

Ook zien we, dat de stollingstijden van 100 %, 90 % en 80 % prothrombine practisch gelijk zijn. Pas bij een verdunning tot 70 % ziet men een duidelijker stollingsvertraging van het plasma. Een vermindering van 20 % prothrombine uit het plasma is dus met de onderzoekmethode van Quick niet aan te toonen.

De onderzoeksmethode van Quick heeft in den loop der jaren natuurlijk ook blootgestaan aan critiek. (Warner, Brinkhous en Smith 1936; Smith, Ziffren, Owen en Hoffman 1939; e.a.) Daarbij kwam het steeds hierop neer, dat bovengenoemde methode niet specifiek genoeg zou zijn voor de bepaling van het prothrombine in het bloed. Ondanks alle geopperde bezwaren, wordt ze vooral in Amerika, maar ook elders, zeer veel in klinieken voor het routineonderzoek gebruikt. Door de betrekkelijke eenvoud is ze ook heel goed geschikt om buiten de ziekenhuizen, in de praktijk, gebruikt te worden.

STOLLINGSTYD
IN
SECONDEN.

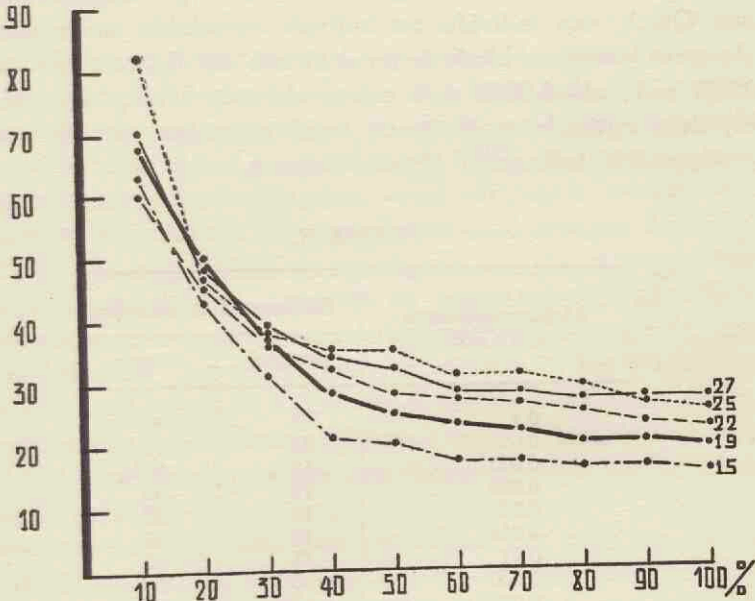


Fig. 2.

Enkele verdunningscurven van normaal menselijk plasma.

Men heeft ook verschillende modificaties en suggesties op de oorspronkelijke Quick-methode naar voren gebracht, waarvan enkele wat meer de aandacht verdienen.

In 1939 hebben Pohle en Stewart de Quick-methode nauwkeurig bestudeerd.

Allereerst gingen zij den invloed na van verschillende concentraties CaCl_2 die bij deze methode worden gebruikt.

Zij vonden, dat de prothrombine-stollingstijd van normaal plasma te veel verschillen vertoont wanneer het recalcificatieproces met 0,1 cc—0,025 molair CaCl_2 wordt gedaan zooals Quick het aangeeft.

Het was gewoonlijk ook niet mogelijk om een prothrombine-stollingstijd van 12—13 sec. in normaal plasma te verkrijgen zonder de calciumconcentratie te veranderen.

85 monsters normaal plasma en 1 geval van obstructie-icterus met een haemorrhagische diathese werden voor het onderzoek gebruikt. Daarbij vonden zij, dat de optimale hoeveelheid calcium die noodig was om een minimalen stollingstijd te verkrijgen met de methode van Quick, van individu tot individu verschilde, maar over het algemeen genomen, bleek de recalcificatie met 0,1 cc—0,01 mol.,—0,005 mol., of—0,0025 mol. calciumchloride het optimum te zijn. Bij deze optimale recalcificatie werd gevonden, dat de normale prothrombinestollingstijd 10 sec. bedroeg.

TABEL X.

Molairconcentratie van CaCl_2	Stollingstijd in seconden	
	normaal	icterus
0,1	46	340
0,05	22	73
0,033	$15\frac{1}{2}$	$49\frac{1}{2}$
0,025	14	40
0,02	13	38
0,015	12	32
0,01	11	32
0,005	10	29
0,0025	$10\frac{1}{2}$	29
0,00125	18	50
0,000625	$38\frac{1}{2}$	124

Pohle en Stewart concludeerden daaruit, dat een prothrombinestollingstijd van 10 sec. de aanwezigheid van 100 % prothrombine aangeeft.

Deze conclusie willen wij bestrijden.

TABEL XI.

Calciumchloride Mol.-gew.	Stollingstijden van plasmamonsters											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
0,1	101	99	85	105	109	105	127	93	180	164	105	Plasmamonsters: V, VI. = Werlhof.
0,5	34	34	31	32	36	34	38	31	56	43	35	
0,025	21,5	22	22	22	23	23	26	23	35	29	22	
0,015	20	19,5	21,5	22	21	22	23	21	31	27	21	Plasmamonsters: VII = Coeliakie.
0,01	24	23	22	22	21	22	24	22	32	28	21	
0,005	29	27	25	25	25	26	28	25	41	36	27	Plasmamonsters: IX en X = afsluitingsicterus.
0,0025	30	29	27	31	32	31	39	29	64	53	30	
0,00125	112	109	73	110	105	85	135	105	205	193	115	

Onze eigen contrôleproeven (zie bovenstaande tabel) hebben de bevindingen van Pohle en Stewart bevestigd. Wij vonden ook, dat met een concentratie van 0,015 mol. gew. calciumchloride (dus kleiner dan Quick gebruikt, n.l. 0,025 mol. gewicht) een minimum prothrombinestollingstijd werd verkregen, zoowel voor normaal, als voor plasma bij verschillende aandoeningen. Maar het is volgens ons niet logisch om te zeggen, dat een prothrombinestollingstijd van 10 sec. aangeeft de aanwezigheid van 100 % prothrombine. Dus iedere prothrombinestollingstijd van meer dan 10 sec. beteekent, dat er minder prothrombine in het plasma zit.

Pohle en Stewart hebben geen rekening gehouden met de activiteit van het weefselextract, die toch nooit stabiel blijft en zelfs verschillen vertoont als men monsters thromboplastine van hetzelfde preparaat gebruikt.

Naar onze meening kunnen wij niet zeggen, dat er bij een gehalte van 100 % prothrombine een bepaalde stollingstijd hoort, zelfs als wij een optimale hoeveelheid calciumchloride gebruiken.

Verder vonden Pohle en Stewart, dat, ofschoon het recalcificatieproces geen physiologische handeling is, de optimale hoeveelheid calcium, die noodig is voor de stolling in vitro, gelijk is aan het normale calciumgehalte in het bloedserum. Proeven met verschillende hoeveelheden calcium in den vorm van calciumchloride toonden aan, dat, wanneer zij minder dan 8 mg of meer dan 13 mg per 100 cc gebruikten voor de stollingsproeven, de

prothrombinestollingstijd van het plasma schijnbaar verlengd is.

Zoals reeds tevoren gezegd, kan men het prothrombinegehalte van bloedplasma in procenten uitdrukken door een grafiek te maken van de stollingstijden van diverse plasmaverdunningen met Ringersche oplossing of physiologische zoutoplossing.

Men ziet dan, dat de grafieklijn bij 20 of 30 % plotseling veel steiler omhoog begint te loopen dan tevoren. Hieruit concludeerde Q u i c k, dat er dus een groote marge van veiligheid bestaat en dat men eerst veel prothrombine moet verliezen, wil de stollingstijd van het bloed, en daarmee de kans op haemorrhagie, grooter worden. Wanneer physiologische zoutsolutie als verdunningsmiddel wordt gebruikt, zal behalve het prothrombine ook het fibrinogeengehalte o.a. verdund worden.

Bij de kleinere concentraties, meestal 20 of 30 %, wordt het moeilijk om precies te zien wanneer de stolling begint. Het stolsel ontstaat dan veel langzamer, is week en slap door het lage gehalte aan fibrinogeen. Het is dus mogelijk, dat daardoor geen zuivere waarnemingen worden gedaan en dat de steil omhooglopende grafieklijnen in werkelijkheid anders zullen verlopen.

P o h l e en S t e w a r t gebruikten daarom als verdunningsmiddel een zoutoplossing, waarin fibrinogeen was opgelost. Zij vonden echter een grafische lijn, die vrijwel gelijk was aan die van Q u i c k, zoodat men inderdaad kan zeggen dat de lijn na 20 % steil omhoog loopt.

Het is ons opgevallen dat troebel plasma soms een korteren prothrombinestollingstijd vertoont dan helder plasma.

Ook P o h l e en S t e w a r t merkten op, dat lipaemisch plasma vaak een korteren stollingstijd vertoonde dan helder plasma. Zij stelden voor om slechts prothrombinebepalingen te doen in helder plasma.

Nu beteekent troebel plasma niet altijd, dat het vetgehalte daarin verhoogd is. Quantitatieve vetbepalingen bij hun onderzoekmateriaal hebben zij echter niet uitgevoerd.

Deze bevindingen hebben wij niet nader kunnen bevestigen.

Men heeft ook op verschillende manieren getracht beter houdbare en stabiele weefselextracten te bereiden.

S o u t e r en K a r k (1940), hebben pogingen in die richting

gedaan. Zij bereidden thromboplastine-extracten volgens de oorspronkelijke methode van Quick (met de aceton-methode). Drie gram gedroogde konijnenhersenen worden gesuspenderd in 30 cc 0,85 % natriumchloride en op 56 graden C. verwarmd gedurende 15 minuten. In hoeveelheden van 1 cc wordt het centrifugaat in kleine serumfleschjes bewaard, nadat de inhoud „lyophilized” is. bij kamertemperatuur van 20 graden C.

In tegenstelling met het versche waterige extract, dat volgens Souter en Kark slechts enkele dagen houdbaar is, blijft het materiaal na lyophilization minstens 10 weken goed.

Onze ervaring is echter, dat ook het droge preparaat, volgens de oude methode bereid, minstens 8 weken goed houdbaar is. Het voordeel van het hersenextract na lyophilization zou zijn, dat het materiaal slechts na toevoeging van gedestilleerd water (voor elk fleschje 1 cc) direct voor gebruik klaar is.

Ervaring over deze „lyophilized” thromboplastine-preparaten hebben wij nog niet.

Is deze methode van Quick nu specifiek voor het bepalen van het prothrombinegehalte in het bloed? Het antwoord is ontkennend.

Zooals reeds gezegd, hangt de bloedstolling van nog andere factoren af. De invloed van de H-ionenconcentratie in het bloed en verschillende antistollingsstoffen mogen wij niet uit het oog verliezen.

Het vinden van een verlengden prothrombinestollingstijd met de Quickmethode wijst niet altijd op een prothrombine-tekort in het plasma.

Zeer interessant is in dit opzicht het critisch opgestelde werk van Dijk erhoff en Marx (Bioch. Z. Band 307/1940 —blad. 35. Über die Natur des hämorrhagischen Diathese bei Cholämie).

Zeer terecht hebben zij opgemerkt, dat de methode van Quick voor de prothrombinebepalingen dan alleen specifiek is, indien er in het stollingsstelsel geen stollingsremmende substanties aanwezig zijn of wanneer de remmende werking daarvan door een overmaat van thrombokinase kan worden opgeheven.

Onderzoekers hebben dit probleem vooral bij den afsluitingsicterus nagegaan. Het is bekend, dat vele bestanddeelen van de gal een remmenden invloed hebben op de bloedstolling.

Het is echter ook ditmaal niet gelukt om door middel van intra-

veneuze galinspuitingen bij proefdieren een vertraging van de bloedstolling te veroorzaken. In 1929 heeft o.a. Wildegans dergelijke proeven ook met negatieve resultaten gedaan.

Dijckerhoff en Marx vonden in het serum van alle cholaemisch gemaakte proefdieren het anti-thrombinegehalte verhoogd, ofschoon zij door intraveneuze galinjecties bij de ratten, 10 minuten, 2 en 6 uur na injectie geen stollingsanomalie vonden en geen verhoogd antithrombinegehalte in het bloed.

Zij stelden zich nu de vraag, of een overmaat van thrombokinase in staat is om de stollingsremmende werking van enkele bekende inhibitoren uit te schakelen. Het bleek uit de proeven, dat geringe concentraties aan inhibitoren door grotere hoeveelheden thrombokinase worden uitgeschakeld.

Bij vergroting van de concentratie der antistollingsstoffen is het thrombokinase niet meer in staat om den verlengden stollingstijd tot normale waarden te reduceeren. Wanneer men dan met de methode van Quick een verlengden prothrombinestollingstijd vindt, hoeft dit niet altijd te beteekenen, dat er uitsluitend een tekort aan prothrombine bestaat. Het is ook mogelijk, dat er een zoodanig teveel van antistoffen bestaat, dat de prothrombine-stollingstijd ondanks de overmaat thrombokinase die wij aan het plasma toevoegen, toch verlengd wordt.

Met dit voorbehoud is de methode van Quick echter in de practijk uitstekend geschikt om het prothrombinegehalte in het plasma te bepalen, vooral bij den afsluitings-icterus en bij leveraandoeningen.

Het is geen maatstaf voor het prothrombinegehalte alleen, maar voor de som van verschillende stollingsfactoren en deze methode is in ieder geval geschikt om een neiging tot bloeding op het spoor te komen.

Met de methode van Quick mogen wij verder pas waarde hechten aan een vermindering van het prothrombinegehalte, wanneer dat grooter is dan 20 %, terwijl men met de methode van Smith, Warner en Brinkhous tot tiende deelen van procenten nauwkeurig het prothrombinegehalte in het bloed kan bepalen.

Daartegenover staat, dat de methode van Quick veel eenvoudiger is dan die van Smith, Warner en Brinkhous, waarbij men b.v. een ijskast met een temperatuur van -30 graden C.

noodig heeft om reagentia eenigen tijd te kunnen bewaren. (persoonlijke mededeeling van Prof. J. Hoet te Leuven).

Deze laatste methode is ongetwijfeld van groote waarde in een Physiologisch „Research” laboratorium, maar in de kliniek gaat het er niet om of een patiënt 100 % of 80,3 % prothrombine bezit.

Het gaat er immers om of de patiënt een zoodanige vermindering van het prothrombine heeft, dat hij groote kans loopt een bloeding te krijgen. En deze kans treedt pas op, wanneer het gehalte aan prothrombine minder dan 50 % bedraagt. Prof. Hoet gebruikte naar aanleiding daarvan eens de volgende woorden: „Wij willen toch niet wachten met het redden van een drenkeling tot hij reeds half of geheel verdronken is.”

Wij gelooven niet, dat wij dat doen, al gebruiken wij voor het vitamine K-onderzoek slechts de methode van Quick.

Een patiënt met een prothrombinegehalte van 60—70 % kunnen wij nog niet vergelijken met een halfverdronken persoon en dat percentage aan prothrombine is met de methode van Quick zeer goed te bepalen.

Eigen onderzoekingen.

In de eerste plaats hebben wij opnieuw nagegaan, in hoeverre de methode van Quick voor de bepaling van het prothrombinegehalte in het bloed gebruikt mag worden voor een specifieke bepaling van deze stollingsfactor.

Onze bevindingen daaromtrent hebben wij reeds in het vorige hoofdstuk vastgelegd. Door de eenvoud van uitvoering en de groote mate van specificiteit is de methode uitermate geschikt om gebruikt te worden voor routineonderzoekingen bij leverziekten en aandoeningen van de galwegen.

Er zijn andere, nog eenvoudiger methoden voor de bepaling van het prothrombine in totaal bloed, maar deze zijn veel minder specifiek dan die van Quick.

Onderzoek van den prothrombinestollingstijd van het plasma bij personen gedurende een etmaal.

Wij hebben, evenals Quick en anderen, gevonden, dat het

prothrombinegehalte bij den mensch opmerkelijk constant is. (zie blad. 114).

Wij waren verder zeer benieuwd hoe het prothrombinegehalte in het bloed zich gedurende een etmaal gedroeg en of er eenige invloed te bespeuren was van de maaltijden.

Bij 20 proefpersonen bepaalden wij systematisch den prothrombinestollingstijd 's morgens voor het ontbijt, eenigen tijd daarna, verder nadat zij het middagmaal hadden gehad, vlak voor het avondeten en er na.

De uitkomsten van het onderzoek zijn in onderstaande tabel vastgelegd:

TABEL XII.

Plasma- monster	Prothrombinestollingstijd in seconden				
	nuchter	11 uur	14.30 uur	16.30 uur	19 uur
I.	23	22	21	21	22
II.	22	22	23	20	22
III.	22	22	22	21	22
IV.	21	24	22	21	22
V.	23	22	23	23	22
VI.	20	21	21	20	21
VII.	22	22	21	22	24
VIII.	23	22	22	23	23
IX.	22	22	23	22	23
X.	22	23	22	22	22
1	23	23	24	22	23
2	22	22	23	22	22
3	20	22	20	21	21
4	22	22	21	22	22
5	20	21	25	20	20
6	23	24	23	22	27
7	22	23	22	22	21
8	21	22	21	21	22
9	23	23	22	24	23
10	22	23	23	22	22

Wij zien dus dat ook in den loop van den dag het prothrombinegehalte bij deze 20 personen, bepaald met de methode van Quick, opmerkelijk constant blijft. Het aantal systematisch gedane onderzoekingen is natuurlijk te klein om op grond daarvan een bindende uitspraak te mogen doen. Maar uit de constante cijfers, die wij in het plasma van onze contrôlepersonen vonden, die, naar gelang het

uitkwam, op verschillende tijdstippen van den dag werden geprikt, meenen wij te mogen concludeeren, dat het prothrombinegehalte in het bloed van den mensch gedurende een etmaal niet of zeer weinig schommelt.

Het plasma dat na de maaltijden meestal troebel was, terwijl het 's morgens bijna steeds helder was, vertoonde geen duidelijke verschillen in prothrombinestollingstijd, dit in tegenstelling met de ervaring van P o h l e e n S t e w a r t (1939), die gevonden hebben, dat troebel plasma vaak een korteren prothrombinestollingstijd heeft dan helder plasma.

De prothrombinestollingstijd bij andere haemorrhagieën.

In de kliniek zijn wij ook in de gelegenheid geweest om andere haemorrhagische diathesen te onderzoeken:

TABEL XIII.

Naam	Ziekte	Prothrombinestollingstijd
1. Ldks.	Leucaemie met onderhuidsche bloedingen	21 sec. norm.: 20 sec.
2. Hvd.	„Purpura”, Haematurie	21 „ „ 20 „
3. Veldh.	Uraemische bloedingen	24 „ „ 20 „
		26 „ „ 21 „
4. Wals.	Subarachn. bloeding	23 „ „ 23 „
5. Jns.	„ „	23 „ „ 21 „
6. Lght.	Werlhof	20 „ „ 19 „
7. Boskjn.	„	19 „ „ 19 „
8. Schr.	„	24 „ „ 23 „
9. v. Grlan.	„	23 „ „ 22 „
10. de W.	„	23 „ „ 23 „
11. Hnvt.	Acute leucaemie + onderhuidsche bloedingen	23 „ „ 22 „
		22 „ „ 21 „
12. Hynk.	Acute leucaemie + onderhuidsche bloedingen	22 „ „ 21 „
		24 „ „ 25 „
13. Hnks.	Apl. anaemie + onderh. bloedingen	20 „ „ 20 „
14. Jns.	„ „	24 „ „ 25 „
15. de J.	„ „ + neus- en huidbloed.	20 „ „ 20 „
16. Schml.	Purpura rheumatica	24 „ „ 25 „
17. Bsch.	Recid. maagbl. zonder oorzaak	23 „ „ 24 „
18. Etkn.	Haemophilie	21 „ „ 21 „
		17 „ „ 18 „
19. Krp.	T.b.c. haemoptoe	21 „ „ 21 „
20. v. Ktn.	„	23 „ „ 24 „
21. Rifs.	Angioneurotisch oedeem, petechiën	24 „ „ 24 „
22. Nwn.	Onverklaarbare darmbloedingen	19 „ „ 20 „

In deze gevallen van haemorrhagieën zal theoretisch het vitamine K geen effect hebben op de bloedingen. Er zijn geen redenen om aan te nemen, dat er bij bovengenoemde ziekten een vitamine K-deficiëntie kan ontstaan en het prothrombinegehalte in het bloed, ook wanneer het bepaald wordt met de specifieke methode van Warner, Smith en Brinkhous, is nooit verminderd. Het is dan ook gebleken, dat het vitamine K in deze gevallen meestal geen effect zal hebben.

In 1939, in het beginstadium van onze vitamine K- en prothrombineonderzoekingen, kregen wij de kans om het Alfalfa-extract bij een haemophiliepatiënt te probeeren.

Het betrof een jongen van 13 jaar, die reeds geruimen tijd bij ons in de kliniek bekend stond als haemophilieëlijder. Bij zijn 23e opname wegens haematurie, haemarthros en onderhuidsche bloedingen, werd hij voor het onderzoek in het oorleletje geprikt, met als gevolg een dagenlang na blijven bloeden van het wondje, dat met geen middelen tot staan was te brengen. De prothrombinestollingstijd van het plasma was normaal. Ten einde raad gaven wij hem toch een Alfalfa-extract vermengd met rundergal, in capsules. Acht dagen later bloedde het wondje nog steeds. Het eenig probate middel om de bloeding tot staan te brengen was een drukverband, dat door een waschknijper aan het oorleletje werd bevestigd.

Toch is het niet geheel juist om bij een haemorrhagische diathese zonder prothrombinevermindering in het plasma, het vitamine K zonder meer te verwerpen. Deelen (1940) en Engelkes (1941) hebben bij 2 patiënten met een essentiële thrombasthenie zonder quantitative prothrombineafwijkingen in het plasma, prachtige resultaten gezien van een therapie met vitamine K en derivaten daarvan.

Misschien heeft deze antihaemorrhagische factor nog een andere werking dan het vormen van prothrombine in de lever. Het is niet onwaarschijnlijk, dat de vaatwand en de retractiliteit van het bloedstolsel een goede werking van het vitamine K ondervinden.

Onderzoek van het prothrombine in het plasma van enkele andere aandoeningen.

TABEL XIV.

Diagnose	Aantal gevallen	Gemiddelde prothrombine-stollingstijd	
		patient	contrôle
Actieve uitgebreide longtbc	12	23 sec.	22 sec.
Versche thrombose na een partus	3	21 sec. 21 " 20 "	23 sec. 22 " 20 "
Multiple myelomen	2	21 sec. 22 "	22 sec. 22 "
Postoperatieve tetanie Calciumgehalte 5,3 mg %	1	20 sec.	20 sec.
Deficiënte voeding	2	40 sec. 27 "	20 sec. 23 "

1. Een zeldzaam geval van avitaminose K door insufficiënte voeding hebben wij waargenomen bij een jongen met de volgende ziektegeschiedenis:

J. P. jongen van 8 jaar.

Patiëntje werd 1 Juni 1940 wegens een geperforeerde appendicitis en een algemeene peritonitis geopereerd. De laatste elf dagen vóór opname in de interne kliniek kreeg hij wegens den zeer slechten algemeenen toestand een dauerinfuus van afwisselend 1 liter glucose oplossing en 1 liter zoutsolutie per dag. Daar de jongen bijna alle voedsel weer uitbraakte, werd de voeding per os vrijwel geheel stopgezet.

Bij het onderzoek vertoonde de jongen sterke oedemen, was zeer bleek en had hoge, septische koorts. Verder had hij last van neusbloedingen en waren er uitgebreide onderhuidsche bloedingen te vinden.

4-6-1940: Patiëntje heeft nog veel last van neusbloedingen.

Prothrombinegehalte	30 %.
Vitamine C-gehalte	4 mg per 100 cc plasma.
Vitamine B-gehalte	8 gamma per 100 cc urine.
Vitamine A-gehalte	2,4 I.E. per 10 cc serum.
Totaal eiwitgehalte in het bloed . .	4,5 %.

6-6-1940: Na 5 dagen groenten en vruchten gehad te hebben was de prothrombinestollingstijd weer geheel normaal. Patiëntje heeft geen neusbloedingen meer gehad.

Het vitamine C gehalte in het bloed was op 4-6-1940 wel laag, maar niet nul, terwijl de prothrombinevermindering op zichzelf reeds aansprakelijk kon worden gesteld voor het optreden van de bloedingen. Ongetwijfeld hebben bij deze ondervoeding nog talrijke andere factoren een rol gespeeld bij het ontstaan van de haemorrhagieën, maar dat daarbij óók een tekort aan vitamine K aanwezig was, lijkt ons zeer waarschijnlijk.

2. M. v. L., meisje van 17 jaar.

Patiënte, een debiel meisje, werd 28 Mei 1941 in de kliniek opgenomen wegens tandvleeschbloedingen en pijn in de linkerknie. Sinds twee jaar at zij vrijwel alleen wittebrood, boonen en vleesch, nooit aardappelen, groenten of fruit. Zij had sterk gezwollen, blauw-rood gekleurde gingiva. De linkerknie was gezwollen, vermoedelijk tengevolge van een haemarthros. In de huid waren talrijke subcutane en voor scorbuut typische folliculaire bloedingen.

Bloedonderzoek: Vitamine C-gehalte 2 mg in 100 cc plasma.

Prothrombinegehalte	60 %.
Cholesterinegehalte	0,99 ‰.
Bloedingstijd	3 min.
Stollingstijd	3—5 min.
Rumpel-Leede	negatief.
Bilirubinegehalte	1 E. indir. reactie.
Ureumgehalte	0,450 gr. p. L.

29-5-1941: Patiënte krijgt om 14 uur 20 mgr. B. meth.-naphtho-hydrochinon intramusculair. Het dieet bestaat uit thee en beschuiten.

30-5-1941 9 uur 's morgens. Prothrombinegehalte 90—100 %.

Wij hebben hier dus een combinatie-geval van een avitaminose C en K. Het vitamine C-gehalte in het bloed was laag en vermoedelijk mogen wij de bloedingen wel toeschrijven aan een scorbuut, daar patiënte typische tandvleseschafwijkingen had en typische folliculaire bloedingen, die altijd bij de scorbuut worden gezien (de Langen en Lichtenstein. Leerboek Trop. ziekten).

De vermindering van het prothrombinegehalte in het plasma is niet voldoende om de haemorrhagie te kunnen verklaren.

Na één inspuiting van 20 mgr. vitamine K was binnen 19 uren het prothrombinegehalte in het plasma weer normaal. Misschien zouden we reeds eerder een normalen prothrombinestollingstijd hebben gevonden, indien wij het bloed eerder onderzocht hadden.

De prothrombinestollingstijd in het plasma van nierlijders.

Bekijken wij de tabel op bladzijde 125 dan kunnen wij opmerken, dat de derde patiënt met uraemische bloedingen bij herhaling een verlengden prothrombinestollingstijd van het plasma vertoonde, waarvoor wij echter geen verklaring konden vinden. In verband met dit feit hebben wij later meerdere nierpatiënten onderzocht.

De gegevens hierover vindt men in de volgende tabel.

Naar aanleiding van de bevinding op 17 Juni 1940 bij een nephritispatiënt met uraemie en petechiën, dat de prothrombinestollingstijd van het plasma was verlengd, hebben wij nagegaan, of dit vaker het geval is bij nierlijders. Gedurende dit onderzoek verscheen er in de Jour. Am. Med. Ass. van 28 Sept. 1940 een artikel over de klinische waarde van het vitamine K, waarin Cheney o.a. ook mededeelde, dat hij bij 3 patiënten met een nephritis, hypertensie en uraemie, een vermindering van het prothrombine in het plasma vond. Deze hypoprothrombinaemie bij één van de patiënten, die tevens purpura en neusbloedingen had, kon hij door vitamine K injecties genezen. Welke methode Cheney voor de prothrombinebepaling gebruikte, werd helaas niet precies vermeld. Uit de gegevens konden wij opmaken, dat het vermoedelijk de methode van Quick was.

Onder onze 24 nierlijders waren er 13 nephritispatiënten.

TABEL XV

Naam	Diagnose	Duur v.d. ziekte	Bloed-druk	Ureum gr. per vol. 0/10	Alkali-reserve CO ₂	Laagste en hoogste S.G. v. d. urine	Es bach 0/100	Prothrom-bine-stollings-tijd	
								patiënt	con-trole
1. B. V.	acute nephritis	1 1/2 jaar	140/90	4-5	56,4	1004/1010	8	26	21
2. F. W. P.	"	1 week	220/130	0,378	52,7	1007/1025	1	25	25
3. M. v. D. -R.	chronische nephritis	4 jaar	0,230	2,79	1003/1009	7	26	24	24
4. M. S. -J.	"	enkele jaren	1,120	1,120	1008/1015	8	25	25	21
5. G. Z.	diabetes	4 weken	120/80	0,480	36,4	1001/1018	—	21	20
6. G. H.	acute nephritis	2 jaar	100/55	1,30	48,7	1005/1020	1	21	21
7. Th. v. L.	chronische nephritis	14 jaar	140/90	2,79	55,6	1003/1009	2	27	22
8. G. L. -S.	"	? jaren	—	9,23	—	1008/1016	7,5	28	20
9. C. Th. V. -A.	schrompelieter	25 jaar	190/105	1,25	36,4	1005/1015	1,5	28	21
10. A. G. v. W. -N.	chronische nephritis	5 jaar	200/160	0,280	—	1005/1015	—	22	22
11. J. N. B.	schrompelieter	4 weken	160/100	1,05	48,7	1006/1010	5	28	23
12. H. J. v. M.	acute nephritis	3 weken	180/130	0,58	55,6	1005/1010	6	26	21
13. J. V.	"	6 maanden	100/60	0,328	—	1009/1021	8	—	—
14. F. v. dB.	hydronephrose	5 maanden	140/90	0,30	—	1008/1025	—	—	—
15. G. H. H.	"	3 maanden	130/70	0,20	—	1010/1024	5	22	21
16. M. M. P. v. O.	diabetes	2 jaar	140/100	0,74	60,7	sukker i.d. urine	10	22	21
17. D. G.	nier t.b.c.	1 jaar	115/70	0,38	—	"	2,5	22	21
18. G. F. P.	"	6 maanden	120/80	1,02	55,5	1004/1008	—	22	21
19. M. v. Dr.	"	4 maanden	125/60	0,31	47,7	1005/1019	—	21	21
20. C. Sch.	"	1 jaar	110/60	0,20	58,4	—	—	22	22
21. F. P. J. Z.	"	8 maanden	140/80	0,53	—	1008/1019	0,5	22	23
22. M. C. M. v. H.	"	14 jaar	130/65	0,35	53,6	1007/1015	—	24	23
23. B. v. L.	prostaat hypert.	4 maanden	155/80	1,66	39,1	1006/1008	—	23	23
24. M. S. C. N. -Sch.	apoplexie, uraemie, chronische nephritis	? ?	150/70	1,15	42	1015	++	27	23

Hiervan vertoonden er 8 een duidelijk verlengden prothrombine-stollingstijd van het plasma. Patiënten met een nephrose en nier-tuberculose hadden normale plasmastollingstijden. Behalve 1 patiënt, hadden de andere 7 nephritislijders een ureumgehalte in het bloed van meer dan 1 gr. per liter.

Welke conclusies moeten wij nu uit deze bevindingen trekken?

Hoe moet men zich voorstellen, dat er bij nephritispatiënten een vitamine K-tekort kan ontstaan?

Berust de verlenging van den plasmastollingstijd bij deze aan-doening, bepaald met de methode van Quick, misschien *niet* op een vermindering van het prothrombine, maar op andere factoren, zooals verandering van de P_H en vermeerdering van de anti-stollingsstoffen in het bloed?

Wij kunnen geen condities vinden voor een gestoorde opname van het vitamine K. Er bestaat geen insufficiënt dieet, een resorptie-stoornis door afwezigheid van gal in den darm of door slijmvlies-afwijkingen en versnelde darmpassage van het voedsel is onwaar-schijnlijk. Een beschadiging van de lever bij de nephritis is tot nu toe niet bekend, ofschoon wij ons kunnen indenken, dat bij een gestuwde lever door een bijkomende decompensatio cordis juist de functie om prothrombine te vormen gestoord zal zijn. Nephritis-patiënten zonder leverstuwung vertoonden echter ook een verlengden prothrombinestollingstijd van het plasma, terwijl enkele nierlijders met een gedecompenseerd hart en duidelijke stuwingslever normale plasmastollingstijden hadden.

Met al deze veronderstellingen komen wij natuurlijk niet verder.

Dit vraagstuk kan men een eind benaderen door na te gaan, welke invloed een vitamine K-toediening heeft op dezen verlengden prothrombinestollingstijd. Indien deze laatste inderdaad veroorzaakt wordt door een vermindering van het prothrombine, dan moet het vitamine K, redelijkerwijs gesproken, in staat zijn om den plasma-stollingstijd te verkorten, daar er geen factoren te vinden zijn, die de vitamine K-werking kunnen belemmeren.

1. Th. v. L., jongen van 14 jaar.

15-1-1940. Diagnose: Renale dwerggroei.

Urineonderzoek: S.G. 1005.
 Esbach 2 ‰.
 Sediment enkele leucoc.
 Hippuurzuurtest 2,02 gr. (normaal 4,4 gr.)
 Bloedonderzoek: Ureumgehalte 1,28 gr. per L.
 Bloeddruk: 125/85.

Het hart was niet vergroot, er waren geen klepafwijkingen te hooren en oedemen waren niet aanwezig. De leverrand was even te voelen.

17-1-1940: Patiënt krijgt verschijnselen van roodvonk.

Prothrombinestollingstijd: 27 sec. (normaal 22 sec.).

Intramusculair ingespoten 10 mg. Davitamon K (het in water oplosbaar synthetisch preparaat „Organon”).

18-1-1940: Krijgt weer 10 mg. Davitamon K ingespoten.

19-1-1940: Prothrombinestollingstijd: 28 sec. (normaal 22 sec.).

Het ureumgehalte in het bloed was gestegen tot 2,79—4,1 gr. per L. De jongen kreeg neusbloedingen. De alkaliereserve bedroeg 26,5 vol. % CO₂.

De toestand verbeterde geleidelijk aan.

17-3-1940: Prothrombinestollingstijd: 23 sec. (normaal 22 sec.).

Het ureumgehalte in het bloed bedroeg 0,590 gr. per L.

Bloeddruk: 120/85.

2. M. S.—J., vrouw van 45 jaar.

23-3-1941. Diagnose: Chronische nephritis en diabetes mellitus.

Urineonderzoek: S.G. 1008.
 Reductie positief.
 Esbach 8 ‰.
 Sediment erythrocyten.
 Bloedonderzoek: Ureumgehalte 1,12 gr. per L.
 Cholesterinegehalte 2,68 ‰.
 Bloeddruk: 160/100.

Het hart was iets naar links vergroot. Er waren geen klep-

afwijkingen te vinden. De lever was even te voelen. Oedemen ontbraken.

2-4-1941: Prothrombinestollingstijd: 25 sec. (normaal 21 sec.).
Krijgt intramusculair 10 mg. Davitamon K (in water oplosbaar synthetisch preparaat „Organon”).

3-4-1941: Prothrombinestollingstijd: 26 sec. (normaal 21 sec.).
Krijgt weer 10 mg. Davitamon K ingespoten.

4-4-1941: Prothrombinestollingstijd: 25 sec. (normaal 20 sec.).

3. J. N., meisje van 13 jaar.

14-5-1941. Diagnose: Acute haemorrhagische nephritis.

Urineonderzoek: S.G. 1010.

Esbach 5 ‰.

Sediment stampvol erythrocyten.

Bloedonderzoek: Ureumgehalte . . . 1,05 gr. per L.

Alkalireserve . . . 48,7 vol. ‰ CO₂.

Bloeddruk: 160/100.

Het hart was iets gedilateerd. Er was een systolisch geruis aan de hartpunt te hooren. De lever was niet te voelen en er waren geen oedemen.

16-5-1940: Prothrombinestollingstijd: 28 sec. (normaal 23 sec.).

Patiënte krijgt dagelijks 3 maal 10 mg. B methyl-naphthochinon en 3 maal 1 gr. Fel tauri inspiss., ofschoon er geen belemmering van den galafvoer bestaat.

19-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 31 sec. (normaal 24 sec.).

21-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 28 sec. (normaal 21 sec.).

24-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 27 sec. (normaal 23 sec.).

De haematurie ondervond geenerlei invloed van de vitamine K-toediening.

4. H. J. v. M., jongen van 14 jaar.

22-4-1941: Diagnose: Acute glomerulo nephritis.

Urineonderzoek: S.G. 1010.

Esbach 6 ‰.

Sediment veel erythrocyten.

Bloedonderzoek: Ureumgehalte . . . 0,580 gr. per L.

Alkalireserve . . . 55,6 vol. ‰ SO₂.

Bilirubinegehalte . . 0,8 E. indir. reactie.

Het hart was niet vergroot. Er was een systolisch geruisch aan de hartpunt te hooren. De lever was niet te voelen en er waren geen oedemen.

17-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 26 sec. (normaal 21 sec.).

Krijgt dagelijks 3 maal 10 mg. B. methyl-naphthochinon per os, zonder gal, daar er geen galstuwning bestaat.

21-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 27 sec. (normaal 21 sec.).

24-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 25 sec. (normaal 21 sec.).

5. C. Th. V.—A., vrouw van 61 jaar.

15-5-1941. Diagnose: Chronische nephritis en decompensatio cordis.

Urineonderzoek: S.G. 1005.

Esbach 1,5 ‰.

Sediment enkele erythrocyten en
cylinders.

Bloedonderzoek: Ureumgehalte . . . 1,25 gr. per L.

Alkalireserve . . . 36,4 vol. % CO₂.

Bilirubinegehalte . . 0,4 E. indirecte reactie.

Bloeddruk: 190/105.

Het hart was flink vergroot en er waren een duidelijk systolisch geruisch aan de hartpunt en een diastolisch geruisch aan de aorta te hooren. De lever was duidelijk vergroot en er waren oedemen aan stuit en enkels.

17-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 28 sec. (normaal 21 sec.).

Patiënte krijgt dagelijks 3 maal 10 mg. B. methyl-naphtho-
hydrochinontabletten (in water oplosbaar preparaat „Organon”).

21-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 27 sec. (normaal 21 sec.).

24-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 26 sec. (normaal 22 sec.).

27-5-1941: Prothrombinestollingstijd: 28 sec. (normaal 23 sec.).

De resultaten van parenterale en orale vitamine K-toediening (synthetische preparaten) bij 5 nephritispatiënten met een verlengden prothrombinestollingstijd (Quick), waren nihil. Dit is dus in tegenstelling met de bevinding van Cheney, die in 1941 bij één nephritispatiënt met hypertensie, uraemie, neusbloedingen en een verlengden plasmastollingstijd, wel resultaat zag na toe-

diening van vitamine K (synthetisch, in water oplosbaar preparaat).

Ofschoon onze ervaring over dit vraagstuk ook nog te klein is om reeds bindende uitspraken te mogen doen, meenen wij, met de huidige kennis over het vitamine K, reeds te mogen veronderstellen, dat de verlengde prothrombinestollingstijd in het plasma van sommige nephritispatiënten, bepaald met de methode van *Quick*, waarschijnlijk *niet* berust op een vermindering van het prothrombine, maar veroorzaakt wordt door andere factoren, die ons onbekend zijn. Of het verhoogde ureumgehalte in het bloed daarmee iets te maken heeft en in welk verband het tot de vertraging van de stolling staat, laten wij voorloopig een open vraag.

Het is ongetwijfeld zeer gewenscht, dat met meer specifieke methoden, b.v. met die van *Warner*, *Smith* en *Brinkhous*, het prothrombinegehalte in het plasma van nephritispatiënten wordt nagekeken.

Ofschoon wij niet gelooven, dat er bij nephritispatiënten in het bloed een tekort aan prothrombine bestaat, willen wij de mogelijkheid niet bestrijden, dat er toch een vitamine K-deficiëntie kan bestaan.

Misschien heeft deze antihæmorrhagische factor, behalve de vorming van het prothrombine, ook nog een invloed op andere stollingsfactoren en op den toestand van den vaatwand. Daarom is het zeker aan te raden om bij patiënten met uraemische bloedingen (b.v. lastige neusbloedingen) het vitamine K te probeeren. Helaas heeft zich die gelegenheid voor ons nog niet voorgedaan.

Prothrombinegehalte bij icterus en leveraandoeningen.

In tegenstelling met eerder genoemde hæmorrhagische diathesen, zien wij dat bijna alle gevallen van icterus gepaard gaan met een hypoprothrombinaemie.

Wij hebben in het verloop van onze onderzoeken 44 gevallen van icterus met verschillende aetiologie kunnen bestudeeren. Slechts bij een man met de ziekte van *Weil*, zonder een klinischen icterus, en bij een vrouw met een hypertrophische levercirrhose, bleef het prothrombinegehalte gedurende de geheele observatie normaal. Alle anderen vertoonden een meer of minder duidelijk verlengden prothrombinestollingstijd.

De 44 gevallen waren verdeeld over de volgende ziektebeelden:

TABEL XVI.

Aetiologie	Aantal gevallen	Gemiddelde stollingstijd	Opmerking
Amyloid v. d. lever	1	31 sec. (normaal 24 sec.)	
Afsluiting door galsteenen	7	32 sec. (normaal: 22 sec.) Maximum: 40 sec. Minimum: 27 ..	
Afsluiting door pancreaskoptumor	5	42 sec. (normaal: 23 sec.) Maximum: 65 sec. Minimum: 30 ..	
Afsluiting door carcinoom van de galblaas of galgang	8	39 sec. (normaal: 22 sec.) Maximum: 82 sec. Minimum: 24 ..	
Carcinoom van de lever + icterus (metastasen)	9	29,5 sec. (normaal: 21 sec.) Maximum: 38 sec. Minimum: 24 ..	
Icterus catarrhalis	4	26 sec. (normaal: 24 sec.) Maximum: 29 sec. Minimum: 23 ..	In 1 geval was de stollingstijd 23 sec. de normale contrôle was 20 sec.
Weil	1	23 sec. (normaal: 23 sec.)	
Cirrhosis hepatis icterus	5	28 sec. (normaal: 20 sec.) Maximum: 36 sec. Minimum: 17 ..	1 geval van hypertr. levercirrhose had een stollingstijd van 17 sec. Contrôle: 17 sec.
Acute leveratrophie	1	49 sec. (normaal: 22 sec.)	
Septische icterus	1	36 sec. (normaal: 25 sec.)	
Leversarcoom	1	25 sec. (normaal: 23 sec.)	
Levercarcinoom (prim.)	1	27 sec. (normaal: 26 sec.)	
Totaal.	44		

TABEL XVII.

Naam	Duur v. d. icterus	Bilirubine Eenh.	Totale afsluiting	Cholesterine $\frac{0}{100}$	Reactie van Takata-Ara	Galactose-proef	Hippuur-zuurtest	Doorsnede erythroc. Pipper.	Prothr-gehalte	Bloedingen
Th. H.—J.	2 dg.	36	—	1,56	+	+		8,8	$\frac{0}{100}$ 50	geen
H. W.	6 wk.	29	+	2,68				8,8	40	geen
A. J. P.	1 wk.	31	—		+	—		8,6	60	geen
D. v. Rh.—Br.	4 md.	32	+		+	+		7,7	20	geen
L. Sch.	6 wk.	55	+					8,2	30	Petechiën
M. v. E.	4 wk.	43	—	3,30	—		—	8,1	20	Haematem.
E. M.—N.	7 wk.	66	—	2,85	+	+		7,3	40	geen
A. J. R.	20 dg.	66	+	6,3	+	+		9,2	30	geen
M. E.—v. B.	5 wk.	62	+	1,41				8,7	15	Petechiën
M. J. S.—S.	3 wk.	60	—	2,91	—	—		8,2	40	geen
A. M. d. R.	5 wk.	45	—	2,10	+			8,1	25	Neusbl.
G. Z.—d. J.	3 wk.	25	—	2,25	+			7,9	35	Haematem.
W. B.	6 dg.	25	—	0,9	—			8,2	30	geen
J. C. v. D.	7 j.	30	—	1,22	+	+		9	50	Neusbl.
H. v. d. B.—Sch.	jaren	3,1	—	2,10	+	+	+	8,1	40	geen
J. V.	14 dg.	45	—					8,9	20	Haematem.
J. v. d. H.	3 wk.	39	—	3,09	+	—		8,9	45	Petechiën
G. H. Br.	4 md.	10,6	—	2,04	+	+	+	8,6	40	Haematem.
W. M.—Sp.	2 wk.	27,5	+	4,2	+	+		7,5	45	geen
L. d. J.	4 md.	19,4	—	2,65	+	—		9,1	45	Haematem.
A. Vr.	6 wk.	65	+		—	—	—	9,1	20	Petechiën Darmbl. Neusbl.
J. F. v. V.	10 dg.	3,2	—	2,01	—			8,1	35	Haematem.
H. S.	3 wk.	55	—	2,79	—			8,3	10	Haematem.
M. v. A.—v. H.	3 md.	2	—	1,50	—	—	+	7,9	60	Haematem.
M. L.	4 wk.	50,4	+	2,70	—		+	7,9	30	geen
S. C.	10 dg.	11	—	1,80	—	—		7,5	35	Petechiën
R. v. G.	6 wk.	30	—	1,47	+	+	+	8,6	70	geen
W. T.	7 wk.	24,2	—		+				45	geen
A. C. M.—v. B.	5 dg.	48	—	2,25	+	+		8,4	80	geen
N. H.	7 md.	1	—	0,63	+	—	—	8,3		geen
B. H. H.	1 wk.	29	—					8,1	70	geen
K.	6 wk.	34	—	3,65	—			8,8	45	geen
W. G. S.— v. d. M.	7 md.	0,4	—	1,09	+		+	7,8	80	Tandvl.bl. geen
M. v. D.—R.	4 j.	2,88	—					7,6	100	
A. U. G. B.—H.	3 md.	0,4	—					—	90-100	geen
T. J. G.	6 j.	0,3	—	1,85	+		—	7,5	45	geen
A. G.—M. v. d. H.	2 md.	18,5	—	3,90	—	—	—	7,9	40	geen
M. Gr.	enkele jaren	3,1	—		+	+		8,6	50 40	Petechiën geen Neusbl.

Enkele patiënten vertoonden bij opname geen verlengden stollingstijd van het plasma, maar bij langer voortbestaan van

den icterus werd ook in deze gevallen een vertraagde stolling aangetoond.

Hoelang de icterus moet bestaan, vóórdat men met de methode van Quick een duidelijk verlengden prothrombinestollingstijd kan aantonen, is niet met zekerheid te zeggen. Bij sommige patiënten is reeds na enkele dagen een prothrombinevermindering in het plasma te bespeuren, terwijl anderen na 2 weken nog geen vertraagde stolling van het plasma vertoonen. Ongetwijfeld wordt dit bepaald door het al dan niet aanwezig zijn van een leverbeschadiging. Wij kregen den indruk, dat bij een zuivere afsluiting van de galwegen, de icterus ongeveer 3 weken moet bestaan vóórdat men met de Quick-methode een duidelijk verlengden prothrombinestollingstijd kan aantonen.

Bekijken wij het prothrombinegehalte in het plasma van een aantal patiënten aan de hand van tabel XVII.

We kunnen thans tot de volgende beschouwingen komen:

Het prothrombinegehalte in het bloed houdt geen verband met het bilirubinegehalte. Dit is niet te verwonderen, daar de leverfunctie niet parallel loopt met het bilirubinegehalte in het bloed.

Over het algemeen gesproken kan men zeggen, dat, hoe langer de afsluiting bestaat, hoe grooter het prothrombinedeficit is, maar uit de gegevens kan men ook opmaken, dat de vermindering van de stollingsfactor zeer veel afhangt van het feit of er een volledige galafsluiting is ja dan neen en of er een stoornis in de leverfuncties bestaat. Ook dit laatste gaat niet altijd op. De vorming van het prothrombine is één van de vele functies, die de lever heeft en een beschadiging daarvan hoeft niet gepaard te gaan met een stoornis in alle andere functies.

Dit blijkt ook duidelijk uit bovenstaande tabel.

Wij meenen dan ook te mogen concludeeren, dat de prothrombinetest niet als maatstaf gebruikt mag worden voor de beoordeeling van de geheele leverfunctie.

Gaan wij verder na bij welk percentage aan prothrombine in het bloed er bloedingen kunnen optreden, dan zien wij, dat dit reeds gebeuren kan bij 50 %, doch de meeste patiënten krijgen pas haemorrhagieën bij 45 % en lager. Dit is dus in overeenstemming met wat er in de litteratuur door andere onderzoekers wordt opgegeven. Toch zien wij, dat sommige patiënten een

Resultaten van de vitamine K-behandeling bij 27 patiënten.

TABEL XVIII.

Naam	Diagnose	Behandeling	Duur	Stollingstijd	
				voor:	na:
N. H.	Hepatitis chr.	2 × 5 mg. B.meth. + 2 × 1/2 gr. gal	6 dagen	28 sec.	— 22 sec. (Norm. 22)
M. J. S.—S.	Ca-pancreas	3 × 10 mg B.meth. + 4 gr. gal	2 "	38 "	— 22 " (" 22)
L. de J.	Ca-galbl.	3 × 10 mg B.meth. + 3 gr. gal	9 "	29 "	— 38 " (" 22)
A. K.	Galsteen	1 × daags 10 mg Synkavit i.m.	2 "	28 "	— 21 " (" 21)
W. B.	Galsteen	3 × 10 mg B.meth. + gal, later Synkavit	6 "	36 "	— 22 " (" 22)
M. E. v. B.	Ca-pancreas	3 × 10 mg B.meth. + gal	2 "	55 "	— 23 " (" 23)
L. S.	Ca-lever	3 × 10 mg B.meth. + gal	3 "	45 "	— 24 " (" 23)
G. H. B.	Ca-lever	3 × 10 mg B.meth. + 3—6 gr gal	11 "	28 "	— 52 " (" 22)
A. J. R.	Ca-galbl.	gal			
E. M.—N.	Ca-lever	3 × 10 mg B.meth. + 4 gr gal	2 "	30 "	— 25 " (" 24)
J. v. d. H.	Galbl.-ca.	1 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch.	3 "	35 "	— 22 " (" 21)
J. C. v. D.	Hanot.	3 × 10 mg B.meth. + 4 gr gal	6 "	28 "	— 22 " (" 20)
M. v. E.	Ca-pancreas	10 mg Synkavit i.m.	1 dag	54 "	— 27 " (" 25)
W. M.—Sp.	Ca-lever	10 mg Synkavit i.m.	7 uren	40 "	— 21 " (" 21)
A. V.	Galbl.-ca.	1 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch. daarna 3 × daags Vit. K + gal	2 dagen	48 "	— 45 " (" 26)
H. v. d. B.— Sch.	Bil. cirrhose	1 × 10 mg B.meth. + Hydroch.	1 dag	30 "	— 22 " (" 20)
K.	Lever-ca.	1 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch.	3 dagen	28 "	— 22 " (" 21)
J. V.	Acute lever-atrophie	2 × daags 10 mg Synkavit intraven.	2 "	49 "	— 75 " (" 22)
G. Z.—de J.	Galbl.-ca.	1 × daags 10 mg B.meth. + N. Hydr. intrav.	2 "	30 "	— 23 " (" 22)
A. M. de R.	Chr. hepatitis	3 × 10 mg B.meth. + 4,5 gr gal	9 "	50 "	— 22 " (" 21)
v. d. H.	Ca-Galbl.	2 × 10 mg B.meth. + 2 gr. gal	3 "	28 "	— 16 " (" 16)
M. L.	Ca-galbl.	1 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch.	3 "	36 "	— 24 " (" 22)
A. G.—M.	Galsteenen	3 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch.	3 "	29 "	— 23 " (" 23)
M. Gr.	Ca-galbl.	3 × 10 mg B.meth. + 3 gr gal	3 "	26 "	— 21 " (" 19)
H. B.	Ca-lever	1 × 10 mg B.meth. + Hydroch. i.m.	2 "	28 "	— 22 " (" 19)
de Br.	Cerebr. bl. bij icterus	2 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch. i.m.	2 "	36 "	— 25 " (" 22)
T. J. G.	Amyloid. v.d. lever	1 × daags 10 mg B.meth. + Hydroch. i.m.	2 "	31 "	— 24 " (" 22)

prothrombinegehalte in het plasma kunnen hebben van 15—20 %, zonder dat er een spoor van spontane bloedingen is op te merken, terwijl een patiënt met 50 % van de stollingsfactor in het plasma, profuse neusbloedingen vertoont. Dit pleit er toch wel voor, dat men bij de icterische haemorrhagieën nog wel met iets anders te maken moet hebben dan alleen met een prothrombinevermindering in het bloed.

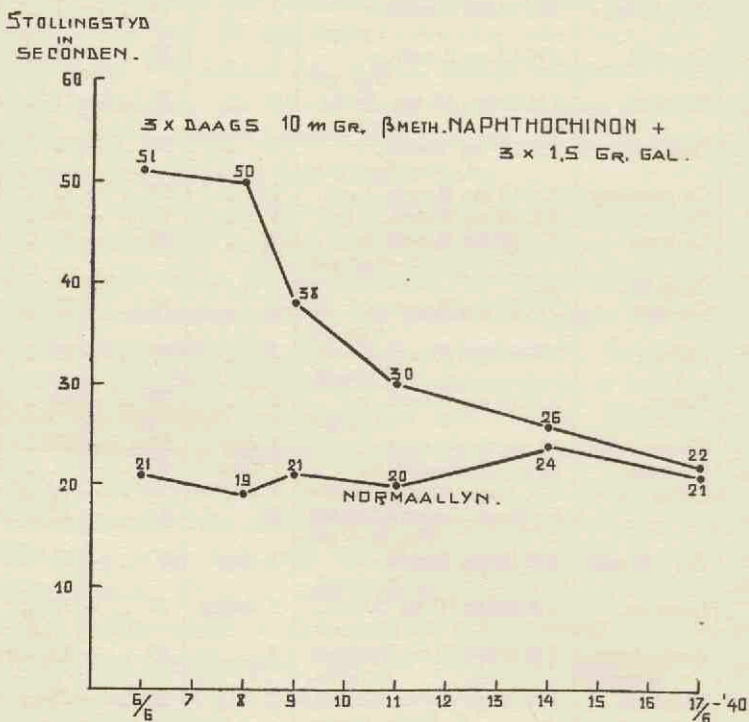


Fig. 3.

Bij 27 patiënten met icterus van diversen aard kon slechts 3 maal = 11 % geen verbetering van het prothrombinegehalte in het bloed worden verkregen. De duur van de behandeling der overige patiënten varieerde tusschen enkele uren tot 9 dagen, maar de meesten hadden in 48—72 uren weer een normaal prothrombinegehalte in het plasma (tabel XVIII).

Enkele typische voorbeelden van een effectieve vitamine K-werking laten wij hieronder volgen:

1. A. M. de R. — 18 jaar — man (zie fig. 3).

Patiënt werd 5 Juni 1940 in de kliniek opgenomen wegens icterus, die sinds 8 Maart 1940 bestond. De lever was even te voelen.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 45 E. dir. reactie.
 Cholesterinegehalte 2,10 ‰.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 8,2 μ Pijper.
 Reactie van Takata-Ara positief.

De urine bevatte veel urobiline en bilirubine.

7/6. — Neusbloeding. Prothrombinegehalte in het bloed 25 %.

8/6. — Patiënt krijgt 3 \times 10 mg. B. methyl. naphthochinon + 3 \times 1 $\frac{1}{2}$ gr. gal per dag.

9/6. — Prothrombinegehalte in het bloed 30 %. Geen neusbloeding meer gehad.

11/6. — Prothrombinegehalte 40 %.

14/6. — Prothrombinegehalte 70 %.

17/6. — Prothrombinegehalte 100 %.

Een zeer frappante werking van het vitamine K zien wij bij de volgende patiënte:

2. M. H. v. E., 62 jaar, vrouw (zie fig. 4).

Patiënte werd 9 September 1940 opgenomen wegens icterus. De lever was flink groot en pijnlijk.

Bloedonderzoek: (5/11): Bilirubinegehalte 43 E. dir. reactie.
 Cholesterinegehalte 3,30 ‰.
 Fibrinogeengehalte . 6,51 ‰.
 Reactie van Takata-Ara negatief.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 8,1 μ Pijper.

De urine bevatte veel bilirubine, maar geen urobiline.

Patiënte braakte sinds eenige dagen geregeld bloed.

5/11. — Prothrombinegehalte 20 %.

Om 9 uur 's ochtends krijgt zij 1 maal intramusculair ingespoten 10 mg. Synkavit, 5 uur later bedroeg het prothrombinegehalte 50 % en 24 uur later 80—100 %.

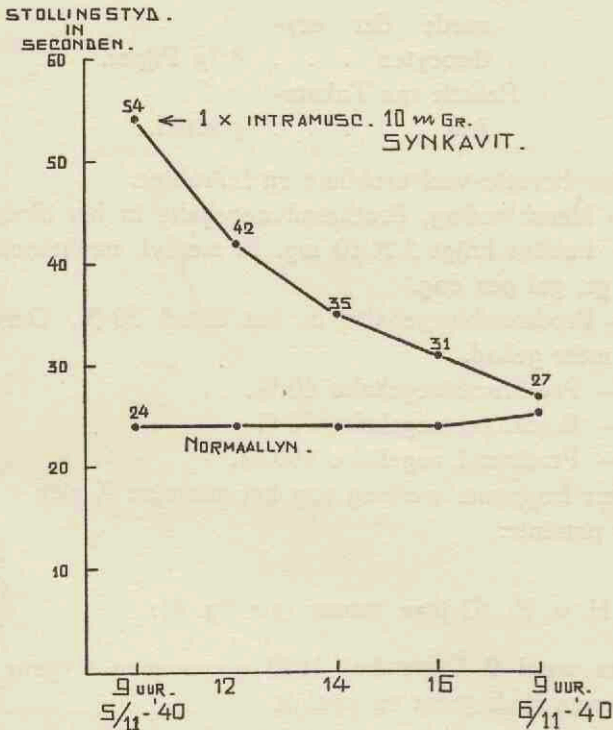


Fig. 4.

Een derde patiënt reageerde nog sneller op één intramusculaire inspuiting met vitamine K:

3. E. M.—N., 57 jaar, vrouw.

Patiënte werd 7 October 1940 opgenomen wegens pijn in den linker onderbuik en icterus. In het bekken werd een groote tumor gevonden. De lever was even te voelen.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte	. 66 E. dir. reactie.
Cholesterinegehalte	2,85 ‰.
Fibrinogeengehalte	. 3,25 ‰.
Gemiddelde doorsnede der erythrocyten	. . . 7,3 μ Pijper.

De urine bevatte eerst veel urobiline en bilirubine, doch eenigen tijd later uitsluitend bilirubine.

12/11. — Prothrombinegehalte 40 %.

Om 9 uur 's morgens krijgt zij intramusculair 10 mg. Synkavit ingespoten, 5 uur later bedroeg het prothrombinegehalte 60 % en 7 uur later 100 %.

13/11. — 9 uur: Prothrombinegehalte 50 %.

In de litteratuur treffen wij herhaaldelijk mededeelingen over het falen van een vitamine K-therapie bij icterische patiënten. De oorzaak blijkt dan meestal te zijn een zwaar beschadigde lever.

Toch mogen wij niet te snel conclusies trekken uit het feit, dat een bepaalde vitamine K-therapie geen succes heeft. Het blijkt vaak, dat, wanneer men met de doseering van het medicament hooger gaat of als men een ander gelijkwerkend preparaat gebruikt, wel effect wordt waargenomen.

Als voorbeeld mogen de 2 volgende gevallen uit de kliniek dienen:

1e Geval: W. B., man, oud 50 jaar (zie fig. 5).

Patiënt werd op 20/6-1940 in de kliniek opgenomen wegens icterus en pijn aanvallen in de leverstreek. De temperatuur was verhoogd en bij onderzoek bleek de lever tot aan den navel te reiken, was vast van consistentie en zeer pijnlijk. De diagnose werd gesteld op cholecystitis en hepatitis door galstenen. De urine bevatte urobiline en bilirubine.

Het bloedonderzoek gaf als resultaten:

Bilirubine 25 E. dir. reactie.
Cholesterine 0,9 ‰.
Takata-Ara reactie	. negatief.

Het prothrombinegehalte in het plasma, bepaald volgens de methode van Quick, bedroeg op 24/6 60% (prothrombinestollingstijd 36 sec. Normaal 24).

25/6. — Patiënt kreeg dagelijks 3 maal 10 mg. 2. methyl 1,4. naphthochinon en 4 gr. gal in den vorm van Fel Tauri inspissatum.

29/6. — Prothrombinestollingstijd 26 sec. (Normaal 22 sec.) = 60%.

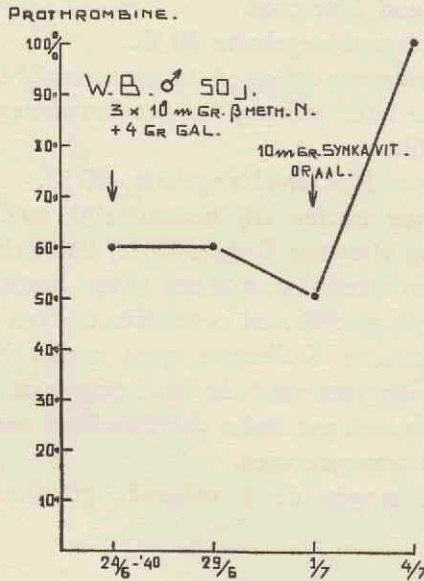


Fig. 5.

1/7. — Prothrombinestollingstijd 26 sec. (Normaal 20 sec.) = 50%.

2/7. — Omdat het prothrombinegehalte niet op de therapie reageerde, gingen wij over op het in water oplosbare preparaat Synkavit van Roche. Patiënt kreeg dagelijks 3 maal 10 mg. van dit medicament per os.

4/7. — Het plasma van het bloed, ontnomen vroeg in den ochtend, had een prothrombinestollingstijd van 22 sec. (Normaal 22 sec.).

2e Geval: M. J. S., vrouw, oud 40 jaar.

Patiënte werd op 6/6-1940 in de kliniek opgenomen wegens

icterus en jeuk. De lever was een handbreed vergroot en niet pijnlijk. De urine bevatte veel urobiline en bilirubine.

Diagnose: Carcinoom v. d. pancreas.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 60 E. dir. reactie.
 Cholesterine . . . 2,91 ‰.
 Takata-Ara reactie . negatief.
 Galactoseproef . . negatief.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 8,2 μ Pijper.

14/6. — Prothrombinestollingstijd van het plasma bedroeg 35 sec. (Normaal 23 sec.) = 40 %.

Patiënte vertoonde nergens bloedingen. Zij kreeg dagelijks 4 gr. Fel Tauri insp. en een algemeen dieet.

17/6. — Prothrombinestollingstijd 24 sec. (Normaal 20 sec.) = 60 %.

Het bilirubinegehalte in het bloed was 50 E.

21/6. — Prothrombinestollingstijd 26 sec. (Normaal 21 sec.) = 55 %.

De gemiddelde doorsnede der erythrocyten bedroeg 8,6 Pijper. De dosis Fel Tauri insp. werd verhoogd tot 8 gr. per dag.

25/6. — 's ochtends, bedroeg de prothrombinestollingstijd 21 sec. (Normaal 21 sec.).

Het was dus mogelijk, dat wij in het eerste geval niet voldoende gal hadden gegeven, zoodat de resorptie van de antihæmorrhagische factor onvolledig bleef. Het synkavit, dat wij later gaven, is een in water oplosbare verbinding en bleek in staat te zijn om binnen 48 uren het prothrombinegehalte normaal te doen worden.

In het tweede geval bleek een verdubbeling van de dosis gal tot 8 gram te leiden tot een volledige restauratie van het prothrombinegehalte. Wij hebben echter ook icteruspatiënten kunnen waarnemen, die niet op een vitamine K-therapie reageerden. Doch ook hierbij zouden wij ons kunnen afvragen of een verandering van medicament of een verhooging van de doseering uiteindelijk toch successen zou hebben opgeleverd.

Als voorbeeld geven wij de 3 volgende ziektegeschiedenissen:

1e Geval: L. de J., vrouw, oud 66 jaar:

Op 14 Juni werd in het klassepaviljoen opgenomen een vrouw van 66 jaar, die flink icterisch was. In den buik werd een tumor, vermoedelijk uitgaande van de galblaas, gevonden. De leverrand was even te voelen.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 19,4 E. dir. reactie.
 Cholesterinegehalte 2,65 ‰
 Ureumgehalte . . 0,150 ‰
 Takata-Ara reactie . sterk positief.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 9,1 μ Pijper.

19/6. — De icterus was progressief. De afsluiting was niet volledig, daar de urine veel urobiline en bilirubine bevatte.

Prothrombinestollingstijd 29 sec. (Normaal 21 sec.) = 40—50 %.
 Zij vertoonde geen bloedingen.

Wij gaven haar 3 maal daags 10 mg. 2. methyl 1,4 naphthochinon, gecombineerd met telkens 1 gr. gal per os.

24/6. — Prothrombinestollingstijd 34 sec. (Normaal 25 sec.) = 40—50 %.

26/6. — Patiënte kreeg een haematemesis en een flinke darmbloeding. De toestand ging snel achteruit.

28/6. — Patiënte was zeer suf en icterisch.

3/7. — Prothrombinestollingstijd 38 sec. (Normaal 21 sec.) = 20—30 %.

7/7. — Exitus letalis.

2e Geval: J. V., meisje, oud 9 jaar (zie fig. 6).

Patiëntje werd op 16 Januari 1941 wegens icterus in de kliniek opgenomen. Zij was thuis reeds geruimen tijd ziek, werd steeds geler en suffer. Bij opname was zij comateus. De lever was klein en vast.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 45 E. directe reactie.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 8,9 μ Pijper.

Wegens den zeer slechten algemeen toestand werd afgezien van verder bloedonderzoek.

De urine bevatte veel bilirubine, urobiline en vertoonde een positieve reductie. Tyrosine- en leucine kristallen konden niet worden aangetoond.

17/1. — Prothrombinestollingstijd 49 sec. (Normaal 22 sec.) = 20 %.

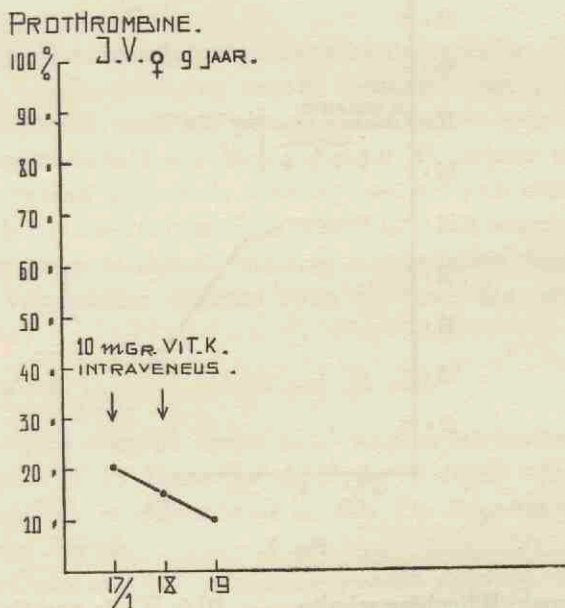


Fig. 6.

Zij kreeg 's morgens 10 mg. 2. methyl 1,4 naphthohydrochinon-disulfaat natrium (Organon) intraveneus. 's Middags braakte zij plotseling bloed. Prothrombinestollingstijd 75 sec. (Normaal 22 sec.) = 10 %. Nogmaals kreeg zij 10 mg. vitamine K intraveneus.

18/1. — Prothrombinestollingstijd 73 sec. (Normaal 23 sec.) = 10—20 %. Kreeg 10 mg. vitamine K intraveneus.

19/1. — Patiëntje was nog steeds comateus. Prothrombinestollingstijd 75 sec. Kreeg weer 10 mg. vitamine K intraveneus ingespoten.

's Middags overleed patiëntje.

3e Geval: G. H. Br., man, oud 45 jaar.

Patiënt werd op 23 September 1940 voor de derde maal wegens icterus en pijn in de leverstreek in de kliniek opgenomen. De lever voelde vast aan, was iets pijnlijk en reikte tot aan den navel.

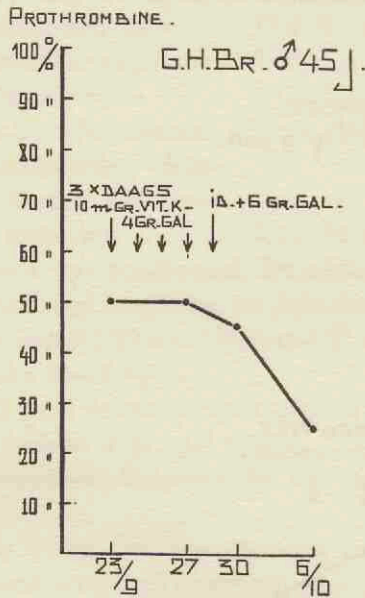


Fig. 7.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte	. 10,6 E. dir. reactie.
Cholesterinegehalte	2,04 ‰.
Ureumgehalte	. . 253 mg per L.
Takata-Ara reactie	. sterk positief.
Galactoseproef	. . positief.
Hippuurzuurtest	. 300 mg (Norm. 3—3,5 gr.).
Gemiddelde doorsnede der erythrocyten	. . . 8,6 μ Pijper.
Prothrombinegehalte	50 %.

De urine bevatte urobiline en bilirubine.

Patiënt kreeg 3 maal daags 10 mg. 2. methyl 1,4 naphthochinon met telkens 1 gr. gal in den vorm van Fel Tauri inspiss.

27/9. — Prothrombinestollingstijd 30 sec. (Normaal 23 sec.)
= 50 %.

De hoeveelheid gal werd verhoogd tot 6 gr. per dag.

30/9. — Prothrombinestollingstijd 31 sec. (Normaal 22 sec.)
= minder dan 50 %.

6/10. — Patiënt kreeg een haematemesis en was moribund.

Prothrombinestollingstijd 52 sec. (Normaal 22 sec.) = 20—30 %.

8/10. — Exitus letalis.

Alle toegepaste leverfunctieproeven bij de eerste en derde patiënt wezen op een beschadiging van de desbetreffende functie en bij de tweede patiënt wees het geheele beeld op een ernstige stoornis van de werkzaamheid der lever. Hoewel dit orgaan ongetwijfeld van groot belang is voor de vorming van het prothrombine, moet blijkbaar de functie daarvan flink beschadigd zijn vóórdat het totaal niet op de sterk werkende vitamine K-preparaten reageert.

Enkele voorbeelden daarvan laten wij hieronder volgen:

1e Geval: J. C. v. D., man, oud 38 jaar.

Patiënt werd voor de eerste maal wegens icterus in de kliniek opgenomen van 15 December 1937 tot 1 April 1938. Hij had daarbij een flink vergrootte lever en milt. De diagnose was: Levercirrhose van Hanot.

Op 24 October 1940 volgde de tweede opname. Patiënt was mager en geel. Lever en milt waren flink vergroot en voelden vast aan. Er was klinisch geen vrij vocht in den buik aan te toonen.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . . . 30 E. dir. reactie.

Ureumgehalte . . . 350 mg per L.

Fibrinogeengehalte . . . 4,65 0/00.

Takata-Ara reactie . . . sterk positief.

Galactoseproef . . . positief.

Vitamine A-gehalte . . . 2 I.E. per L.

Gemiddelde door-

sne de der ery-

throcyten . . . 9 μ Pijper.

De urine bevatte veel bilirubine en urobiline.

Patiënt kreeg gedurende de verpleging veel last van neusbloedingen.

25/10. — Prothrombinestollingstijd 29 sec. (Normaal 20 sec.) = 50—60 %.

Therapeutisch werden hem galpillen en een algemeen dieet voorgeschreven.

4/11. — Opnieuw flinke neusbloedingen. De prothrombinestollingstijd was 38 sec. (Normaal 24 sec.) = 40 %. Patiënt vertoonde overal lang nabloedende krabeffecten. Daar de galtherapie blijkbaar niet voldoende was, werd hem toen 3 maal daags 10 mg. 2. methyl 1,4. Naphtochinon, gecombineerd met telkens 1 gr. Fel Tauri inspiss., gegeven.

20/11. — Prothrombinestollingstijd 24 sec. (Normaal 21 sec.) = 70 %. Patiënt had geen last meer van neusbloedingen.

27/11. — Patiënt werd langzamerhand comateus. Prothrombinestollingstijd 24 sec. (Normaal 21 sec.). Hij vertoonde nergens bloedingen.

4/12. — Exitus, waarbij in de laatste dagen wederom flinke bloedingen uit mond en neus te voorschijn kwamen.

Door obductie kon de diagnose worden bevestigd. Daarbij bleek, dat de overledene overal in het lichaam multiple bloedinkjes in de slijmvliezen vertoonde.

2e Geval: H. v. d. B. vrouw, oud 39 jaar (zie Fig. 8).

Patiënte werd voor de eerste maal wegens icterus in de kliniek opgenomen op 8 Mei 1935. Diagnose: Cholelithiasis. Eind Mei werd zij in de Chirurgische afdeling met goed gevolg geopereerd. Er traden geen complicaties op.

1 Augustus 1935 wederom opname voor een galsteenrecidief en icterus.

In 1937 onderging zij opnieuw een operatie, maar bleef sindsdien steeds sukkelen. Af en toe kreeg zij weer pijn aanvallen, was dan ook flink geel en had voortdurend last van jeuk.

Op 7 December 1940 volgde de derde opname in de Interne Kliniek.

Haar huid had een eigenaardige bronskleur met een groenige tint. Zij was cachectisch, maar vertoonde nergens bloedingen. De

lever was duidelijk vergroot, pijnlijk bij betasten en voelde zeer vast aan. De milt kon niet worden gevoeld. Diagnose: biliaire cirrhosis hepatis.

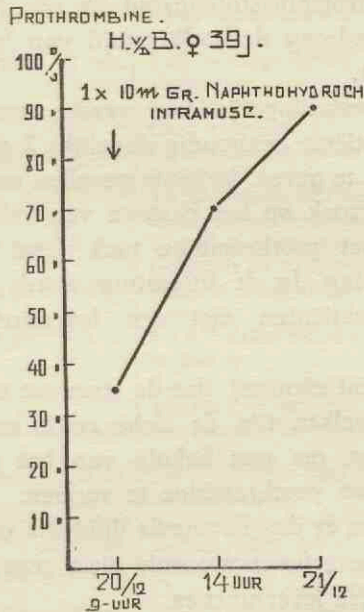


Fig. 8.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 3,1 E. dir. reactie.
Cholesterinegehalte . 2,10 ‰.
Fibrinogeengehalte . 3,6 ‰.
Takata-Ara reactie . sterk positief.
Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 8,1 μ Pijper.

Bij de hippuurzuurtest (Quick) werd van de 5,9 gr. Benzoas Natricus slechts 0,84 gr. in de urine uitgescheiden. (Normaal 3—3,50 gr.). Daar de nieren goed functioneerden, kon deze proef gebruikt worden als leverfunctietest.

De urine bevatte, behalve veel urobiline, verder geen afwijkingen. Prothrombinestollingstijd 29 sec. (Normaal 19 sec.) = 30—40 %.

20/12. — Prothrombinestollingstijd 30 sec. (Normaal 20 sec.) = 30—40 %.

Zij kreeg 10 mg. 2. methyl 1,4. Naphthohydrochinon — disulfaat natrium — (in water oplosbaar) intramusculair ingespoten. 4 uur later was de prothrombinestollingstijd 25 sec. (Normaal 20 sec.) en 24 uur later bedroeg de stollingstijd van het plasma 22 sec. (Normaal 20 sec.).

De prothrombinestollingstijd kon verder normaal worden gehouden door de patiënte eenvoudig dagelijks 2 gr. gal in den vorm van Fel Tauri insp. te geven. In beide gevallen wezen de uitkomsten van het leveronderzoek op het bestaan van vele gestoorde leverfuncties, terwijl het prothrombine toch fraai reageerde op de vitamine K-toediening. In de litteratuur wordt herhaaldelijk vermeld, dat juist patiënten met een levercirrhose vitamine K resistent zijn.

Bij den 1en patiënt zien wij, dat de lever tot een week vóór den dood, gedurende welken tijd de zieke reeds comateus was, nog steeds in staat was, om met behulp van het oraal toegediende vitamine K-preparaat, prothrombine te vormen.

Deze feiten wijzen er dus nogmaals duidelijk op, dat het bestaan van een bepaalde leverfunctiestoornis niets zegt omtrent den toestand van alle andere leverfuncties.

Het prothrombinegehalte bij darmaandoeningen.

Een onderzoek naar den toestand van het prothrombine in het bloed van patiënten met diverse darmaandoeningen, die in de Interne Kliniek worden verpleegd, geeft de volgende resultaten (tabel XIX).

TABEL XIX.

Naam	Diagnose	Duur v. d. ziekte	Verschijnselen	Prothrombine- stollingstijd	
				Patient	Contr.
J.C.M.P.—L.	Colitis ulcerosa	4 j.	3 à 4 × daags bloed en slijm. Geen vetzuren.	22 sec.	23 sec.
Br. R.	Entero-colitis aspec.	9 wk.	2 à 3 × daags brijg. Geen vetzuren.	24 „	24 „
W.A.L.v.H. —B.	Colitis ulc.	18 j.	4 à 7 × daags brijg, bloed slijm. Geen vetzuren.	20 „	20 „
L. B.	Colitis ulc.	3 wk.	7 à 8 × daags bloed en slijm. Geen vetzuren.	22 „	22 „
A. J.—Pl.	Colitis ulc.	1 j.	3 à 10 × daags dun bloed en slijm. Geen vet of vetzuren.	24 „	23 „
E. v. D.—F.	Sigmoiditis en proctitis	3 md.	10 à 15 × daags bloed en slijm. Geen vet of vetzuren.	23 „	23 „
M. de Kr.— de B.	Sigmoiditis en proctitis	3 j.	3 à 10 × daags bloed en slijm. Te veel vet.	24 „	20 „
J. G. K.	Sigmoiditis en proctitis	4 j.	1 à 4 × daags bloed en slijm. Iets te veel vet.	20 „	20 „
J. W.	Vetresorptie- stoornis	2 j.	3 à 4 × daags dunne ontlasting, waarin veel vrij vet.	46 „	22 „
B. F.—F.	Vetresorptie- stoornis	8 wk.	1 × daags. Veel vetzuren in de ontlasting.	20 „	20 „
R. V.	Vetresorptie- stoornis	ca. 1 j.	1 à 2 × daags. Veel vetzuren in de ontlasting.	25 „	17 „
J. v. d. B.	Entero-colitis aspec.	enkele jaren	4 à 5 × daags dunne slijmerige ontlasting. Geen vet of vetzuren.	23 „	24 „
A.T.—H.	Entero-colitis aspec.	3 md.	1 à 2 × daags brijg bloed en slijm. Geen vet of vetzuren.	24 „	23 „
K. den U.	Entero-colitis aspec.	8 md.	6 à 8 × daags bloed, slijm. Geen vet of vetzuren.	24 „	22 „
H. W.	Colitis	6 j.	5 à 10 × daags, dun. Geen vet en vetzuren.	30 „	22 „
E. J. C. de R. —H.	Entero-colitis aspec.	5 md.	5 × daags brijg. Geen vet of vetzuren.	23 „	23 „
J.M.M.—W.	Spruw	3 j.	Afwisselend 1 à 6 × daags volumineus dun schuimend. Veel vet en vetzuren.	29 „	24 „
H. v. K.	Gee-Herter.	8 j.	Enkele malen daags brijg. Vet en vetzuren.	26 „	22 „
G. B.	Gee-Herter.	1½	1 × daags dun gelig, volumineus. veel vetzuren.	23 „	22 „
M. H.	T.b.c. intesti- nalis	6 md.	2 à 5 × daags dun. Geen bloed en slijm. Geen vet of vetzuren.	23 „	23 „
Dr.	T.b.c. intesti- nalis	3 md.	6 à 7 × daags dun. Geen vet of vetzuren.	22 „	23 „
P. M.— v. d. W.	Paratyphus	10 dg.	5 à 10 × daags waterige ontlasting.	23 „	22 „
A. v. d. Br.	Paratyphus	15 dg.	1 à 2 × daags vrij normaal aspect.	22 „	22 „
C. M. C.	Paratyphus	10 dg.	1 × daags vrij normaal aspect.	22 „	22 „
A. M.	Paratyphus	7 dg.	10 × daags, dun.	24 „	23 „
M. H. v. E.	Genezende trop. spruw.	jaren	1 × daags. Geen vet en vetzuren.	23 „	24 „

De meeste patiënten met darmaandoeningen, die in de kliniek worden opgenomen, blijken geen prothrombinevermindering in het plasma te hebben. Zelfs chronische, maandenlang bestaande diarrheeën met bloed en slijm, geven niet gauw aanleiding tot een resorptiestoornis van het vitamine K. Wanneer men in de literatuur de gevallen nagaat, die gepaard gaan met zeer uitgesproken hypoprothrombinaemieën en spontane bloedingen, blijkt het, dat deze bijna altijd zeer zware darmaandoeningen zijn, waarbij door een operatie, b.v. een enterostomie, resectie van een colonstuk, darmfistel, een grooter of kleiner stuk van de intestines wordt uitgeschakeld.

Alleen bij de spruw en andere vetresorptiestoornissen krijgt men gemakkelijker een toestand van K-hypovitaminose, ofschoon men toch zelden daarbij spontane bloedingen ziet optreden.

5 patiënten uit ons materiaal, die wel een hypoprothrombinaemie vertoonden, hebben de volgende ziektegeschiedenissen:

1. J. W., man, 40 jaar.

Patiënt werd 14 Februari 1940 in de kliniek opgenomen wegens diarrhee en braken, die hij sinds Augustus 1938 had. 8 jaar geleden werd er bij hem wegens een maagzweer een gastroenterostomie aangelegd.

Bij onderzoek vonden wij een slechten voedingstoestand, anaemie. Er was geen icterus.

Ontlasting: dun, bevatte veel vrij vet en weinig vetzuren. Er was geen occult bloed. Frequentie 3 à 4 maal per dag.

Bloed:	Cholesterinegehalte	0,60 ‰.
	Bilirubinegehalte	0,3 E.
	Calcium	9 mg. %.

2/3. — Patiënt vertoont petechiën aan de armen en op den buik. Prothrombinegehalte 20 %.

12/3. — Exitus letalis.

2. R. V., man, 22 jaar.

Patiënt werd 18 November 1940 in de kliniek opgenomen wegens een pyelo-cystitis. In het begin van 1940 kreeg hij plotseling

diarrhee, die later overging in een obstipatie. Bij onderzoek vonden wij een cachexie, anaemie en een slechte huidturgor.

Ontlasting: 19,8 % neutraal vet in droge faeces.
(Normaal 5—9 %).

55,8 % totaal vet in droge faeces.
(Normaal 13—30 %).

Urine: Esbach 6—14 ‰. Zeer veel leucocyten in het sediment. S.G. 1012.

Bloeddruk: 120/80.

Bloed: Ureumgehalte 0,23 ‰ (Conway).
Bilirubinegehalte 0,3 E. ind. reactie.
Cholesterinegehalte 0,78 ‰ en bleef
steeds laag.

Vetbelastingcurve verliep zeer vlak, ook die van het cholesterine.

6/12. — Patiënt krijgt neusbloedingen.

Prothrombinegehalte 35 %.

Krijgt 10 mg. B. methyl. naphthohydrochinon intra-musculair ingespoten.

7/12. — Prothrombinegehalte 65 %. Geen neusbloeding meer gehad.

Krijgt weer 10 mg. B. meth. naphthohydrochinon intra-musculair.

8/12. — Prothrombinegehalte 90—100 %.

Therapie gestaakt.

16/12. — Prothrombinegehalte 40 %. Geen neusbloedingen. Krijgt weer 10 mg. B. methyl naphthohydrochinon.

17/12. — Prothrombinegehalte 40 %.

Weer 10 mg. B. methyl. N. ingespoten.

18/12. — Prothrombinegehalte 60 %.

3. J. M. M.—W., vrouw, 43 jaar.

Patiënte werd 5 Maart 1941 wegens diarrhee, die ze reeds 3 jaren had, in de kliniek opgenomen. Bij onderzoek vonden wij een slechten algemeenen toestand, anaemie, opgezetten buik.

Ontlasting: Volumineus, dun, schuimend. Frequentie 1 à 6 × daags. Veel vet en vetzuren.

Urine: Geen afwijkingen.

Bloed: Cholesterinegehalte 1,35 ‰.
 Vitamine A-gehalte 4,4 I. E. per 100 cc serum.
 Calciumgehalte 7,7 mg. %.
 Alkalireserve 58,5 vol. %.
 Prothrombinegehalte 60 %.

4. M. de K.—de B., vrouw, 25 jaar.

Patiënte werd 17 December 1940 in de kliniek opgenomen wegens diarrhee met bloed en slijm, die zij reeds 3 jaar had. Bij onderzoek vonden wij een mager, bleek vrouwtje, dat na het rectaal onderzoek veel etter uit de anus verloor. Door de rectoscoop werden een proctitis en colitis ulcerosa vastgesteld.

Ontlasting: dun, slijmerig en bloederig.
 Frequentie 3 à 10 × daags.
 Iets te veel vet. Geen vetzuren.

Bloed: Cholesterinegehalte 0,9 ‰.
 Bilirubinegehalte 0,3 E. ind. reactie.
 Prothrombinegehalte 60 %.

14/5-'41. — Prothrombinegehalte 60 %.

Patiënte krijgt 3 gram gal (Fel Tauri inspiss.) per dag.

19/5-'41. — Prothrombinegehalte 100 %.

5. L. v. Kr., meisje, 12 jaar.

Patiëntje werd 4 April 1941 voor de tweede maal in de kliniek opgenomen wegens infantilisme. Sinds haar vierde jaar heeft zij bij aanvallen een opgezetten buik en diarrhee.

Bij onderzoek vonden wij een mager, klein meisje. Zij had een gladde, roode tong.

Ontlasting: enkele malen daags, brijig, aanvankelijk geen vet of vetzuren, doch later wel.

Bloed:	Cholesterinegehalte	1,44 ‰.
	Bilirubinegehalte	0,8 E. ind. reactie.
	Calcium	9,2 mg. ‰.
	Prothrombinegehalte	60 ‰.
	Bilirubinegehalte	0,4 E. ind. reactie.
	15/4. — Prothrombinegehalte	70 ‰.
	Patiëntje krijgt 3 maal daags	$\frac{1}{2}$ gram Fel Tauri inspiss.
	19/4. — Prothrombinegehalte	100 ‰.

Bij beide laatste patiënten hebben wij nagegaan hoe gal op het prothrombine werkt. Theoretisch bestond er wel geen reden om een vitamine K-resorptiestoornis door afwezigheid van gal aan te nemen, maar misschien was toediening van extra gal in staat om de vetresorptie iets te verbeteren.

Inderdaad is het bij beide patiënten gelukt. Later hebben wij bij nog twee andere patiënten met een colitis en een verlengden prothrombinestollingstijd, uitsluitend gal toegediend in den vorm van Fel Tauri inspissatum. De stollingstijd daalde van respectievelijk 24 sec. en 24 sec. (Normaal 22 sec.) tot denzelfden tijd als de normale contrôle. Deze verschillen in stollingstijd met die van normaal plasma zijn echter te klein om er veel waarde aan te kunnen hechten en daarom laten wij de beschrijving van deze ziektegevallen achterwege.

Verder is het aantal van 2 patiënten, dat wij met succes met gal hebben behandeld, te gering om er conclusies uit te mogen trekken.

Resultaten van de behandeling van icteruspatiënten met uitsluitend gal.

Daar er bij een afsluitingsicterus een vitamine K-deficientie ontstaat, doordat er geen of te weinig gal in den darm komt, zoodat de resorptie van vette substanties gestoord wordt, is het logisch om aan te nemen, dat toediening van gal in die conditie, een verbetering van de vitamine K-opname moet geven.

Dit is reeds eerder door verschillende onderzoekers aangetoond. (Warner, Smith en Brinkhous, Greaves e.a.; zie hoofdstuk over het vitamine K).

Wij hebben nagegaan hoe het effect is van de oude galtherapie bij de hypoprothrombinaemie van den afsluitingsicterus.

Hieronder volgt de tabel van de verkregen uitkomsten:

TABEL XX.

Naam	Diagnose	Dagelijksche toediening van	Duur v. behandeling	Prothrombinegehalte in %	
				voor	na
1. N. H.	hepatitis chronica	3 gr gal	9 dg.	55	100
2. M. J. S.—S.	pancreas carcinoom	4 " " (7 dagen)	11 " "	30	100
		8 " " (4 " ")			
3. Th. K.—J.	galsteen	3 " "	5 " "	40	100
4. W. B.	galsteen	3 " "	7 " "	40	80-100
5. H. W.	galsteen	3 " "	8 " "	40	100
6. M. E. v. B.	pancreas carcinoom	4 " "	10 " "	20	15
7. G. H. Br.	pancreas carcinoom	3 " "	3 " "	60	60
8. A. J. R.	galsteen	4 " "	5 " "	35	100
9. E. M.	metast. leverca.	4 " "	3 " "	35	100
10. J. C. v. D.	levercirrh.	4 " "	14 " "	35	50
11. S. C.	metast. leverca.	3 " "	2 " "	65	100
12. A. Vr.	galblaascarcinoom	6 " "	7 " "	40	100
13. H. v. d. B.—Sch.	levercirrh.	2 " "	6 " "	60	100
14. G. Z. de J.	galblaascarcinoom	2 " "	7 " "	50	100
15. M. L.—de J.	galblaascarcinoom	2 " " (5 dagen)	9 " "	30	35
16. H. B.	metast. leverca.	4 " " (4 " ")	5 " "	40	50
17. A. G.—M.	galsteen	4 " "	6 " "	40	100
18. A. K.	galsteen	2 " "	4 " "	50	100
19. J. v. d. H.	galblaascarcinoom	3 " "	8 " "	20	80-90
20. M. v. A.—v. H.	galblaascarcinoom	3 " "	7 " "	60	100
		4 " "			
21. M. de R.	hepatitis	3 " "	11 " "	30	70
22. J. H. E.	metast. leverca.	3 " "	4 " "	70	100

Een deel van hetzelfde patiëntenmateriaal, dat wij in de tabel op bladzijde 139 hebben samengevat, kreeg van ons, nadat wij eenigen tijd de vitamine K-therapie hadden gestaakt, uitsluitend gal in den vorm van Fel Tauri inspissatum siccum pillen (100—150 mg. per pil). Onder deze patiënten waren er vele, die in meerdere of mindere mate een leverfunctiestoornis hadden.

Wij zien uit bovenstaande tabel, dat de therapie met het vitamine K ongetwijfeld sneller werkt en een vollediger restauratie van het prothrombine in het bloed geeft, dan uitsluitend toediening van gal.

Vijf van de twee en twintig patiënten, die wij op de laatste

manier behandelden, reageerden er niet of zeer slecht op. Dit is 22,7 % (vitamine K-resistente gevallen 11 %). Hierbij moet nog in rekening worden gebracht een aantal vitamine K-resistente gevallen, die dan vanzelfsprekend zeker niet op uitsluitend galtoediening zullen reageren.

De gemiddelde duur van een succesvolle behandeling met gal bedroeg zes dagen, terwijl die van de vitamine K-therapie gemiddeld $2\frac{1}{2}$ dag was.

Soms zien wij, dat toediening van alleen gal weinig of geen effect heeft op het prothrombinegehalte, terwijl het vitamine K of een derivaat daarvan bij dezelfde patiënt snel succes geeft.

Enkele voorbeelden daarvan laten wij hieronder volgen.

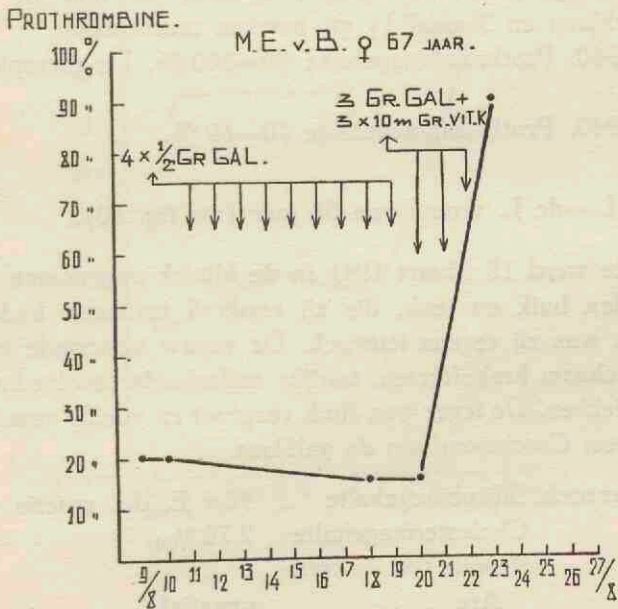


Fig. 9.

1. M. E.—v. B., vrouw van 67 jaar (zie fig. 9).

Patiënte werd 9 Augustus 1940 in de kliniek opgenomen wegens icterus en jeuk, die zij reeds 5 weken had. Bij onderzoek vonden wij een vergrootte lever, die hobbelig, maar niet pijnlijk was.

Diagnose: Carcinoom van de galwegen.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte	. 62 E. dir. reactie.
Cholesterinegehalte	1,41 ‰.
Ureumgehalte	. . . 0,405 ‰.
Gemiddelde doorsnede der erythrocyten	. . . 8,7 μ Pijper.
Prothrombinegehalte	20 ‰.

De urine bevatte veel bilirubine, maar geen urobiline. Ook in de ontlasting was maar een spoortje urobiline aanwezig.

10-8-1940: Patiënte krijgt dagelijks 4 gr. Fel tauri inspiss.

18-8-1940: Prothrombinegehalte 15 ‰.

20-8-1940: In verband met het negatieve resultaat van de galtherapie krijgt patiënte dagelijks 3 maal 10 mg. B. methylnaphthochinon en 3 maal $\frac{1}{2}$ gr. natrium taurocholaat.

23-8-1940: Prothrombinegehalte 90—100 ‰. De therapie wordt gestaakt.

26-8-1940: Prothrombinegehalte 70—80 ‰.

2. M. L.—de J., vrouw van 58 jaar (zie fig. 10).

Patiënte werd 18 Maart 1941 in de kliniek opgenomen wegens pijn in den buik en jeuk, die zij reeds 3 maanden had. Sinds 14 dagen was zij tevens icterisch. De vrouw vertoonde over het geheele lichaam krabeffecten, talrijke onderhuidsche bloedingen en blauwe plekken. De lever was flink vergroot en voelde vast aan.

Diagnose: Carcinoom van de galblaas.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte	. 50,4 E. dir. reactie.
Cholesterinegehalte	2,70 ‰.
Reactie van Takata-Ara negatief.
Hippuurzuurtest	. 2,14 gr in de urine uitgescheiden (normaal 4—4,5 gr.).
Gemiddelde doorsnede der erythrocyten	. . . 7,9 μ Pijper.
Prothrombinegehalte	30 ‰.

De urine bevatte veel bilirubine en een spoortje urobiline.

1-4-1941: Patiënte krijgt dagelijks 2 gr. Fel tauri inspiss.

5-4-1941: Prothrombinegehalte: 40 %. Patiënte krijgt nu dagelijks 4 gr. Fel tauri inspiss.

9-4-1941: Prothrombinegehalte: 35 %. Er wordt overgegaan op dagelijks intraveneuze inspuiting van 1 maal 10 mg. B. methyl. naphthohydrochinon.

11-4-1941: Prothrombinegehalte 60 %.

13-4-1941: Prothrombinegehalte 90—100 %.

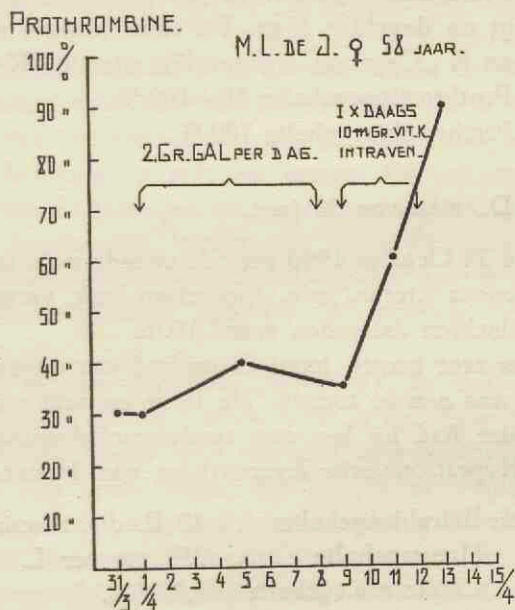


Fig. 10.

3. A. M. de R., man van 18 jaar.

Patiënt werd 15 April 1940 in de kliniek opgenomen wegens icterus, die hij sinds 5 weken had. Er was in het dorp waar hij woonde, een epidemie van geelzucht. Bij onderzoek werd een ver-groote lever gevonden.

Diagnose: Icterus catarrhalis prolongata.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 65 E. dir. reactie.
 Cholesterinegehalte 2,10 ‰.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 6,7 μ Pijper.

De urine bevatte veel urobiline en bilirubine.

18-4-1940: Prothrombinegehalte 30 %.

Patiënt krijgt dagelijks 3 maal 1 gr. Fel tauri inspiss.

22-4-1940: Prothrombinegehalte 50 %.

24-4-1940: Prothrombinegehalte 70 %.

27-4-1940: Prothrombinegehalte 70 %.

Patiënt krijgt nu dagelijks 3 gr. Fel tauri inspiss. met 3 maal 1 cc. Davitamon K „Organon” (natuurlijk vitamine K-preparaat).

29-4-1940: Prothrombinegehalte 80—100 %.

30-4-1940: Prothrombinegehalte 100 %.

4. J. C. v. D., man van 38 jaar.

Patiënt werd 24 October 1940 voor de tweede maal in de kliniek opgenomen wegens icterus, jeuk, opgezetten buik, vermagering en slapte. Deze klachten dateerden vanaf 1936.

De man was zeer mager, icterisch en had een opgezetten buik, waarin vocht was aan te toonen. De lever en milt waren enorm vergroot. Verder had hij last van tandvleeschbloedingen.

Diagnose: Hypertrophische levercirrhose van Hanot.

Bloedonderzoek: Bilirubinegehalte . 30 E. dir. reactie,
 Ureumgehalte . . 350 mg per L.
 Cholesterinegehalte 1,22 ‰.
 Vitamine A-gehalte 2 I.E. per 10 cc serum.
 Fibrinogeengehalte . 4,65 ‰.
 Reactie van Takata-
 Ara sterk positief.
 Galactoseproef . . positief.
 Gemiddelde doorsnede der erythrocyten . . . 9 μ Pijper.
 Prothrombinegehalte 60 %.

De urine bevatte veel urobiline en bilirubine.

30-10-1940: Patiënt krijgt veel last van neusbloedingen.

Prothrombinegehalte 35 %.

Hij krijgt dagelijks 4 gr. Fel tauri inspiss.

13-11-1940: Weer neusbloedingen en lang nabloedende krab-effecten.

Prothrombinegehalte 50 %.

Patiënt krijgt nu dagelijks 3 gr. Fel tauri inspiss. met 3 maal 10 mg. B. methyl-naphthochinon.

20-11-1940: Prothrombinegehalte 80—100 %.

Tot aan zijn dood toe, op 27-11-1940, heeft patiënt geen haemorrhagieën gehad.

Ofschoon het vitamine K dus sneller werkt en vaak effect geeft in die gevallen, waar een therapie met gal faalt, is de ouderwetsche medicatie van icteruspatiënten met gal zeker niet te verwerpen, al duurt de behandeling ook iets langer. Bij een ongecompliceerde afsluiting van de galwegen krijgt men met toediening van uitsluitend Fel tauri inspissatum, steeds een algeheele restauratie van het prothrombinegehalte in het bloed. De galtherapie is voor den patiënt nog steeds goedkooper dan een behandeling met vitamine K-preparaten.

Bij een acuten toestand (bloeding), is natuurlijk de anti-haemorrhagische factor verreweg de beste, daar het vitamine K dikwijls binnen enkele uren een zeer laag prothrombinegehalte in het bloed kan doen stijgen tot binnen de veilige zône. Maar voordat deze acute toestand intreedt, kan men hem meestal voorkomen door iederen icteruspatiënt tijdig met gal te behandelen. Hierdoor bevordert men immers ook de vertering en resorptie van nog zooveel andere voedingsbestanddeelen.

Sinds het vitamine K is ontdekt, heeft men de oude, beproefde galtherapie van den icterus bijna totaal vergeten. Dit lijkt ons geheel ten onrechte, en wij meenen hier, afgezien van de ontegenzeggelijk groote waarde, die de ontdekking van het vitamine K heeft voor de lever- en galblaaspathologie, de oude, beproefde galtoediening aan icteruspatiënten weer in eere te moeten herstellen.

Men behoeft zich aan het ziekbed van een icteruspatiënt zeker niet hulpeloos te voelen, indien er geen vitamine K voorhanden is, daar men met gal alleen in de meeste gevallen ook zeer goed uitkomt.

BESCHOUWINGEN OVER DEN TOESTAND VAN DEN VAATWAND BIJ HAEMORRHAGISCHE DIATHESSEN.

Bij de bestudeering van het vitamine K-vraagstuk valt het steeds op, dat men zoo weinig aandacht heeft geschonken aan den toestand van den vaatwand. Men was veel te blij een oorzaak voor de bloedingen te hebben gevonden, n.l. een tekort aan prothrombine in het bloed. Maar al vindt men deze afwijking, waardoor de slechte bloedstolling kan worden verklaard, dan blijft het toch moeilijk te begrijpen, waarom een gesloten, normale vaatwand plotseling zal beginnen te bloeden.

Dit geldt natuurlijk ook voor alle andere haemorrhagische diathesen, die gepaard gaan met een duidelijke afwijking in het bloed. Wel heeft men in gevallen van spontane haemorrhagieën, die geen afwijkingen in het bloed vertoonen, ongetwijfeld aan den vaatwand gedacht. Frank heeft b.v. het begrip *capillairtoxicose* naar voren gebracht ter verklaring van den morbus Schönlein-Henoch. Ook bij de haemorrhagische diathese, waaraan men den naam van Rendu-Osler verbonden heeft, is een duidelijke afwijking van de bloedvaten te bespeuren. Zoo zijn er nog enkele andere ziekten, waarbij men de schuld voor het optreden van spontane bloedingen gegeven heeft aan een verminderden weerstand van de bloedvaten (roodvonk, ziekte van Weil). Maar bij patiënten met spontane bloedingen, die wel duidelijke afwijkingen in het bloed vertoonen, b.v. met een morbus Werlhof, kan men toch meestal een slechten toestand van den vaatwand aantoonen door het phenomeen van Rumpel-Leede op te wekken. Ook bij scorbuut kan men dit symptoom waarnemen, naast of door een tekort aan het vitamine C.

Zou het niet logischer zijn om bij alle haemorrhagische diathesen, die actieve verschijnselen vertoonen (petechiën en andere spontane

bloedingen) altijd primair een laesie van den vaatwand aan te nemen en de eventueel daarbij aanwezige afwijking in het bloed te beschouwen als een onderdeel van één en dezelfde stoornis in bloed en vaatwand?

Men beschouwt het bloedvaatstelsel en den inhoud daarvan steeds gescheiden. Zou het misschien niet beter zijn om beide als *één geheel te zien*? Voor deze veronderstelling pleiten verschillende factoren.

In het embryonale stadium ontstaan immers bloedvaten en bloed uit hetzelfde weefsel, n.l. het embryonale mesenchym. Hieruit ontwikkelen zich eerst de „bloedeilanden”, waarvan een deel der cellen vrijkomt en tot bloedlichamen wordt, terwijl de peripheer gelegen cellen zich afplatten en een omhulling vormen voor het bloed.

Het is toch bekend, dat bij een purpura, waarbij er petechiën te zien zijn, de Rumpel-Leede altijd positief is en dat men bij afwezigheid van dit phenomeen ook nooit spontane huidbloedinkjes aantreft, al vertoont het bloed zelf nog duidelijke afwijkingen.

Bij de haemophilie en bij de icterische haemorrhagische diathese vindt men meestal een negatieve Rumpel-Leede.

Het is echter ook bekend, dat men bij beide afwijkingen maar zelden spontane onderhuidsche bloedingen ziet, terwijl het bloed een duidelijke stollingsvertraging vertoont. Meestal moet er eerst een licht trauma in het spel komen, voordat men de huidafwijkingen ziet optreden. Wanneer er in de zeldzame gevallen toch petechiën aanwezig zijn, is men genoodzaakt een stoornis in den toestand van den vaatwand aan te nemen. Het phenomeen van Rumpel-Leede is dan ook altijd aanwezig.

Merkwaardig is ook het feit, dat de mate van het prothrombine-tekort in het bloed bij de avitaminose K zoo verschillend is, waarbij men spontane bloedingen ziet optreden. Een patiënt met 20 % prothrombine in het bloed vertoont geen spoor van bloedingen, terwijl een andere met 50 % van de stollingsfactor reeds last heeft van herhaalde neusbloedingen en haemorrhagieën uit andere slijmvliezen (pasgeborenen b.v. uit de navelstreng, darmen). Dit wijst er toch wel op, dat bij den laatsten patiënt de vaatwand meer aangedaan is dan bij den eerste.

Het lijkt ons daarom logischer, om bij elke haemorrhagische diathese een stoornis aan te nemen zoowel van het bloed als van

den weerstand van den vaatwand, waarbij de eene meer aangedaan kan zijn dan de andere.

Vindt men dus in het bloed een bepaalde afwijking, dan is dit slechts een symptoom van eenzelfde ziekte van het orgaan bloed en bloedvat. De ziekten op zichzelf kunnen natuurlijk verschillend zijn.

Welke vaatwandveranderingen bij de verschillende stoornissen optreden, laten wij hier buiten beschouwing.

SAMENVATTING.

In het eerste hoofdstuk is een korte verhandeling gegeven over de haemorrhagische diathesen en over de bloedstolling.

De oorzaak van de vertraagde bloedstolling bij den icterus, waarover vóór 1935 zooveel strijd is geweest, werd in dat jaar door Quick en medewerkers gevonden in een prothrombine-tekort van het bloed bij icterus-patiënten. Daarbij werd tevens aangetoond, dat bij de haemophilie het prothrombinegehalte van het bloed niet verminderd was. Deze bevindingen van Quick zijn later door andere onderzoekers bevestigd.

In het tweede hoofdstuk is een samenvatting gegeven van de ontdekking van het vitamine K door Dam en medewerkers. Kuikens kregen bij een tekort aan deze antihæmorrhagische factor uitgebreide bloedingen en bleken dan ook een zeer laag prothrombinegehalte in het plasma te hebben.

Almquist en Stokstad hebben in Amerika, onafhankelijk van de Europeesche onderzoekers, deze nieuwe deficientieziekte bij kuikens ontdekt. De antihæmorrhagische factor bleek een in vet oplosbaar vitamine te zijn en kreeg den naam van vitamine K (eerste letter van het woord Koagulation). Toediening van dit vitamine aan de zieke kuikens deed het prothrombinegehalte in het bloed stijgen en de bloedingen ophouden. Het vitamine K bleek vooral aanwezig te zijn in groene plantendeelen, waarbij het Alfalfa (Luzerneklaver), kastanjebladeren en spinazie de kroon spannen. Behalve direct met de voeding verkrijgen alle dieren en ook de mensch het vitamine K door bacterieele omzettingen in den darm.

Quick was de eerste, die in 1938 het gebruik van het vitamine K in de menschelijke pathologie, en wel bij den afsluitingsicterus introduceerde. De afwezigheid van gal in den darm verklaart het optreden van een prothrombinetekort in het bloed van icterus-

patiënten. Hierdoor treedt een resorptiestoornis op van alle in vet oplosbare voedingsbestanddeelen, dus ook van het vitamine K. Ook hierbij steeg het lage prothrombinegehalte na toediening van het antihaemorrhagische vitamine, mits de leverfunctie niet te zwaar was beschadigd. Dit orgaan bleek essentieel te zijn voor de vorming van het prothrombine en voor een effectieve werking van het vitamine K.

Zeer belangrijk was de toepassing van dit vitamine bij de prophylaxe en bestrijding van postoperatieve bloedingen bij den icterus.

Nadat men de chemische samenstelling van het vitamine K had ontdekt, bleek bij verdere onderzoekingen al heel gauw, dat verschillende synthetische derivaten daarvan ook een antihaemorrhagische werking hadden. Door allerlei substituties kreeg men ook sterkwerkende, in water oplosbare preparaten, die geschikt waren voor parenterale toediening.

Behalve dat men een vitamine K-deficientie kan krijgen door een afsluiting van de galwegen, zijn er nog andere condities, waardoor een tekort aan de antihaemorrhagische factor kan ontstaan.

Deze oorzaken zijn: leverbeschadiging, deficiente voeding, resorptiestoornissen door afwijkingen aan het darmslijmvlies en versnelde passage van het voedsel door het intestinum. Verder heeft men aangetoond, dat een groot aantal spontane haemorrhagieën bij pasgeborenen berusten op een tekort aan het vitamine K.

Het eigen onderzoek omvat de bestudeering van de methode van *Quick* voor de bepaling van het prothrombinegehalte in het plasma. Zij is niet zoo specifiek, dat men in alle gevallen een oordeel kan vormen over de hoeveelheid *prothrombine* in het bloed. Met het noodige voorbehoud, is zij echter een zeer geschikte routine-methode om in de kliniek het prothrombine in het bloed van icteruspatiënten te onderzoeken.

Opmerkelijk is de gelijke en constante hoeveelheid prothrombine in het bloed van den mensch. Gedurende den geheelen dag vertoont zij geen schommelingen en wordt ze niet door de maaltijden beïnvloed.

Een aantal patiënten met haemorrhagieën, die niet berusten op een afsluitingsicterus of op een leveraandoening, vertoont geen verlengden prothrombinestollingstijd. Daarbij vonden wij echter,

dat nephritispatiënten met een uraemie vaak wel een verlengden prothrombinestollingstijd hadden. Toediening van het vitamine K oefende geen invloed daarop uit en daar er ook geen condities waren, die een effectieve vitamine K-werking konden belemmeren, kwamen wij tot de conclusie, dat de verlengde plasmastollingstijd bij nephritispatiënten, bepaald met de methode van Quick, niet berust op een tekort aan prothrombine in het bloed. De vraag, wat dan wel de oorzaak daarvan kan zijn, laten wij onbeantwoord.

Twee zeldzame gevallen van een vitamine K-deficientie door een onvolwaardige voeding, hebben wij kunnen waarnemen. Daarbij moet men natuurlijk ook in aanmerking nemen het tekort aan andere vitaminen, dat bij een deficient dieet optreedt, zoodat het ziektebeeld gevormd wordt door de som van verschillende afwijkingen.

Bij het onderzoek van 44 patiënten met icterus en met leveraandoeningen zonder geelzucht, is het groote aantal gevallen opmerkelijk, dat gepaard gaat met een duidelijke vermindering van het prothrombinegehalte in het bloed. Van 27 patiënten reageerden er 3 niet op een vitamine K-therapie. Bij de overige 24 patiënten was de duur van de behandeling gemiddeld $2\frac{1}{2}$ dag, om een volledige restauratie van het prothrombine in het bloed te bereiken.

De daling van het prothrombinegehalte in het bloed van icteruspatiënten gaat niet parallel met de uitkomsten van andere leverfunctieproeven. Zij mag niet worden gebruikt voor de beoordeeling van de functie van het geheele orgaan.

Bij een aantal patiënten met darmaandoeningen, vooral als er een vetresorptiestoornis bestaat, is het prothrombinegehalte van het bloed verminderd. In de meeste gevallen van darmstoornissen, die in de interne kliniek worden opgenomen, is de resorptie van het vitamine K voldoende om het prothrombinegehalte van het bloed op normaal peil te houden.

Ook uit de literatuur is gebleken, dat men met ernstige darmaandoeningen te maken moet hebben, waarbij b.v. door een operatie ook nog een stuk van het intestinum is uitgeschakeld, voordat er gevaarlijke prothrombinedeficienties ontstaan.

Tenslotte hebben wij aangetoond, dat de oude galtherapie bij lever- en galblaasaandoeningen minder snel en vaak niet zoo effectief werkt als toediening van het antihaemorrhagisch vitamine. 5 van de 22 patiënten, waaronder enkele met in meerdere

of mindere mate een beschadiging van de leverfuncties, reageerden, wat betrof de toename van het prothrombine in het bloed, niet of zeer slecht op toediening van uitsluitend gal. Het vitamine K had in die gevallen wel effect op de vermeerdering van de stollingsfactor. De galtherapie is echter niet geheel te verwerpen en vooral bij ongecompliceerde afsluitingen van de galwegen is toediening van uitsluitend gal voldoende om prothrombineverminderingen in het bloed te voorkomen of te genezen.

In doseeringen van 2—4 gram per dag, in den vorm van *Fel tauri inspissatum*-pillen, bleek toediening van uitsluitend gal in staat te zijn om in de meeste gevallen van icterus het prothrombinegehalte in het plasma op normaal peil te houden.

Conclusies.

1. Bij iedere haemorrhagische diathese is het wenschelijk, dat men door middel van de stuwingsproef (Rumpel-Leede) den toestand van den vaatwand onderzoekt.
2. Het prothrombinegehalte bij den mensch is constant en vertoont gedurende een etmaal geen schommelingen.
3. De bepaling van het prothrombinegehalte in het plasma op zichzelf mag, evenmin als andere leverfunctieproeven, gebruikt worden voor de beoordeeling van alle functies van het orgaan.
4. De methode van Quick is in de kliniek een waardevolle test voor de bepaling van het prothrombine in het plasma van icteruspatiënten. Zij is niet specifiek genoeg om bij iedere willekeurige ziekte zonder meer gebruikt te worden voor de quantitative bepaling van genoemde stollingsfactor.
5. Bij de glomerulo-nephritis met uraemie kan men met de methode van Quick een verlengden plasmastollingstijd vinden. Deze berust echter niet op een tekort aan prothrombine.
6. Na bestudeering van de literatuur over het vitamine K komen wij tot de conclusie, dat het wenschelijk is om bij iederen icteruspatiënt vóór de operatie het prothrombinegehalte in het plasma te bepalen en bij een vermindering daarvan vitamine K toe te dienen.

Na de operatie contrôleere men dagelijks, gedurende minstens een week, het prothrombinegehalte, ter voorkoming van nabloedingen. Bij deze handelingen moet echter de bescherming van de lever door glucose- en veel vochttoedieningen op den voorgrond staan.

7. Uit de waarnemingen van andere onderzoekers, verkregen bij de bestudeering van de hypoprothrombinaemie bij pasgeborenen, komen wij tot de conclusie, dat het wenschelijk is om bij een pasgeboren kind het prothrombinegehalte in het bloed, dagelijks gedurende minstens een week na den partus, te bepalen, indien er in de voorgeschiedenis van de moeder reeds meerdere kinderen met een haemorrhagische diathese zijn geweest. In dit geval is het ook aan te raden om de moeder eenigen tijd vóór de bevalling met vitamine K te behandelen. Naast andere therapeutica neemt deze antihaemorrhagische factor een belangrijke plaats in bij de behandeling van den morbus haemorrhagicus neonatorum.

ZUSAMMENFASSUNG.

Kapitel I enthält eine kurze Erörterung über die hämorrhagischen Diathesen und die Frage der Blutgerinnung.

Als die Ursache der verzögerten Blutgerinnung bei Ikterus, über die vor dem Jahre 1935 so heftig gestritten wurde, wurde 1935 durch Q u i c k und seine Mitarbeiter ein Prothrombinmangel des Blutes festgestellt. Dabei wurde gleichzeitig nachgewiesen, dass bei der Hämophilie der Prothrombingehalt des Blutes nicht herabgesetzt ist. Die Befunde von Q u i c k wurden später durch andere Untersucher bestätigt.

Kapitel II gibt eine zusammenfassende Übersicht über die Entdeckung des Vitamins K durch D a m und seine Mitarbeiter. Küken bekamen bei einem Mangel an Vitamin K ausgedehnte Blutungen; der Prothrombingehalt des Plasmas lag denn auch sehr niedrig.

A l m q u i s t und S t o k s t a d haben, unabhängig von den europäischen Untersuchern, in Amerika diese neue Mangelkrankheit bei Küken entdeckt. Der antihämorrhagische Faktor erwies sich als ein fettlösliches Vitamin und erhielt den Namen „Vitamin K“ (erster Buchstabe des Wortes „Koagulation“). Bekamen die kranken Küken dieses Vitamin, so stieg der Prothrombingehalt des Blutes an, und die Blutungen kamen zum Stillstand. Das Vitamin K kommt vor allem in grünen Pflanzenteilen vor, wobei Alfalfa (Luzernekle), Kastanienblätter und Spinat den höchsten Gehalt besitzen. Ausser aus der Nahrung erhalten alle Tiere und auch der Mensch das Vitamin durch bakterielle Umwandlungen im eigenen Darm.

Q u i c k war der erste, der (1938) das Vitamin K als Therapeutikum in die menschliche Pathologie, und zwar beim Verschlussikterus, einführte. Das Fehlen der Galle im Darm hat nämlich die Entwicklung eines Prothrombinmangels im Blute des Ikteruskranken zur Folge. Es kommt zu einer Resorptionsstörung aller fettlöslichen

Bestandteile der Nahrung, also auch des Vitamins K. Auch hier konnte festgestellt werden, dass nach Verabreichung des anti-hämorrhagischen Vitamins der niedrige Prothrombinspiegel wieder ansteigt, falls die Leberfunktion nicht allzu schwer geschädigt ist. Die Intaktheit dieses Organs erwies sich als essentiell für die Bildung des Prothrombins und für eine optimale Wirkung des Vitamins K.

Eine sehr wichtige Rolle begann das Vitamin K alsbald bei der Vorbeugung und Bekämpfung postoperativer Blutungen zu spielen.

Nachdem die chemische Struktur des Vitamins K entdeckt war, ergaben weitere Untersuchungen sehr schnell, dass auch verschiedene seiner synthetischen Homologe eine antihämorrhagische Wirkung besaßen. Mit Hilfe verschiedener Substitutionen erhielt man auch stark wirksame, für die parenterale Verabfolgung geeignete wasserlösliche Präparate.

Ausser durch einen Verschluss der Gallenwege kann auch unter anderen Bedingungen ein Vitamin K-Defizit entstehen. Diese Bedingungen sind: Leberschädigung, mangelhafte Ernährung, Resorptionsstörungen infolge von Veränderungen der Darm-schleimhaut oder beschleunigter Darmpassage. Weiterhin hat man nachweisen können, dass eine grosse Zahl der spontanen Hämorrhagien bei Neugeborenen auf einem Vitamin K-Mangel beruhen.

Die eigenen Untersuchungen umfassten die Nachprüfung der Quic'schen Methode. Die Bestimmung des Prothrombingehaltes des Plasmas ist nicht so spezifisch, dass man sich in allen Fällen mit ihrer Hilfe ein Urteil über die Prothrombinmenge im Blut bilden kann. Mit dieser Einschränkung stellt sie jedoch für die Klinik eine sehr geeignete Routinemethode im Rahmen der Blutuntersuchung bei Ikteruskranken dar.

Auffallend ist das Gleichbleiben der Prothrombinmenge im menschlichen Blut; sie weist keine Schwankungen auf und wird auch durch die Mahlzeiten nicht beeinflusst.

Bei einer Anzahl Kranker mit nicht auf einem Verschlussikterus oder einer Leberkrankheit beruhenden Hämorrhagien war keine Verlängerung der Prothrombinzeit festzustellen. Wir fanden jedoch, dass dies oft bei Nephritiskranken mit Urämie der Fall ist. Vitamin K-Gaben hatten hier keinen Einfluss auf die Länge der

Prothrombinzeit, und da auch keine Umstände vorlagen, die die Vitamin K-Wirkung hätten behindern können, mussten wir zu dem Schluss kommen, dass die verlängerte Plasmagerinnungszeit bei Nephritiskranken, bestimmt nach Quick, nicht auf einem Prothrombindefizit im Blut beruhen kann. Die Frage nach der wirklichen Ursache dieser Hämorrhagie lassen wir unbeantwortet.

Zwei der seltenen Fälle von Vitamin K-Mangel infolge unzureichender Ernährung haben wir beobachten können. Hierbei muss man natürlich berücksichtigen, dass das Krankheitsbild in derartigen Fällen die Summe verschiedener Avitaminosen darstellt.

Bei der Untersuchung von 44 Kranken mit Ikterus und mit Leberstörungen ohne Gelbsucht fiel die grosse Zahl der mit einer deutlichen Herabsetzung des Prothrombingehaltes einhergehenden Fälle auf. Von 27 Patienten sprachen nur 3 nicht auf die Vitamin K-Therapie an, bei den übrigen 24 war innerhalb von durchschnittlich $2\frac{1}{2}$ Tagen eine vollständige Restitution des Prothrombingehaltes des Blutes zu erzielen.

Die Erniedrigung des Prothrombingehaltes im Blut von Ikteruskranken ist nicht in Parallele mit den Ergebnissen anderer Leberfunktionsproben zu setzen. Sie erlaubt daher keinesfalls Rückschlüsse auf die Funktion des ganzen Organs.

Bei einer Anzahl von Kranken mit Darmprozessen ist — vor allem beim Vorliegen von Resorptionsstörungen — der Prothrombinspiegel des Blutes gesenkt. In den meisten der in der Inneren Klinik zur Behandlung kommenden Fälle von Darmstörungen ist die Resorption des Vitamins K indes hinreichend, um den Prothrombingehalt des Blutes auf normaler Höhe zu halten. Auch aus dem Schrifttum geht hervor, dass es sich schon um sehr ernste Darmstörungen handeln muss, wobei obendrein z.B. auch ganze Darmstücke operativ ausgeschaltet sein müssen, ehe es zu gefährlichen Prothrombindefiziten kommt.

Schliesslich konnten wir nachweisen, dass die alte Galletherapie bei Leber- und Gallenblasenprozessen weniger rasch und oft nicht so optimal wirkt wie das antihämorrhagische Vitamin. So reagierten von 22 Patienten, unter denen sich einige mit mehr oder weniger schweren Schädigungen der Leberfunktionen befanden, 5 nicht oder nur schlecht auf reine Galle, was den Anstieg des Prothrombinspiegels im Blute betraf. Es war das Vitamin K, mit dem sich in

diesen Fällen eine Zunahme des Gerinnungsfaktors erzielen liess. Die Galletherapie ist jedoch nicht gänzlich zu verwerfen: vor allem bei unkomplizierten Verschlüssen der Gallenwege sind blosse Gallegaben hinreichend, um einen Prothrombinabfall im Blut zu verhindern bzw. rückgängig zu machen. Dosierungen von 2—4 g pro Tag, in Form von Pil. fel. tauri inspiss., erwiesen sich imstande, den Prothrombingehalt des Plasmas in den meisten Fällen auf normaler Höhe zu halten.

Schlussfolgerungen.

- 1) Bei jeder hämorrhagischen Diathese ist es wünschenswert, sich mit Hilfe des Stauungsversuches (Rumpel—Leede) über den Zustand der Gefässwand zu unterrichten.
- 2) Der Prothrombingehalt des Blutes beim Menschen ist konstant und weist innerhalb von 24 Std. keine Schwankungen auf.
- 3) Die Bestimmung des Prothrombingehaltes des Plasmas erlaubt, ebensowenig wie der Ausfall anderer Leberfunktionsproben, Rückschlüsse auf *sämtliche* Funktionen der Leber.
- 4) Die Methode von Quick ist in der Klinik ein wertvoller Test zur Ermittlung des Prothrombingehaltes des Plasmas bei Ikteruskranken. Sie ist indes nicht spezifisch genug, um ohne weiteres bei jeder beliebigen Krankheit zum Nachweis des Gerinnungsfaktors verwendet werden zu können.
- 5) Bei der Glomerulonephritis mit Urämie kann man mit der Methode von Quick eine verlängerte Plasmagerinnungszeit finden; dies beruht jedoch nicht auf einem Prothrombinmangel.
- 6) Nach Durchsicht des Schrifttums über das Vitamin K kommen wir zu dem Schluss, dass es sich empfiehlt, bei jedem ikterischen Kranken *vor* der Operation den Prothrombingehalt des Plasmas zu bestimmen und bei dessen Verminderung Vitamin K zu geben. Zwecks Umgehung von Nachblutungen kontrolliere man ferner mindestens eine Woche lang *nach* der Operation täglich den Prothrombingehalt. Der Leberschutz mittels Verabfolgung von Glukose und viel Flüssigkeit muss indes hierbei stets im Vordergrund stehen.

- 7) Auf Grund der Ergebnisse, die andere Autoren im Rahmen von Untersuchungen bei der Hypoprothrombinämie der Neugeborenen erhalten haben, folgern wir, dass bei Neugeborenen tägliche Prothrombinbestimmungen während mindestens einer Woche post partum angezeigt sind, wenn die Anamnese der Mutter bereits von mehr Kindern mit hämorrhagischer Diathese berichtet. In diesem Fall ist es auch ratsam, die Mutter einige Zeit vor der Geburt mit Vitamin K zu behandeln. Bei der Behandlung des Morbus haemorrhagicus neonatorum spielt dieser antihämorrhagische Faktor eine wesentliche Rolle.

SUMMARY.

In chapter I an account is given of hemorrhagic diatheses and of the coagulation of blood.

It was found by Quick and his collaborators in 1935 that the delay in coagulation of the blood of icteric patients is due to a lack of prothrombine in the blood-plasm. They also shew that in hemophilics there is no decrease of the content of prothrombine. Later on Quick's results have been confirmed by other investigators.

Chapter II gives a survey of the detection of vitamin K by Dam and collaborators. In chicken a lack of this anti-hemorrhagic factor gives rise to extensive hemorrhages, and the blood of these animals then contains very little prothrombine.

Independent of European investigators Almquist and Stokstad detected the new deficiency-illness of chicken in America. The antihemorrhagic factor appeared to be a fat-soluble vitamin which was called "vitamin K" (K = Koagulation). Administration of this vitamin to the diseased chicken made the prothrombine content of the blood rise and the bleeding cease. It was found to be present in green parts of plants, especially in alfalfa, chestnut-leaves and spinach. Except in the feed man and animals obtain the vitamin by bacterial processes in the intestines.

Quick was the first to introduce, in 1938, the administration of vitamin K in human pathology, viz. in patients suffering of mechanical icterus. The absence of bile in the intestine of these patients gives rise to a lack of prothrombine in the blood and consequently to a disturbance of the resorption of all fat-soluble substances, vitamin K included. By administration of the anti-hemorrhagic vitamin the low level of prothrombine could be raised, provided the function of the liver was not too heavily impaired.

This organ appeared to be essential for the formation of prothrombine and for its action.

The application of the vitamin in prophylaxis and therapy of postoperative bleeding was also shown to be very important.

After its chemical structure had been detected it was readily shown that many synthetic derivates had a similar anti-hemorrhagic effect. By different substitutions even strong water-soluble substances could be obtained suited for parenteral administration.

Except by an obstruction of the bile-ducts a deficiency of the antihemorrhagic factor may be caused by other conditions, e.g. by impairment of the liver, insuitable nutrition, or impaired resorption in the intestines caused by changes of the mucosa or by rapid passage of the contents. It has further been proved that spontaneous bleeding in new-born-children is often caused by a lack of vitamin K.

In the investigation of the writer Quick's method for the determination of the prothrombine in the blood-plasm was studied. This method is not so specific as to provide trustworthy results in every case; in clinical routine however it is very usefull for the investigation of prothrombine in the blood of icteric patients.

A remarkable feature is the constancy of the level of prothrombine in human blood. During the day this level hardly fluctuates and it is not influenced by the meals.

A number of patients with hemorrhages not caused by mechanical icterus or diseases of the liver does not show a delayed coagulation of the plasm. In nephritic patients with uraemia a delay was however found; in these patients administration of vitamin K had no appreciable influence, and as there were no impediments to its effect we concluded that in cases of the kind the delay of coagulation as determined by Quick's method should not be ascribed to a lack of prothrombine in the blood. The question as to the real cause of the delay had to be left open.

We observed two rare cases of vitamin K-deficiency caused by improper feeding. In these cases a lack of other vitamins should also be accounted for and thus the clinical picture had to be considered as the resultant of different illnesses.

In the examination of 44 patients suffering of icterus and of diseases of the liver without icterus the large number of cases with a low level of prothrombine in the blood was remarkable.

Of 27 patients 3 did not answer to administration of vitamin K. In the remaining 24 a treatment of about $2\frac{1}{2}$ days was sufficient for a complete restoration of the prothrombine.

The decrease of the prothrombine in the blood of icteric patients shows no parallelism with the results of other tests of the function of the liver, and it should therefore not be used for judging this function as a whole.

In a number of patients with intestinal diseases, especially with impaired resorption of fats, the amount of prothrombine in the blood is decreased. In those treated in medical clinics however, the resorption is generally sufficient to keep the prothrombine level normal. Literature also makes clear that only very serious intestinal diseases, e.g. when parts of the intestine have been eliminated by operation, may cause dangerous deficiencies of prothrombine.

We have further proved that the ancient treatment of diseases of the liver and of the gallbladder with bile is often not so effective as the administration of vitamin K. Five of 22 of our patients, partly with impaired function of the liver, did not answer satisfactorily to the administration of bile, whilst treatment with K-vitamin caused an obvious increase of the amount of prothrombine. Meanwhile the use of bile should not be completely rejected, as in case of simple obstruction of the bile-ducts its administration may be sufficient to prevent decrease of the prothrombine in the blood. (Dosage: 2—4 gr. fel tauri inspissatum in 24 hours.)

Conclusions.

- 1) In every case of hemorrhagic diathesis it is desirable to examine the state of the walls of the blood-vessels by means of the stowing method of Rumpel—Leede.
- 2) The content of prothrombine in human blood shows no appreciable fluctuations in the course of 24 hours.
- 3) The determination of the content of prothrombine in human blood-plasm does no more than other tests of the function of the liver provide an adequate judgment of this function as a whole.

- 4) For clinical purposes Quick's method is very useful for estimating the content of prothrombine in the blood-plasm of icteric patients. It is however not sufficiently specific to be used for the purpose in arbitrary cases.
- 5) In cases of glomerulo-nephritis with uraemia one may by Quick's method find an increase of the time of coagulation of the blood-plasm. This is however not to be ascribed to a lack of prothrombine.
- 6) In studying the literature we were led to the conclusion that operations on icteric patients should always be preceded by a determination of the amount of prothrombine in the blood-plasm, and in case of a decrease by the administration of vitamin K.
- 7) From observations of other investigators on hypoprothrombinaemia in new-born children we derive that in such children a daily determination of the amount of prothrombine in the blood-plasm during at least a week is desirable when in the history of the mother children with hemorrhagic diathesis are recorded; in the latter case the mother should be treated with vitamin K during some time before confinement. Apart from other therapeutics the antihemorrhagic factor plays an important part in the treatment of Morbus haemorrhagicus neonatorum.

LITERATUUR.

- H. J. Almquist. *J. biol. chem.* 114/241—1936.
— *J. biol. chem.* 115/589—1936.
— *J. biol. chem.* 117/517—1937.
— en E. L. R. Stokstad. *J. biol. chem.* 111/105—1935.
— *Nature* 1/581—1936.
— *J. nutrit.* 13/339—1937.
— *J. nutrit.* 12/329—1936.
— *J. nutrit.* 14/235—1937.
— *J. nutrit.* 14/241—1937.
— *J. biol. chem.* 117/517—1937.
— *J. biol. chem.* 120/635—1937.
— en A. A. Klose. *J. Am. chem. soc.* 61/1923—1939.
— *J. Am. chem. soc.* 61/1611—1939.
—, C. F. Pentler en E. Mecchi. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 38/336—1938.
—, E. Mecchi en A. A. Klose. *Bioch. J.* 32/1897—1938.
R. J. Anderson en M. S. Newman. *J. biol. chem.* 101/773—1933.
S. Ansbacher. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 44/248—1940.
— *J. nutrit.* 17/303—1939.
— en E. Fernholz. *J. Am. chem. soc.* 61/1924—1939.
—, E. Fernholz en M. A. Dolliver. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 43/652—1940.
J. G. Allen en O. C. Julian. *Arch. Surg.* 40/912—1940.
W. de W. Andrus en J. W. Lord Jr. *J. Am. med. ass.* 114/1336—1940.
P. M. Aggeler, S. P. Lucia en L. Goldman. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 43/689—1940.

K. M. Brinkhous, H. P. Smith en E. D. Warner. *Am. J. med. sc.* 196/50—1938.
— en E. D. Warner. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 44/609—1940.
— en H. P. Smith. *Am. J. med. sc.* 193/475—1937.
H. R. Butt, A. M. Snell en A. E. Osterberg. *Proc. staff. meet. Mayo clin.* 13/74—1938.
— *Proc. staff. meet. Mayo clin.* 13/753—1938.
— *J. Am. med. ass.* 113/383—1939.

- H. R. Butt en A. E. Osterberg. *Abstr. J. nutrit. (suppl.)* 15/11—1938.
 Bollman, H. R. Butt en A. M. Snell. *J. Am. med. ass.* 115/1087—1940.
 W. M. Bendien en S. v. Creveld. *Acta med. Scand.* 99/12—1939.
 H. R. Bird, O. L. Kline, C. A. Elvehjem, E. B. Hart en J. G. Halpin.
J. nutrit. 12/571—1936.
 H. R. Bird, C. A. Elvehjem en E. B. Hart. *J. biol. chem.* 114/10—1936.
 W. W. Babcock. *J. Am. med. ass.* 113/1933—1939.
 C. v. Bèek. *Ned. T. v. G.* II/2455—1941.
- A. Cantarow, S. Dodeken B. Gordon. *Arch. int. med.* 16/59—1915.
 R. L. Clark, C. E. Dixon, H. R. Butt en A. M. Snell. *Proc. staff. meet. Mayo clin.* 14/407—1939.
 N. Capon. *Lancet* 2/887—1932.
 G. Cheney. *J. Am. med. ass.* 115/1082—1940.
 — *Am. J. med. sci.* 200/327—1941.
 D. W. Mc Corquodale, L. C. Cheney, S. B. Binkley en W. F. Holcomb. *J. biol. chem.* 131/357—1939.
- H. Dam. *Klin. Wschr.* 1940/20 Juli, 729.
 — *Bioch. Z.* 194/177 en 188—1928.
 — *Nature* 133/909—1934.
 — *Bioch. Z.* 220/158—1930.
 — *Bioch. J.* 29/1273—1935.
 — en Fr. Schönheyder. *Nature* 135/652—1935.
 — *Bioch. J.* 28/1355—1934.
 — *Bioch. J.* 30/897—1936.
 — *Bioch. J.* 30/890—1936.
 — en L. Lewis. *Bioch. J.* 31/22—1937.
 — en P. Plum. *Klin. Wschr.* 815/40—1940.
 — en J. Glavind. *Acta med. Scand.* 96/108—1938.
 — *Bioch. J.* 32/485—1938.
 — *Lancet* 1938 26 Maart—p. 720.
 —, Fr. Schönheyder en E. Tage Hansen. *Bioch. J.* 30/1075—1936.
 —, Fr. Schönheyder en L. Lewis. *Bioch. J.* 31/22—1937.
 —, E. Tage Hansen en P. Plum. *Lancet* 1939—2 Dec. 1157.
 F. P. Dann. *Am. J. physiol.* 123/48—1938.
 Th. Deelen. *Ned. T. v. G.* 11 Mei/1799—1940.
 E. A. Doisy, S. B. Binkley, S. A. Thayer en R. W. Mc Kee.
Science 91/19 Jan. 1940.
 — *Science* 90/407—1939.
 H. Dyckerhoff en R. Marx. *Bioch. Z.* 307/35—1940.
- H. Eagle. *J. gen. physiol.* 18/547—1934.
 R. Engel. *Med. Welt* No. 4, 28 Jan. S. 120—1939.
 H. Engelkes. *Ned. T. v. G.* 10 Mei/1985—1941.

- M. C. Elliot, B. Isaacs en A. C. Ivy. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 43/140—1940.
- E. Frank. *Krankheiten des Blutes und des Blutbildenden Organe* — A. Schittenhelm II 1925.
- E. Fiechter. *Schweiz. med. Wschr.* 70/259—1940.
— en E. Hartmann. *Klin. Wschr.* 6/435—1927.
- H. A. Frank, A. Hurwitz en A. M. Seligman. *New. Engl. J. med.* 221/975—1939.
- J. H. Ferguson. *Am. J. physiol.* 108/670—1934.
- A. J. Fuchs en M. V. Valkenhausen. *Klin. Wschr.* 10/928—1930.
- R. Feissly. *Presse méd.* 7 Maart 1925.
— en A. Fried. *Klin. Wschr.* 6 Mei 1924.
- A. J. Fuchs en E. Hartmann. *Z. Immun. Forschg.* 58/1—1928.
- G. Fanconi. *Dtsch. med. Wschr.* 64/1565—1938.
- J. E. Flynn en E. D. Warner. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 43/190—1940.
- L. F. Fiesser. *Science* 91, 12 Jan. 1940.
- L. F. Fiesser, D. M. Bowen, W. P. Campbell en M. D. Gates Jr.
J. Am. chem. soc. 61/1926—1939.
- L. F. Fiesser, D. M. Bowen, W. P. Campbell, M. Fiesser, E. M. Fry, R. N. Jones, B. Riegel, C. E. Schweitzer en P. G. Smith. *J. Am. chem. soc.* 61/1925—1939.
- L. Gunther en D. M. Greenberg. *Arch. int. med.* 45/983—1930.
- W. R. Grove en H. W. C. Vines. *Brit. med. J.* 1/791—1922.
- W. Gros. *Dtsche Z. Verd. en Stoffw. Krankh.* I/59—1938.
- A. M. Grossman. *J. Pediatr.* 16/239—1940.
- J. D. Greaves. *Am. J. physiol.* 125/423—1939.
— *Am. J. physiol.* 125/429—1939.
— en C. L. A. Schmidt. *J. biol. chem.* 102/101—1933.
— *Proc. soc. exp. biol. en med.* 37/43—1937.
- W. H. Howell. *Arch. int. med.* 13/766—1914.
— *Am. J. physiol.* 77/680—1926.
— en E. B. Cekeda. *Am. J. physiol.* 78/500—1926.
- W. B. Hawkins en K. M. Brinkhous. *J. exper. med.* 63/995—1936.
- W. B. Hawkins en S. H. Whipple. *J. exper. med.* 62/599—1935.
- W. F. Holst en E. K. Halbrook. *Science* 77/354—1933.
- J. O. Halverson, H. K. Mohler en O. Bergheim. *J. Am. med. ass.* 68/1309—1917.
- L. M. Hellman en L. B. Shettles. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 65/138—1939.
- A. C. Ivy, P. F. Shapiro en P. Melnick. *Surg. gynec. obst.* 60/781—1935.
- R. Isaacs, C. C. Sturges, F. H. Bethell en S. M. Goldhamer.
Arch. int. med. 65/1211—1940.
- T. B. Jones en H. P. Smith. *Am. J. physiol.* 94/144—1930.

- E. S. Judd, A. M. Snell en M. T. Hoerner. *J. Am. med. ass.* 105/1653—1935.
- J. H. King en S. A. Stewart. *J. exp. med.* 11/673—1909.
- F. Koller. *Schweiz. med. Wschr.* 69/1159—1939.
- Katsuji Kato. *Am. J. dis. childh.* 59/310—1940.
- *Am. J. clin. path.* 10/147—1940.
- en H. G. Poncher. *J. Am. med. ass.* 114/749—1940.
- E. N. Kugelmass. *Arch. dis. childh.* 15/65—1940.
- R. Kark en E. L. Lozner. *Lancet* 2/1162—1939.
- R. Kark en A. W. Souter. *Lancet* 1/1149—1940.
- O. L. Kline, H. R. Bird, C. A. Elvehjem en E. B. Hart. *J. nutrit.* 11/515—1936.
- A. A. Klose, H. J. Almquist en E. Mecchi. *J. biol. chem.* 125/681—1938.
- C. D. de Langen en A. Lichtenstein. *A clinical text-book of Tropical medicine.*
- W. P. Lucas, B. F. Dearing, H. R. Hoobler, A. Cox, M. R. Jones en F. C. Smyth. *Am. J. dis. childh.* 22/525—1921.
- R. J. Lee en B. Vincent. *Arch. int. med.* 45/983—1930.
- R. R. Linton. *Ann. Surg.* 91/694—1930.
- *Ann. Surg.* 93/707—1931.
- *Ann. Surg.* 96/394—1932.
- L. Mackhi. *Am. J. med. sci.* 157/218—1928.
- R. W. McKee. *J. biol. chem.* 131/327—1939.
- J. Macfie, H. L. Bacharach en M. R. H. Chance. *Brit. med. J.* 2/1220—1939.
- O. Naegeli. *Blutkrankheiten und Blutdiagnostik.* 1931.
- K. K. Nygaard. *Acta obst. gynec. Scand.* 19/361. 1939.
- R. W. McNealy, P. F. Shapiro en P. Melnick. *Surg. gynec. obst.* 60/785—1935.
- C. A. Owen, G. R. Hoffman, S. E. Ziffren en H. P. Smith. *Proc. soc. exp. biol. en med.* 41/181—1939.
- O. H. Pepper en D. L. Farley. *Practical Hematological Diagnosis.*
- H. G. Poncher en Katsuji Kato. *J. Am. med. ass.* 115/14—1940.
- F. J. Pohle en J. K. Stewart. *Am. J. med. sci.* 198/622—1939.
- *J. clin. invest.* 19/365—1940.
- A. J. Quick. *Am. J. physiol.* 118/260—1937.
- *J. Am. med. ass.* 109/66—1937.
- *J. Am. med. ass.* 110/658—1939.
- *J. Am. med. ass.* 114/1342—1940.
- *Proc. soc. exp. biol. en med.* 40/206—1939.
- *Proc. soc. exp. biol. en med.* 42/788—1939.

- en A. M. Grossman. Proc. soc. exp. biol. en med. 40/647—1939.
 — Proc. soc. exp. biol. en med. 41/227—1939.
 — Am. J. med. sci. 199/1—1940.
 —, Stanley—Brown en F. W. Bancroft. Am. J. med. sci. 190/501—1935.
 — J. biol. chem. 109/73—1935.

- F. C. Rodda. Am. J. dis. childh. 19/269—1920.
 K. Rohr. Schweiz. med. Wschr. 29/685—1940.
 J. Rerábek. Klin. Wschr. 15/368—1941.
 L. M. Roderick. Am. J. physiol. 96/413—1931.
 J. E. Rhoads. Surgery 5/794—1939.
 — en L. M. Panzer. J. Am. med. ass. 112/309—1939.
 — en M. T. Fliegelman. J. Am. med. ass. 114/400—1940.
 I. S. Ravidin, C. Riegel en J. R. Morrison. Ann. Surg. 91/801—1930.
 D. Richert, S. A. Thayer, R. W. Mc Kee, S. B. Binkley en E. A. Doisy. Proc. soc. exp. biol. en med. 44/601—1940.

- A. M. Snell. J. Am. med. ass. 112/1457—1939.
 —, C. H. Green en L. G. Rowntree. Arch. int. med. 40/471—1927.
 F. H. Scott en C. Chamberlain. Proc. soc. exp. biol. en med. 31/1054—1933.

- C. P. Steward en S. H. Percival. Bioch. J. 22/559—1928.
 Fr. Schönheyder. Nature 1/653—1935.
 H. P. Smith, E. D. Warner en K. M. Brinkhous. J. exp. med. 66/801—1937.

- en W. H. Seegers. J. exp. med. 67/911—1938.
 J. D. Stewart. Ann. Surg. 109/588—1939.
 — en G. M. Rourke. J. Am. med. ass. 113/2223—1939.
 G. H. Scanlon, K. M. Brinkhous, E. D. Warner en H. P. Smith. J. Am. med. ass. 112/1898—1939.
 —, S. E. Ziffren, C. A. Owen en G. R. Hoffman. J. Am. med. ass. 113/380—1939.

- A. W. Souter, R. Kark en F. H. L. Taylor. Science 91/13—1940.
 — en R. Kark. Am. J. med. sci. 200/603—1940.
 L. Salomonsen. Acta paediatr. Suppl. 1 27/1—1939.
 H. Scarborough. Lancet 1/1080—1940.
 L. B. Shettles, E. Delfs en L. M. Hellman. Bull. Johns Hopkins Hosp. 65/419—1939.

- S. A. Thayer, R. W. Mc Kee, S. B. Binkley, D. W. Mc Corquodale en E. A. Doisy. Proc. soc. exp. biol. en med. 40/478—1939.
 — Proc. soc. exp. biol. en med. 41/194—1939.
 S. A. Thayer, L. C. Cheney, S. B. Binkley, D. W. Mc Corquodale en Doisy. J. Am. chem. soc. 61/1932—1939.
 — Am. J. med. sci. 198/622—1939.

- S. A. Thayer, R. W. Mc Kee, S. B. Binkley en E. A. Doisy.
Proc. soc. exp. biol. en med. 44/585—1940.
- L. M. Tocantins. Proc. soc. exp. biol. en med. 43/729—1940.
— Am. J. dis. childh. 59/1054—1940.
- O. Thordarson. Acta med. Scand. 104/291—1940.
— Nature 145/305—1940.
- S. R. Townsend en E. S. Mills. J. Can. med. ass. 42/541—1940.
- R. T. Tidrick, F. T. Joyce en H. P. Smith. Proc. soc. exp. biol. en med. 42/853—1939.
- A. v. Vijve. Acta Brevia Neerl. physiol. etc. 11/101—1941.
— Acta Brevia Neerl. physiol. etc. 11/97—1941.
- Wiggers. Leerboek over bloedziekten.
- W. Walters. Surg. gynec. obst. 33/651—1921.
— en J. P. Bowler. Surg. gynec. obst. 39/200—1924.
- M. Walter. Arch. Surg. 26/1—1933.
- E. D. Warner. J. exp. med. 68/831—1938.
— Abstr. disc. J. Am. med. ass. 112/879—1939.
—, K. M. Brinkhous en H. P. Smith. Am. J. physiol. 114/667—1936.
— Proc. soc. exp. biol. en med. 37/620—1938.
- E. D. Warner en J. S. Flynn. Proc. soc. exp. biol. en med. 44/607—1940.
- H. Wildegans. Arch. f. Klin. Chir. 142/698—1926.
- C. S. Williamson en F. C. Mann. Am. J. physiol. 65/267—1923.
- S. J. Wilson. Proc. soc. exp. biol. en med. 41/559—1939.
— Proc. soc. exp. biol. en med. 43/676—1940.
- E. Wöhlisch. Krankheiten des Blutes und des Blutbildenden Organe. —
A. Schittenhelm II 1925.
— Klin. Wschr. 2/1073—1923.
- W. W. Waddell Jr. en Du Pont Guerry. J. pediatr. 15/802—1939.
—, W. E. Bray en O. R. Kelley. Proc. soc. exp. biol. en med. 40/432—1939.
- H. Walter. J. biol. chem. 122/249—1937.
— J. Am. med. ass. 112/2259—1939.
- S. E. Ziffren, C. A. Owen, G. R. Hoffman en H. P. Smith. Proc. soc. exp. biol. en med. 40/595—1939.
- R. Zimmermann. Am. J. med. sci. 174/379—1927.
- F. Ziegelroth. Münch. Med. Wschr. 133/1938.

STELLINGEN

I

De toediening van gal aan patiënten, lijdende aan afsluiting van de galwegen en aan leverziekten, is een waardevolle therapie.

II

Bij spontane intracraniële bloedingen van den neonatus is toediening van vitamine K aangewezen.

III

De reactie van Takata-Ara moet voor de beoordeeling van de leverfunctie gelijktijdig uitgevoerd worden in serum en plasma.

IV

Thymectomie is bij de myasthenia gravis pseudo-paralytica te prefereren boven andere behandelingswijzen.

V

Bij bloedingen van onbekenden oorsprong uit de luchtwegen moet men een diagnostische bronchoscopie verrichten.

VI

Een anus praeternaturalis dient bij voorkeur perineaal te worden aangelegd.

VII

Bij de hyperthermie-behandeling van dementia paralytica verdienen de fysieke methoden de voorkeur.

VIII

Het is noodzakelijk, dat wettelijke maatregelen worden getroffen teneinde de plattelandsbevolking te beveiligen tegen besmetting met tuberculose der runderen.

IX

Bij de behandeling van de conjunctivitis gonorrhoeica neonatorum met indruppelen van sulfanilamide-preparaten in den conjunctivaalzak, mag de intramusculaire melkinjectie niet achterwege blijven.

X

De behandeling van rachitis met bestraalde volle- of taptemelk dient in de kinderklinieken te worden toegepast.

