Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

De specifieke zuurstofcapaciteit van de bloedkleurstof bij ziekteprocessen

https://hdl.handle.net/1874/276947

Med. A^to 192. 4 April 1922

DE SPECIFIEKE ZUURSTOFCAPACITEIT VAN DE BLOEDKLEURSTOF BIJ ZIEKTEPROCESSEN



H. ENGELKES

DE SPECIFIEKE ZUURSTOFCAPACITEIT
VAN DE
BLOEDKLEURSTOF BIJ ZIEKTEPROCESSEN

Diss. Utrecht 1922

DE SPECIFIEKE ZUURSTOFCAPACITEIT VAN DE BLOEDKLEURSTOF BIJ ZIEKTEPROCESSEN

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE
RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT

OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. J. A. C. VAN LEEUWEN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID, VOLGENS HET BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TE VERDEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE OP DINSDAG 4 APRIL 1922
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

HILDERIKUS ENGELKES
ARTS
GEBOREN TE GRONINGEN



ELECTRISCHE DRUKKERIJ „DE INDUSTRIE" J. VAN DRUTEN — UTRECHT.
1922.

Aan mijne Moeder.

„L'expérimentateur doit douter, fuir les idées fixes, et garder toujours sa liberté d'esprit."

CLAUDE BERNARD.

Aan het eind van mijn academische loopbaan grijp ik de gelegenheid aan, om U, Hoogleeraren en Oud-Lector der Geneeskundige en Philosophische Faculteiten te Groningen, mijn dank te brengen voor het van U genoten onderwijs.

De redenen, waarom dit in het bijzonder U geldt, Hooggeleerde Hijmans van den Bergh, Hooggeachte Promotor, zijn vele. Het voorrecht, dat ik meerdere jaren in kliniek en laboratorium onder Uw leiding heb mogen werkzaam zijn, zal ik steeds naar waarde blijven schatten. Veel ben ik U verschuldigd voor de warme belangstelling, die mijn werk steeds van U mocht ondervinden; voor Uw objectieve, scherpe — daarom niet minder welwillende — kritiek, die steeds een prikkel was tot verder onderzoek. In hooge mate wordt het door mij gewaardeerd, dat ik door U in de gelegenheid ben gesteld, tijdens mijn assistentschap dit proefschrift te bewerken.

Zeer erkentelijk ben ik U, Hooggeleerde Kouwer en Laméris en Zeergeleerde Bosscha, voor Uw welwillendheid die mij in staat stelde, ook buiten de geneeskundige kliniek gegevens te verzamelen.

In dankbare herinnering zullen bij mij blijven de aangename uren, die ik het voorrecht had met U, Hooggeleerde Ringer, op het physiologisch-chemisch laboratorium samen te werken.

De groote bereidwilligheid, waarmee U, Hooggeleerde Zwaardemaker, mij hebt toegestaan gebruik te maken van Uw apparatuur, wordt door mij zeer gewaardeerd.

Het is U bekend, Zeergeleerde Muller, hoe ik Uw hulp, bij de bewerking van dit proefschrift ondervonden, op prijs

stel. Uw bescheidenheid, Zeergeleerde VAN DER PLAATS, verbiedt mij, hier nader aan Uw goede voorlichting te herinneren.

Eindelijk een woord van dank aan U, waarde VERHOEF, die geen klein aandeel hebt gehad in het welslagen van mijn onderzoek, en hiervoor veel moeite en tijd — niet zelden vrije uren — hebt gegeven.

Mijn mede-assistenten, de verpleegsters en het personeel der kliniek, zullen, naar ik hoop, mijn welgemeenden dank aanvaarden voor de hulpvaardigheid die ik steeds van hen mocht ondervinden.

INHOUD.

Bladz.

I. Inleiding 1

II. Het qualitatief onderzoek op de aanwezigheid van pathologische haemoglobinederivaten 8
De kleur van het bloed 8
De spectroscopie van het bloed. 9

III. Quantitatieve bepaling van het zuurstofbindend vermogen. 15
Chemische methoden 15
Methode van het roode bloedloogzout. 18
Physische ijking van het differentiaal apparaat volgens Barcroft en Higgins 30
Chemische ijking volgens Barcroft en Burn . . 34
IJking volgens Hoffmann, gewijzigd door Münzer en Neumann. 38
De formule van Barcroft 42
Nauwkeurigheid der ferricyaankali-methode. . . 45

IV. Quantitatieve kleurstofbepaling 50

V. De specifieke zuurstofcapaciteit 59

VI. De gang van het onderzoek 75

VII. Klinische waarnemingen 86
Normale personen 86
De intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie. . . . 88
De specifieke O_2-capaciteit bij eenige anaemieën. De haematinaemie. 98
Secundaire anaemieën 100
Anaemieën van het haemolytisch type 100
Eenige andere gevallen van bloedafbraak . . . 119
Eenige acute infectieprocessen 125

Samenvatting 130

I.

Inleiding.

De energiewisselingen in de actieve cellen van het organisme vereischen vóór alles een ongestoorde zuurstofvoorziening der weefsels. In tegenstelling met de eencellige wezens, waar deze vraag zich oplost in die van de al of niet aanwezigheid van zuurstof in de onmiddellijke omgeving, behoeven de hoogere dieren hiervoor een afzonderlijk mechanisme: den bloedstroom, als vervoermiddel van zuurstof en koolzuur, als schakel tusschen de uit- en inwendige ademhaling. Hieruit volgt zonder meer, dat een belangrijke stoornis in dat mechanisme, al naar haar omvang en intensiteit en de snelheid waarmee ze zich ontwikkelt, min of meer ingrijpende veranderingen, niet zelden den dood, met zich kan voeren. De noodlottige gevolgen van zuurstofgebrek staan in het nauwste verband met de onmogelijkheid van het vormen van een reserve: terwijl water eenige dagen — voedsel zelfs eenige weken — zonder levensgevaar kan worden ontbeerd, maakt algeheele zuurstofonthouding binnen enkele minuten een eind aan het leven (*«stops the machine»* [1]); maar ook een geringer zuurstoftekort kan, bij langduriger bestaan, tot ernstige gevolgen leiden (*«is wrecking the machinery»* [1]): langzamerhand komen de weefsels in het algemeen, sommige meer in het bijzonder, in een toestand, die met een goede functie niet meer vereenigbaar is. Het valt dus niet te betwijfelen, dat een dieper inzicht in de stoornissen, die de ademhalingsfunctie van het bloed kan ondergaan, ook klinisch van het grootste belang moet zijn. Toch is onze kennis omtrent deze zoo belangrijke verrichting nog gebrekkig en van jongen datum, al stemt de snelle ontwikkeling der laatste jaren hoopvol.

[1]) Haldane, Brit. med. Journal, 1919, II, pag. 65.

De reden hiervan wordt aanstonds duidelijk, als we een — zij het zeer vluchtigen — blik slaan in de geschiedenis.

Tot het midden der 18e eeuw had men de meest vage en onvolkomen begrippen omtrent het chemisme der ademhaling. Wel had ROBERT HOOKE [1]) reeds waargenomen, dat een voortdurende luchttoevoer voor het leven noodzakelijk was, maar het doel der ademhaling zocht men, op het voetspoor der Ouden, uitsluitend in de afkoeling van het bloed tijdens de longcirculatie. Het pionierswerk van JOHN MAYOW [2]) — die aantoonde dat de zuurstof, «spiritus nitro-aereus», het noodzakelijke bestanddeel van de lucht was, dat het overging in het bloed om hier en in de organen verschillende stoffen te verbranden — was met de snelle opkomst van de phlogistontheorie verloren gegaan. Het was het genie van LAVOISIER [3]), dat alle processen waaraan de O_2 deelneemt zoowel in de levende als in de doode natuur, vanuit één gezichtspunt leerde beschouwen, en wel als oxydatieprocessen. In zijn beroemde mémoires ontwikkelde hij de naar hem genoemde theorie, die de hoeksteen zou worden der moderne ademhalingsphysiologie. Hij had gezien, dat bij verbranding O_2 werd verbruikt, en warmte — soms ook licht — vrij kwam, dat bij de respiratie O_2 werd opgenomen, CO_2 en H_2O afgegeven, en eindelijk, dat de dierlijke warmte, althans voor een groot deel, was toe te schrijven aan de verbranding van organische stoffen in het lichaam door de O_2 der ingeademde lucht. Volgens LAVOISIER greep die verbranding in de longen plaats; de ontwikkelde warmte zou door het bloed worden geabsorbeerd en vandaar door het geheele lichaam worden verspreid.

Het was niet zonder strijd dat de theorie van LAVOISIER zich baan zou breken. Al aanstonds ontmoette zij den heftigsten tegenstand bij de *vitalisten*, die in BICHAT [4]) hun meest

---

[1]) HOOKE, Philosophical Transactions, 2, 1667, pag. 539, geciteerd volgens BAYLISS.

[2]) Geciteerd volgens BAYLISS, General Physiology.

[3]) LAVOISIER, Mémoires de l'Acad. des Sciences, 1777; LAVOISIER et DE LAPLACE, idem, 1780; LAVOISIER et SÉGUIN, idem, 1790.

[4]) BICHAT, Recherches physiologiques sur la Vie et la Mort, 1802.

genialen woordvoerder vonden. De productie der dierlijke warmte was volgens hem niet een chemisch proces, maar een essentieel vitale functie, een warmte-secretie, door hem *calorification* genoemd, te rangschikken onder de «vie organique» evenals voeding, ademhaling, secretie, enz., en gelocaliseerd in het geheele capillaire systeem, niet uitsluitend in de longen. Dat BICHAT overigens de beteekenis der longen voor het chemisme van het bloed niet onderschatte, moge blijken uit de uitvoerige beschouwingen, in zijn «Recherches physiologiques sur la Vie et la Mort» gewijd aan de chemische functie der longen, gepaard gaande met de arterialisatie van het bloed. De onderbreking van deze functie — die ook BICHAT als van chemischen aard beschouwde — bleek oogenblikkelijk den dood te veroorzaken, doordat het hart asphyctisch bloed naar de organen voerde. Aan het verschil in eigenschappen tusschen het arterieele en veneuze bloed hechtte hij groote beteekenis; het eerste had op de vitale functies van alle organen een prikkelenden invloed en onderhield het leven der organen; het laatste werkte remmend en onderhield het leven niet. Hij liet daarbij in het midden of het veneuze bloed actief den dood veroorzaakte, dan wel passief door het ontbreken van stoffen als b.v. zuurstof. Als waarschijnlijk nam hij aan, dat de zenuwen die de kleinste vaten begeleiden, een rol spelen: «je serais porté à considérer la mort par l'asphyxie comme un effet généralement produit par le sang noir sur les nerfs qui, dans toutes les parties, accompagnent les artères où circule alors cette espèce de fluide» (editie 1873, pag. 158). BICHAT nam dus eenerzijds de processen in de long, en het resultaat daarvan: de kleursverandering van het bloed, als vaststaand aan; toonde verder zelf aan dat deze chemische processen van het allergrootste gewicht zijn voor de functie en het leven van de organen en het geheel; localiseerde verder de warmteproductie in het geheele organisme en niet uitsluitend in de longen. Toch nam hij geen direct verband aan tusschen die chemische longprocessen en de dierlijke warmte, welke laatste volgens hem afhankelijk was van de vitale warmtesecretie, de «calo-

rification», die op haar beurt — al of niet door tusschenkomst van zenuwen — ten nauwste verband hield met de voorziening met arterieel bloed.

Na den dood van BICHAT was het vooral onder den invloed van MAGENDIE [1]) dat de theorie van LAVOISIER meer en meer ingang vond en al spoedig algemeen heerschte, ook zijn opvatting omtrent de localisatie der verbranding in de longen. In dit laatste is wel de oorzaak te zoeken van het feit, dat zelfs tot het midden der vorige eeuw van vele zijden de aanwezigheid van gassen in het bloed werd ontkend, hoewel reeds ROBERT BOYLE, [2]) PRIESTLEY, [3]) en DAVY [4]) er hadden uitgedreven. Immers, wilde men de theorie van LAVOISIER aanvaarden — en dit geschiedde vrijwel algemeen, zonder voorbehoud — dan moest men aannemen, dat het arterieele bloed warmer was dan het veneuze. De vraag of het bloed tijdens de longcirculatie daalde dan wel steeg in temperatuur — door de Ouden in den eersten zin beantwoord — kwam thans weer in het brandpunt der belangstelling. Aanvankelijk scheen het experiment deze zienswijze te bevestigen; men vond in het linker hart de temperatuur hooger dan in het rechter, in periphere arteriën hooger dan in de begeleidende venae. Het ontbrak overigens niet aan waarnemingen met een tegenovergesteld resultaat, maar men was door het werk van LAVOISIER zoodanig vooringenomen, dat experimenten, die daarmee niet in overeenstemming waren, werden uitgeschakeld, «negatief» genoemd [5]). De werken van DAVY, [6]) COUTANCEAU en NYSTEN, [7]) WILLIAM EDWARDS, [8]), COLLARD

---

[1]) MAGENDIE, Bulletin des sciences médicales, 1809.

[2]) BOYLE, Philos. transactions, 1670, geciteerd volgens BAYLISS.

[3]) PRIESTLEY, Phil. trans. 1772.

[4]) DAVY, Gilbert's Annalen, 1803, XII.

[5]) BERNARD, Liquides de l'organisme I.

[6]) DAVY, Gilbert's Annalen, XIX, 1806.

[7]) COUTANCEAU en NYSTEN, Meckel's Archiv für Physiologie, Bd. 3, geciteerd volgens BERNARD.

[8]) W. EDWARDS, De l'influence des agens physiques sur la vie, 1823.

DE MARTIGNY [1]) en J. MÜLLER [2]) die dieren lieten ademen in O_2-vrije atmosfeer en in de uitademingslucht CO_2 aantoonden, die van STEVENS, [3]) HOFFMANN, [4]) REID CANNY, [5]) VAN ENSCHUT, [6]) die in het bloed CO_2 vonden, maar vooral die van GUSTAV MAGNUS [7]) die de gassen van arterieel en veneus bloed min of meer quantitatief vergeleek, dwongen echter wel tot een andere meening omtrent de plaats der oxydatie; ze toonden aan, dat in de longen, in plaats van een levendige, directe verbranding hoofdzakelijk slechts een wisseling plaats had tusschen de O_2 en het CO_2 van het bloed. Dat de longen niet beschouwd konden worden als eenige plaats van verbranding volgde overigens reeds uit deze overweging dat die organen onmogelijk weerstand zouden kunnen bieden aan de warmte, ontwikkeld bij de binding der gasvormige stoffen die elkaar daar ontmoeten [8]). Toen het daarenboven aan CL. BERNARD en WALFERDIN [9]) gelukte eenheid te brengen in de schijnbaar tegenstrijdige waarnemingen omtrent de temperatuur van het bloed, en aan te toonen, dat in de rechterkamer een iets hoogere temperatuur heerscht dan in de linker (tot welk resultaat ook LIEBIG [10]) was gekomen), was de theorie van LAVOISIER — hoe juist ook in haar geheel — op dit punt niet meer houdbaar; van nu aan had men in de ademhaling te zien een algemeen

---

[1]) MARTIGNY, Magendie's Journ. de Physiologie, X, geciteerd volgens BERNARD.

[2]) J. MÜLLER, Handbuch der Physiologie, Bd. I.

[3]) STEVENS, Observations on the blood, London 1832; Phil. transactions 1835, P. II.

[4]) HOFFMANN, London medical Gazette, 1833.

[5]) REID CANNY, Lancet 1833.

[6]) VAN ENSCHUT, De respirationis chymismo. Traj. ad Rh. 1836. Geciteerd volgens MAGNUS, Poggendorff's Annalen, Bd. 66, 1845.

[7]) GUSTAV MAGNUS, Poggendorff's Annalen der Physik und Chemie, Bd. 40, 1837.

[8]) LAGRANGE, geciteerd volgens BERNARD.

[9]) BERNARD, Liquides de l'organisme I, 1859.

[10]) LIEBIG, Über den Temperaturunterschied des venösen und arteriellen Blutes. Giessen 1853.

verschijnsel, een langzame verbranding, plaatsgrijpende in alle weefsels van het lichaam. [1])

Het bloed niet een vervoermiddel van de in de longen ontwikkelde warmte, maar van de gasvormige elementen, die bij de algemeene verbranding in de weefsels een rol spelen, aldus was het resultaat van de proeven van MAGNUS, die in dezen een experimenteele bevestiging waren van de theorieën van LAGRANGE en HASSENFRATZ. Met MAGNUS begint dus eigenlijk de studie van de *ademhalingsfunctie van het bloed*, die met het werk van BERNARD, LUDWIG, PFLÜGER, HÜFNER, BOHR, e. a. zulke belangrijke feiten aan het licht zou brengen, en vooral dank zij HALDANE, BARCROFT, KROGH en hun medewerkers in de laatste jaren zulk een groote vlucht heeft genomen.

Het is niet in overeenstemming met den omvang van dit boekje, een eenigszins volledig beeld te geven van de wijzen waarop anoxaemie zich klinisch kan manifesteeren. Alleen zij er op gewezen, dat de functie van het bloed, O_2 en CO_2 te vervoeren, van meerdere factoren afhankelijk is, en derhalve de pathologische stoornissen ook een zeer verschillend aangrijpingspunt kunnen hebben. Maar welke ook de verhoudingen mogen zijn, waaronder het bloed die taak heeft te vervullen, steeds zal aan één voorwaarde moeten zijn voldaan: de bloedkleurstof moet niet alleen in voldoende hoeveelheid aanwezig, maar ook functioneel volwaardig zijn, d. w. z. O_2 in dissociabelen vorm kunnen binden in de longen, en weer afstaan in de weefsels. Bekend is, dat sommige veranderingen, b. v. omzetting in kooloxyd- of methaemoglobine, dit vermogen opheffen.

Wij hebben ons afgevraagd of dergelijke veranderingen — afgezien van exogene vergiftigingen — zich niet veelvuldiger zouden voordoen in de kliniek dan men tot dusver pleegt waar te nemen. Tevens wilden wij trachten ons een oordeel te vormen over de quantitatieve verhoudingen tusschen nor-

---

[1]) Zie hierover de discussies tusschen BERNARD en BOUILLAUD, Comptes rendus 1872.

male en veranderde bloedkleurstof in de gevallen waarin deze zou kunnen worden aangetoond.

Bij dit onderzoek staan ons twee wegen open. De meest voor de hand liggende is wel deze, dat wij trachten direct de abnorme stoffen, die geen O_2 los kunnen binden, te herkennen, en zoo mogelijk quantitatief te bepalen; een andere meer indirecte, bestaat hierin, dat we nagaan eenerzijds de totale hoeveelheid bloedkleurstof — waaronder ik in het vervolg zal verstaan het haemoglobine met inbegrip van zijn ijzerhoudende derivaten, waarbij dus het bilirubine en de lipochrome stoffen buiten beschouwing blijven — anderzijds de hoeveelheid bloedkleurstof, die haar O_2 bindend vermogen heeft behouden; het verschil tusschen die twee grootheden leert dan hoeveel haemoglobine deze eigenschap heeft verloren. Het is duidelijk, dat deze twee werkwijzen niet gelijkwaardig zijn; in het eerste geval weten wij niet alleen dat veranderingen zijn ingetreden, maar ook waarin die bestaan; de laatste methode daarentegen leert ons alleen of, en zoo ja in welke mate, het bloed zijn O_2-bindend vermogen heeft verloren, zonder dat zij ons den aard dier veranderingen doet kennen. Een inzicht in de qualitatieve èn quantitatieve verhoudingen krijgt men dus alleen als beide methoden elkaar aanvullen.

II.

Het qualitatief onderzoek op de aanwezigheid van pathologische haemoglobinederivaten.

De kleur van het bloed.

Het haemoglobine en zijn derivaten onderscheiden zich min of meer opvallend in hun *kleur*. Van oudsher — sinds Harvey's ontdekking van den bloedsomloop — heeft deze eigenschap van het bloed de aandacht der physiologen getrokken. Vooral in de werken van Bichat werd hieraan een zeer groote beteekenis toegekend; zeer scherp werd onderscheiden tusschen het donkere veneuze bloed met zijn remmenden invloed op alle vitale functies, en het hoogroode arterieele, dat deze aanzette en het leven onderhield. Talrijk waren dan ook de onderzoekingen hierover verricht. Zoo geeft b.v. Nasse in Wagners's Woordenboek [1]) een groot aantal feiten in verband met de kleur van het bloed. De verdienste, in deze vraagstukken veel meer klaarheid te hebben gebracht, komt in de eerste plaats toe aan Claude Bernard. Aan de hand van schitterende experimenten, waarop hier niet kan worden ingegaan [2]), wees hij er op, dat de kleursverschijnselen van het bloed in hooge mate onder den invloed stonden van het centrale zenuwstelsel, dat de wisselwerking tusschen bloed en weefsels reguleert.

De tot dusver bedoelde waarnemingen betroffen de *kleursverschillen in verband met de venositeit*. Zij leeren ons natuurlijk niets omtrent chemische veranderingen, die een losse O_2 binding onmogelijk maken, want door schudden met lucht wordt veneus bloed in kleur gelijk aan het arterieele. Alleen dan kunnen kleursveranderingen ons voor die omzettingen

---

[1]) Wagner, Handwörterbuch der Physiologie.

[2]) Bernard, Liquides de l'organisme I.

een aanwijzing zijn, als ze blijven bestaan *ook na verzadiging van het bloed met zuurstof.*

In dit verband moge er op gewezen worden, dat BERNARD, reeds vóór dat de spectroscoop een inzicht had gegeven in de absorptieverschijnselen van de bloedkleurstoffen, door middel van het ongewapend oog enkele omzettingen aan de kleur zeer juist heeft herkend. Zoo zag hij [1]) en ongeveer tegelijkertijd HOPPE-SEYLER [2]) — dat het bloed, in aanraking met CO, een hoogroode kleur aannam, dat bij dieren met dat gas vergiftigd, het veneuze bloed even rood zag als het arterieele, en dat het deze kleur weken lang kan behouden, en de opname van O_2 volkomen beletten. Ook de werking van H_2S op bloed heeft BERNARD vóór het spectroscopisch onderzoek op deze wijze waargenomen. [3]) Toch heeft de kleursverandering, waar te nemen met het ongewapend oog, als symptoom van haemoglobinveranderingen geen groote waarde: er moet een groote hoeveelheid bloedkleurstof chemisch veranderd zijn, zal daardoor de kleur van het bloed zichtbaar afwijken van de normale. In de kliniek doen zich dergelijke grove afwijkingen betrekkelijk zelden voor, en zal men als regel alleen zekerheid krijgen door objectieve ontleding van het licht, te meer daar het onderzoek der kleursverschijnselen wel heeft aangetoond dat licht van zeer uiteenloopende samenstelling op ons oog den indruk van dezelfde kleur kan geven.

DE SPECTROSCOPIE VAN HET BLOED.

Een vruchtbare studie van de pathologische haemoglobinederivaten werd dan ook eerst mogelijk nadat HOPPE-SEYLER [4]), gebruik makende van de uitvinding van KIRCHHOFF en BUNSEN van de spectraalanalyse der chemische stoffen, gevonden had,

---

[1]) BERNARD, Leçons sur les effets des substances toxiques et medicamenteuses 1857.

[2]) HOPPE-SEYLER, Virchows Archiv, Bd. XI, 1857, pag. 288.

[3]) BERNARD, Substances toxiques et médicamenteuses.

[4]) HOPPE-SEYLER, Virchow's Archiv, Bd. XXIII, 1862, pag. 446.

dat de bloedkleurstof een zeer karakteristiek absorptiespectrum vertoont.

Deze belangrijke ontdekking werd de oorsprong van de spectroscopie van het bloed. Zijn waarnemingen werden spoedig bevestigd door VALENTIN [1]) en iets later door STOKES [2]). Deze spectrale verschijnselen kregen een enorme beteekenis toen het HOPPE-SEYLER gelukte aan te toonen dat de roode kleurstof zich op dezelfde wijze met O_2 verbindt als de erythrocyten; dat men door uitpompen deze kleurstof van haar O_2 kan losmaken zonder dat zij daarbij wordt omgezet of ongeschikt gemaakt voor O_2 opname; dat het veneuze bloed zijn kleur dankt aan de lichtabsorptieverhoudingen van het zuurstofvrije, het arterieele aan die van het zuurstofhoudende haemoglobine, door hem oxyhaemoglobine genoemd; en eindelijk, dat elke chemische verandering van het haemoglobine gepaard gaat met spectrale verschijnselen, zoo bijv. de omzetting door zuren in haematine en eiwit [3]), de inwerking van zwavelwaterstof [4]), de spontane omzetting in methaemoglobine [3]), de vorming van kooloxyd-, stikoxyd- en cyaanhaemoglobine. [3]) In de reeds geciteerde publicatie had STOKES een zeer nauwkeurige beschrijving gegeven van den invloed van reduceerende stoffen, en de spectra van gereduceerd haemoglobine en gereduceerd haematine — later door HOPPE-SEYLER haemochromogeen genoemd — aangegeven.

Met deze feiten was de basis van de qualitatieve bloedspectroscopie gelegd, en al spoedig begon men te trachten langs dezen weg de kleurstof ook quantitatief te bepalen. In de kliniek heeft de bloedspectroscopie echter tot voor enkele jaren weinig toepassing gevonden.

Voor klinisch gebruik volkomen voldoende is de handspectroscoop à vision directe, liefst voorzien van een golf-

---

[1]) VALENTIN, Der Gebrauch des Spectroscopes, Leipzig und Heidelberg 1863.

[2]) STOKES, Proceedings Royal Society 1864; Phil. Magazine 1864.

[3]) HOPPE-SEYLER, Medizinisch-chemische Untersuchungen, Tübingen 1866.

[4]) HOPPE-SEYLER, Centralblatt für die medizin. Wissenschaften 1863.

lengteschaal en een vergelijkingsprisma. Op de bij de spectroscopie noodzakelijke voorzorgen — nauwe spleet, donkere kamer, enz. — zal hier niet nader worden ingegaan. Bij inachtnemen van deze voorwaarden zijn de absorptiespectra van het haemoglobine en zijn derivaten volkomen karakteristiek. Bepaalde chemische reacties, die deze spectra op karakteristieke manier wijzigen dan wel haar onveranderd laten, al naar de bloedkleurstof waarmee men te doen heeft, stellen ons in staat deze laatste met zekerheid te herkennen.

Het zou mij veel te ver voeren, en ook geheel buiten het bestek van mijn onderwerp liggen, hier een uitvoerige beschrijving van die spectra en reacties te geven. Enkele punten mogen echter vermelding vinden, tot goed begrip van het spectroscopisch bloedonderzoek, zooals dit door mij werd verricht.

De haemoglobinederivaten die men tot dusver met zekerheid bij pathologische toestanden naast het onveranderde haemoglobine in het bloed heeft aangetroffen, zijn het *kooloxyd-*, het *met-*, het *sulfhaemoglobine*, en het *haematine*. Van deze geeft het kooloxydhaemoglobine twee absorptiebanden die iets verder naar het violet staan dan die van oxyhaemoglobine, en niet veranderen bij toevoeging van reductiemiddelen; dit spectrum kan men derhalve alleen herkennen in verdunde oplossing, als de banden duidelijk afzonderlijk zichtbaar zijn. Anders is het te dien opzichte met methaemoglobine en sulfhaemoglobine; beide geven een karakteristieken band in het rood. Wanneer bloed methaemoglobine of sulfhaemoglobine bevat naast een zeer groote overmaat oxyhaemoglobine — zooals in de kliniek wel steeds het geval is — is het dus van voordeel de oplossing voldoende geconcentreerd te maken; men heeft dan de meeste kans den abnormen band waar te nemen, terwijl het er niets toe doet dat het spectrum vanaf $\lambda = 590\ \mu\mu$ verder naar het violet geheel verduisterd wordt, omdat toch alleen de band in het rood karakteristiek is en deze alleen te zien is bij de aanwezigheid van een belangrijk percentage methaemoglobine (volgens Hayem $\pm$ 10 % van het geheel). Wanneer het er dus om gaat het bloed te onder-

zoeken op de aanwezigheid van methaemoglobine of sulfhaemoglobine, dan vangt men in eenige c.c. aq. dest. eenige druppels bloed op uit den vinger, gaat de geconcentreerde oplossing centrifugeeren en de heldere vloeistof spectroscopisch onderzoeken.

In de laatste jaren heeft echter het spectroscopisch bloedonderzoek eenige wijziging ondergaan, nadat SCHUMM heeft gewezen op het voorkomen van *haematine* in het bloedserum bij verschillende ziekteprocessen. Haematine geeft onder de physische en chemische voorwaarden van het bloedplasma een breede, zeer weinig intensieve, onscherp begrensde absorptie in het oranje, verder naar het geel dan die van methaemoglobine. Reeds in serum, dat weinig of geen andere, storende kleurstoffen bevat, is die band bij geringe concentratie moeilijk waar te nemen, zoodat men pas zekerheid krijgt als de toevoeging van een reductiemiddel het zeer karakteristieke en veel intensievere spectrum van het haemochromogeen te voorschijn roept. Een belangrijke hoeveelheid oxyhaemoglobine maakt echter de waarneming van haemochromogeen onmogelijk, zoodat men in dat geval aangewezen is op de directe waarneming van den band in het oranje. Deze laatste nu vertoont een nauwelijks merkbaar absorptiemaximum (dat volgens SCHUMM bij $\lambda = 613\ \mu\mu$ zou liggen) en loopt naar beide zijden wazig uit, sluit zich eigenlijk onmiddellijk aan bij de veel intensievere absorptie van het haemoglobine, die (bij groote concentratie van deze laatste kleurstof) zelfs tot $\lambda = 600\ \mu\mu$ reikt. Onder die omstandigheden is van een waarnemen van den haematine-band in het oranje geen sprake. Bij verdere verdunning reikt de absorptie van het oxyhaemoglobine wel is waar iets minder ver naar het rood (b.v. tot $\lambda = 590\ \mu\mu$), maar in dat geval wordt de lichtabsorptie van het haematine in evenredigheid zwakker, en thans ook daardoor onzichtbaar. Voor het diagnostiseeren van haematine in een oplossing komt het minder aan op de absolute hoeveelheid van die stof dan wel op de onderlinge verhouding van haematine en haemoglobine. Haematine is dus in het percentage waarin het pathologisch in het bloed voorkomt,

bij eenvoudige spectroscopie niet waar te nemen in een bloedoplossing, alleen in het serum, en slechts dan wanneer dit geen of hoogstens een zeer kleine hoeveelheid oxyhaemoglobine bevat. Serum en bloedlichaampjes moeten dus afzonderlijk worden onderzocht.

De *gang van het spectroscopisch bloedonderzoek* is de volgende. Men vangt ± 10 c.c. bloed op in een kolfje, dat eenige glazen kogeltjes bevat, waarmee men *voorzichtig* (ten einde haemolyse te voorkomen) defibrineert. Nadat de fibrine zich heeft afgescheiden, pipetteert men het serum af. De bloedlichaampjes maakt men lakkleurig met een ongeveer 4-voudig volume gedistilleerd water (geen ammonia of soda), en *centrifugeert*, waarna men de heldere haemoglobine-oplossing afgiet.

Het serum onderzoekt men in ± 4 c.m. dikke laag, eventueel een dikkere. Nadat men heeft nagegaan of er een band in het rood of het oranje is, voegt men ± $^1/_5$ volume verzadigd zwavelammonium toe; bij aanwezigheid van haematine ontstaat in enkele oogenblikken het haemochromogeen spectrum. Ook bij afwezigheid van een band in het oranje voege men zwavelammonium toe, want bij concentraties die een directe waarneming van den haematine-band niet toelaten, ziet men veelal nog zeer duidelijk dien van het haemochromogeen. Het serum moet helder zijn; troebelingen onderscheppen en verstrooien het licht, hetgeen de neiging doet ontstaan de spleet te verwijden, *wat onder geen voorwaarde geoorloofd is.* Men ontneme daarom liefst het bloed, als de patient eenige uren heeft gevast; tijdens de digestie is het serum vaak troebel door vet, dat men door centrifugeeren niet kan verwijderen.

De geconcentreerde haemoglobine-oplossing onderzoekt men in 1 c.m. dikke laag, daarna bij toenemende verdunning.

Bij mijn waarnemingen is voor de spectroscopie gedefibrineerd bloed gebruikt, omdat ik de bloedlichaampjes noodig had voor zuurstofbepalingen. Is dit niet het geval, dan kan men eenvoudig het bloed laten stollen, het serum afgieten, en den bloedkoek wrijven in een mortier met gedistilleerd water. Men heeft dan minder kans dat het serum haemolytisch wordt. Overigens is de aanwezigheid van *sporen* haemoglo-

bine niet storend; de intensieve band van het haemochromogeen laat zich goed waarnemen te midden van de diffuse absorptie van een weinig gereduceerd haemoglobine; verder wijst SCHUMM er op, dat men in dat geval bij toevoeging van $(NH_4)_2S$ reeds de sterkste band van het haemochromogeen ziet vóór dat die van het oxyhaemoglobine zijn verdwenen, zoodat men in deze phase de banden van oxyhaemoglobine en haemochromogeen naast elkaar ziet.

Met de spectroscopische methode zijn alleen aanzienlijke hoeveelheden der abnorme haemoglobinederivaten te herkennen. Volgens LÉPINE zou niet minder dan 25 % der aanwezige haemoglobine moeten zijn omgezet in methaemoglobine zal dit spectroscopisch zijn waar te nemen; ook de SAINT-MARTIN is van die meening [1]); HAYEM schat dit percentage op ongeveer 10 %. Voor de haematinereactie van het serum — die waarschijnlijk tamelijk gevoelig is, dank zij het intensieve spectrum van het reductieproduct — ontbreken hieromtrent gegevens, omdat we tot dusver geen betrouwbare maatstaf hebben voor de quantitatieve bepaling van het haematine in het serum.

---

[1]) Journal de physiol. et de path. générale, II, 1900, 740.

III.

Quantitatieve bepaling van het zuurstofbindend vermogen.

De methoden, hiervoor aangegeven, zijn deels physische, deels chemische. De eerste bestaan in het *uitpompen*. Voor klinisch gebruik komen deze methoden echter nauwelijks in aanmerking; zij vereischen zeer veel oefening, een dure apparatuur, en de analysen zijn omslachtig en tijdroovend. Voor de beschrijving zij hier dan ook verder verwezen naar de oorspronkelijke verhandelingen. [1])

De chemische methoden voor de bepaling van zuurstof in het bloed.

De eerste die het zuurstofgehalte langs chemischen weg bepaalde, was Claude Bernard. Het principe berust op het door hem [2]) en ongeveer gelijktijdig door Hoppe-Seyler [3]) ontdekte feit, dat koolmonoxyde met het haemoglobine een vaste verbinding aangaat, en daarbij de zuurstof quantitatief in vrijheid stelt. De *verdringingsmethode van* Bernard [4]) bestond nu hierin, dat hij het bloed 24 uur met CO in een gesloten ruimte in aanraking bracht, en daarna de hoeveelheid vrijgekomen O_2 in het overblijvende gasmengsel bepaalde. Dit beginsel is later ook door andere onderzoekers toegepast. Nawrocki [5]) en Dybkowsky [6]) volgden daarbij, behoudens enkele kleine technische wijzigingen, de even genoemde methode.

---

[1]) Een kritische bespreking van verschillende pompen geeft Bohr, in Tigerstedt's Handbuch der physiologischen Methodik, II, 1, 1911.

[2]) Bernard, Substances toxiques et médicamenteuses, pag. 179.

[3]) Hoppe-Seyler, Virchow's Archiv, Band XI, 1857, pag. 288.

[4]) Bernard, Liquides de l'organisme, 1, pag. 365.

[5]) Nawrocki, Breslau'sche Studien von Heidenhain, 1863; geciteerd volgens Hoppe-Seyler, Centralblatt f. d. med. Wiss., 1863.

[6]) Dybkowsky, Hoppe-Seyler's Med. Chem. Untersuchungen, Tübingen, 1866.

De SAINT-MARTIN [1]) stelde het met CO verzadigde bloed bloot aan het vacuum, voegde daarna wijnsteenzuur toe, en bepaalde het vrijgekomen CO door middel van absorptie door ammoniakale koperchloruur. Hij maakte derhalve gebruik van het door LOTHAR MEYER [2]) vastgestelde feit dat het haemoglobine quantitatief evenveel CO bindt als O_2. Vooral HÜFNER en zijn leerlingen hebben bij hun experimenten CO gebruikt, waarbij de gevolgde methode niet steeds dezelfde was. In zijn eerste onderzoekingen over het maximale zuurstofbindend vermogen [3]) vereenigde hij de CO-verdringing met evacuatie en daarop volgende gasanalyse. Eenige jaren later verliet hij deze methode op grond van de meening [4]) dat door het schudden van bloed met CO, gevolgd door uitpompen, niet alle O_2 zou worden verkregen; door het schudden zou steeds weer een deel der O_2 in een vastere verbinding worden overgevoerd, hetzij met de metallische verontreinigingen van het kwik, hetzij met licht oxydeerbare stoffen, afkomstig van de opgeloste bloedlichaampjes, hetzij met bestanddeelen van het kraanvet. Zijn leerling MARSHALL [5]) verdreef daarom eerst de O_2 door CO, daarna het CO door NO, en in het mengsel van kooloxyd en stikoxyd bepaalde hij door verbranding de hoeveelheid CO. In 1884 werden door BÜCHELER [6]) vergelijkende proeven genomen met de verdringingsmethode; in één reeks werd de O_2 verdrongen door CO, in de tweede daarna de CO door NO. Volgens HÜFNER zou uit de gegevens blijken dat de laatste methode beter is. (Al de genoemde proeven werden genomen met de absorptiometer door HÜFNER herhaaldelijk beschreven [7]).

[1]) SAINT-MARTIN, Journal de physiologie et de path. générale, I, 1899.

[2]) L. MEYER, De sanguino oxydo carbonico infecto. Dissertatio. 1858. Vratislaviae, geciteerd volgens HOPPE-SEYLER.

[3]) HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Band I, 1877/'78.

[4]) HÜFNER, Kolbe's Journal für praktische Chemie, Bd. 22, 1880.

[5]) MARSHALL, Dissertatie Tübingen 1882 en Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1882/1883, pag. 81.

[6]) BÜCHELER, Diss. Tübingen 1883 en HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 8, 1883/'84, pag. 358.

[7]) HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I 1877/'78 en Journal f. prakt. Chemie, Bd. 16, 1877.

Toen hem later bleek dat de verdringingsmethode zeer slechte resultaten gaf, verliet hij die geheel en ging hij over tot absorptiometrie na reductie van de bloedkleurstof met hydrazinhydraat [1]). In nog latere experimenten [2]) — nadat gebleken was dat CO quantitatief in vrijheid wordt gesteld door toevoeging van ferricyaankali — werd door middel van dit zout de CO-capaciteit bepaald. Butterfield [3]) volgde Hüfner's absorptiometrische methode, Plesch [4]) paste de verdringing volgens Bernard toe. Handig is het apparaat van Zuntz en Plesch [5]) waarin men het CO vrijmaakt door rood bloedloogzout en met de verbrandingsspiraal oxydeert tot koolzuur.

Een tweede chemische methode is de *titratie volgens* Schützenberger en Risler [6]). Nadat Schützenberger had gezien dat natriumhydrosulfiet zeer sterk reduceerend werkt, heeft hij in samenwerking met Gérardin [7]) hierop een methode gegrondvest ter bepaling van O_2 in waterige oplossing en die daarna toegepast bij de bepaling van het zuurstofgehalte van het bloed. Deze titratie werd o.a. aangewend door Quinquaud [8]) en Lambling [9]). Pro memorie mogen hier vermelding vinden de waarnemingen van Siegfried [10]) en Novi [11]); deze schrijvers titreerden met hydrosulfiet, waarbij zij als indicator gebruikten het verdwijnen der oxyhaemoglobinestrepen uit het spectrum. Ze verkregen aldus veel te lage waarden; na de titratie was met de pomp nog een belangrijke hoeveelheid O_2 te extraheeren.

Als derde chemische methode dienen we te bespreken die met *ferricyaankali*, waarmede in de laatste jaren zeer be-

---

[1]) Hüfner, Archiv für Anat. und Physiologie, 1894.
[2]) Hüfner, Arch. f. Anat. und Physiologie, 1903.
[3]) Butterfield, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 62, 1909.
[4]) Plesch, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. IV, 1906.
[5]) Zuntz en Plesch, Bioch. Zeitschr., Bd. 11, 1908.
[6]) Schützenberger en Risler, Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Tome LXXVI, 1873.
[7]) Schützenberger en Gérardin, Comptes rendus LXXV, 1872.
[8]) Quinquaud, Comptes rendus, LXXVI, 1873.
[9]) Lambling, Thèse de Nancy, 1882.
[10]) Siegfried, Archiv für Anat. u. Physiol., 1890.
[11]) Novi, Pflüger's Archiv, Bd. 56, 1894.

langrijke resultaten zijn verkregen. Daar zij ook bij de bewerking van dit proefschrift in toepassing is gebracht, zal ik bij haar langer moeten stilstaan.

De methode van het roode bloedloogzout.

Jaederholm had gevonden dat ferricyaankali het haemoglobine in waterige oplossing omzet in methaemoglobine, welke waarneming later werd bevestigd door von Mehring [1]), Haldane, [2]), von Zeynek [3]), Hüfner. [4]) Reeds eenige jaren na Jaederholm's ontdekking hadden Bertin Sans en Moitessier [5]) gezien dat het koolmonoxyde uit zijn verbinding met haemoglobine door ferricyaankali wordt in vrijheid gesteld. Later heeft Haldane, blijkbaar onbekend met het werk van deze laatste schrijvers, opnieuw de aandacht gevestigd op het feit, dat er zich bij toevoeging van ferricyaankali aan een niet te verdunde waterige oplossing van oxyhaemoglobine zuurstof ontwikkelt. Dit was hoogst merkwaardig, gezien het feit dat methaemoglobine en oxyhaemoglobine, blijkens de onderzoekingen van Hüfner en Külz [6]), bij het doorleiden van stikoxyde evenveel losgebonden O_2 afgeven. Verder bleek kooloxydhaemoglobine evenveel CO af te geven als oxyhaemoglobine O_2, en dat de hoeveelheden gas quantitatief overeenstemmen met die welke blijkens het onderzoek met de gaspomp los gebonden zijn. Andere gassen, zooals b.v. stikstof, komen niet vrij.

Zekerheid bestaat ook thans nog niet omtrent den waren aard der reactie. De verklaring die Haldane geeft en die niet onaannemelijk lijkt, is deze dat het ferricyaankali de losgebonden O_2 of CO vrijmaakt en het ontstane, gereduceerde haemoglobine oxydeert tot methaemoglobine. Na de reactie blijkt althans een deel van de ferricyanide gereduceerd tot

[1]) v. Mehring, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Band 8, 1883/'84.
[2]) Haldane, Journal of Physiology, Vol. XXII, 1898.
[3]) Von Zeynek, Archiv. f. Anat. u. Physiologie, 1899.
[4]) Hüfner, Archiv. f. Anat. u. Physiologie, 1899.
[5]) Bertin Sans en Moitessier, Comptes rendus de l'Academie des Sciences, Tome 113, 1891.
[6]) Hüfner en Külz, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1882/'83.

ferrocyanide (bij toevoeging van $Fe\,Cl_3$ ontstaat Berlijnsch blauw). Volgens HALDANE zou men zich de reactie bij gereduceerd haemoglobine aldus kunnen voorstellen:

$$Hb + 4\,Na_3\,Cy_6\,Fe + 4\,Na\,HCO_3 = Hb\begin{matrix}=O\\-O\end{matrix} + 4\,Na_4\,Cy_6\,Fe +$$

(methaemoglobine)

$$+ 4\,CO_2 + 2\,H_2O$$

en bij oxyhaemoglobine [1]):

$$Hb\begin{matrix}-O\\|\\-O\end{matrix} + 4\,Na_3\,Cy_5\,Fe + 4\,Na\,H\,CO_3 = O_2 +$$

$$+ Hb\begin{matrix}=O\\-O\end{matrix} + 4\,Na_4\,Cy_6\,Fe + 4\,CO_2 + 2\,H_2\,O$$

Hoe nu overigens ook de verklaring van de reactie moge zijn, *vast staat, dat zoowel het CO-haemoglobine als het oxyhaemoglobine hun losgebonden CO resp. O_2 onder den invloed van ferricyaankali afstaan, en dat de hoeveelheden der vrijgekomen gassen quantitatief overeenstemmen met die welke men met de pomp kan extraheeren.*

Het was nu van groot gewicht, dat het HALDANE gelukte, op deze reactie een methode te bouwen, die het mogelijk maakte langs eenvoudigen weg in korten tijd het O_2 gehalte van het bloed nauwkeurig te bepalen. Hij gebruikte daarvoor een iets gewijzigd apparaat van DUPRÉ voor de ureumbepaling (fig. 1).

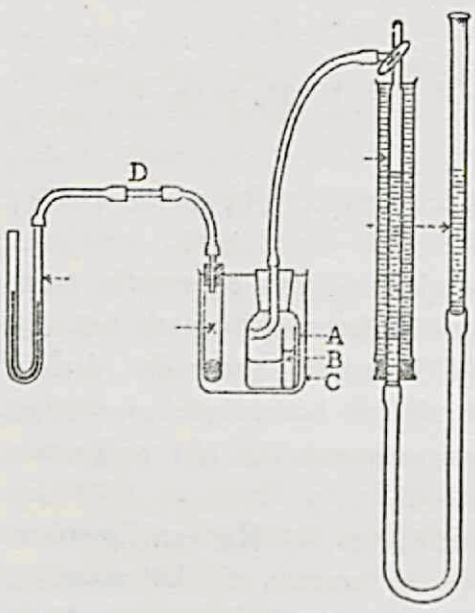
Deze oorspronkelijke *methode van Haldane* [2]) werd als volgt uitgevoerd. Uit een gecalibreerde pipet laat men 20 c.c. van het met O_2 verzadigde bloed loopen in de flesch A, die een inhoud heeft van ± 120 c.c., waarbij men de laatste druppels niet uitblaast, maar uitdrijft door de met den vinger gesloten pipet met de hand te verwarmen, teneinde het binnentreden van uitademingslucht in de flesch te voorkomen. Men voegt daarna toe 30 c.c. verdunde ammonia (1 dl. ammonia caust.

[1]) Omtrent de redenen, die HALDANE aanvoert voor deze schrijfwijze der beide kleurstoffen, zie Journ. of Phys., vol. XXII.

[2]) HALDANE, Journal of Physiology, Vol. XXV, 1900.

s.g. 0.88 op 500 deelen gedist. water), en mengt dit met het bloed, om dit lakkleurig te maken. De oplossing moet thans volkomen doorschijnend zijn ten teeken van volledige haemolyse, daar *het reagens alleen werkt op het in oplossing verkeerende haemoglobine, niet op de intacte roode bloedlichaampjes.* De ammonia voorkomt tevens het ontwijken van koolzuur.

FIG. 1.



Methode van HALDANE.

In *B* brengt men thans 4 c.c. van een verzadigde oplossing van rood bloedloogzout en plaatst de gesloten flesch in een waterbad *C*, waarvan de temperatuur zooveel mogelijk overeenkomt met die van de kamer en van de vloeistoffen in de flesch. Bij open driewegkraan wordt thans de waterspiegel in de buret tot vlak bij de top gebracht. De kraan wordt naar buiten gesloten en de stand van de meniscus nauwkeurig afgelezen, nadat deze volkomen gelijk is gemaakt met die van de hevelbuis.

Thans wordt de manometer van de contrôlebuis voor temperatuur en druk nauwkeurig ingesteld door het verschuiven van de gummislang over de glazen buis *D*. De contrôlebuis kan bestaan in een reageerbuisje met een weinig kwik om het te doen zinken. Zoodra — na eenige minuten — de stand der menisci gelijk blijft, wordt de flesch geschud, om de inhoud van *B* in de bloedoplossing te storten. Hierbij zorgt men dat *B* herhaaldelijk wordt geledigd daar anders een deel van de daarin opgeloste O_2 zou kunnen achterblijven. Heeft de gasontwikkeling geheel opgehouden, dan wordt de flesch weer in het water geplaatst. Geeft de manometer verandering aan in de temperatuur van het water, dan wordt koud of warm water in het bad bijgegoten tot de

oorspronkelijke temperatuur weer is ingetreden. Thans wordt afgelezen, en dit wordt zoo lang herhaald, tot het resultaat konstant blijft. De barometer en de temperatuur van de watermantel worden daarop afgelezen, en de hoeveelheid van het ontwikkelde gas berekend op zijn droog volume bij 0° en 760 m.m. Bij deze berekening moet men een correctie aanbrengen: de pipet levert niet precies 20 c.c. Verder is een kleine correctie noodig in verband met het feit dat de lucht in de flesch na de proef iets meer O_2 bevat dan te voren. Bij de genoemde verhoudingen van fleschinhoud en vloeistofvolumina bedraagt deze correctie bij 15° ongeveer 0,3 % van de totale waarde.

Aanvankelijk gebruikte HALDANE inplaats van ammonia een soda-oplossing. Het bleek echter dat soda soms de stromata doet samenklonteren, waardoor een deel van de bloedkleurstof buiten de reactie blijft. Ammonia (0.4 %) heeft deze eigenschap niet. Tevens was hem gebleken, dat voor de vrees, dat de ammonia een merkbare dampspanning zou hebben of CO_2 zou laten ontwijken, geen reden is bij deze concentratie.

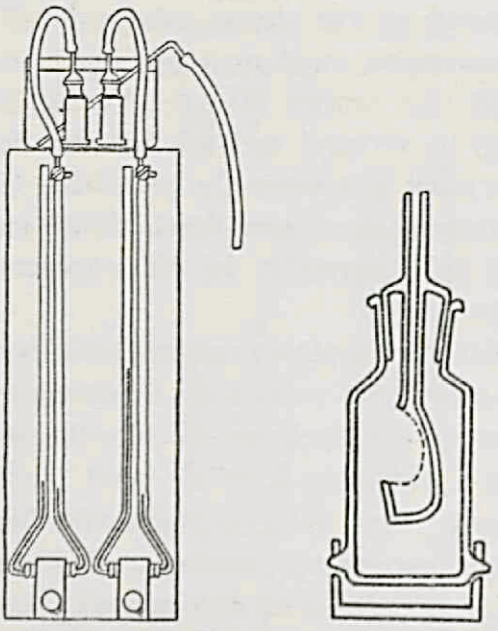
In dezen vorm wordt de methode van HALDANE niet meer gebruikt. Het blijkt namelijk praktisch zeer moeilijk een zoo groote hoeveelheid vloeistof op konstante temperatuur te houden, gegeven de ondervinding dat de O_2 alleen volkomen in vrijheid wordt gesteld bij langdurig en intensief schudden. Deze temperatuurfout wordt belangrijk kleiner bij gebruik van minder vloeistof. De hoeveelheden aangewend bloed en vrijkomend gas zijn zóóveel malen grooter dan het minimum dat nauwkeurig te meten is, dat men hierin geen beletsel heeft te zien voor het gebruik van kleinere hoeveelheden. Bovendien vereischen onderzoekingen bij kleinere dieren, afzonderlijke organen of die in de kliniek een methode die nauwkeurige resultaten geeft met weinig bloed; het wordt daardoor tevens mogelijk een grooter aantal waarnemingen te verrichten.

Aan deze eischen is tegemoet gekomen door de methode, in 1902 beschreven door BARCROFT en HALDANE [1]). Het door

[1]) BARCROFT and HALDANE, Journal of Physiology, Vol. XXVIII, 1902.

hen aangegeven apparaat bestaat uit een fleschje van 25—30 c.c. inhoud (fig. 2), waarvan de glazen stop doorboord is door een buis. Deze loopt van binnen uit in een bakje, en is naar buiten door een gummibuis verbonden met een manometer. De niveaux in dezen manometer kunnen worden geregeld door een schroef, die de gummiverbinding tusschen de beide buizen comprimeert. De buizen zijn van een nauwkeurige millimeterschaalverdeeling voorzien, en tot zekere hoogte met water gevuld. [1]) Een der buizen is voorzien van een driewegkraan, die het mogelijk maakt het fleschje òf met den manometer alleen, òf met de buitenlucht òf met beide in verbinding te stellen. De bepaling geschiedt nu als volgt. Men brengt in het fleschje 1.5 c.c. verdunde ammonia (0.4 %, d. w. z. 4 c.c. NH_3 s.g. 0.88 op 1 L. aq. dest.) Ingeval men te doen heeft met onverzadigd bloed, pipetteert men hiervan 1 c.c. *onder* de ammonia, teneinde opname van O_2 uit de atmosfeer zooveel mogelijk te vermijden. Geldt het verzadigd bloed, dan kan men het direct met de ammonia mengen. Daarna brengt men 0.3 c.c. verzadigde ferricyaankalioplossing in het bakje, daarbij zorgdragende dat geen spoor er van in de bloedoplossing komt. De flesch wordt dan met de *goed ingevette* stop gesloten en in den als waterbad dienenden bak geplaatst waarin men het water in beweging brengt door er lucht door

FIG. 2.



Methode van BARCROFT-HALDANE.

[1]) BRODIE gebruikt in plaats van water een opl. van galzure zouten van een s.g. van 1.034; dan komt 10.000 m.m. hiervan overeen met 760 m.m. kwik. Deze oplossing heeft ook het voordeel dat het sporen vet in de buis oplost.

te blazen. Als contrôle voor de temperatuurswisseling tijdens de proef wordt een tweede apparaat in hetzelfde bakje geplaatst. Men sluit de kranen en wacht zoo lang tot de temperatuur van beide fleschjes dezelfde is. Intusschen schroeft men eenige malen de vloeistofspiegels op en neer om het glas te bevochtigen. Bij open kranen worden nu de vloeistofspiegels der beide manometers op het nulpunt gebracht. Na sluiting der kranen wordt de flesch uit den bak genomen, en bloed en ammonia gemengd, *zonder dat er ferricyaankali bijkomt.* Is deze oplossing volkomen doorschijnend geworden — maar niet eerder! — dan wordt de flesch zóó gehouden dat het reagens bij de vloeistof komt, en geschud tot alle O_2 vrij is (dit punt is bereikt als het drukverschil niet meer stijgt). Daarna wordt zij weer in het water geplaatst (dat men weer in beweging brengt) en gewacht tot de vloeistofspiegels konstant blijven, ten bewijze dat de temperatuur niet meer verandert. De vloeistofspiegel in de gesloten buis wordt weer tot het nulpunt gebracht en het drukverschil afgelezen. Hieruit en uit het bekende volume van het gas kan men de ontwikkelde O_2 berekenen, onder inachtname van de temperatuur van het water en den barometerstand, en eenige correcties, waarop zoo dadelijk zal worden gewezen. Van het ontwikkelde gasvolume moet natuurlijk niet — zooals bij het oorspronkelijke apparaat van HALDANE — de waterdampspanning worden in rekening gebracht, daar het hier niet geldt een volumetrische bepaling, maar een pressimetrische bij gelijkblijvend volume.

De grootte van dit volume wordt als volgt bepaald. Door weging van het fleschje, eerst leeg, daarna gevuld met water, kent men daarvan den inhoud. Die van de daarmede verbonden buis leert men kennen door het niveau tot nul te brengen en met de schroef den druk tot een zekere mate te verhoogen, eerst bij communicatie met het fleschje, daarna met een glazen stop in het eind van de gummibuis inplaats van het fleschje. Men kent dan eenerzijds het volume van het fleschje alleen, anderzijds de verhouding van dat van de buis alleen tot dat van het geheel, zoodat zich thans gemak-

kelijk laat berekenen de inhoud van het fleschje plus de buis tot aan het nulpunt.

In zijn oorspronkelijken vorm wordt deze eenvoudige en voortreffelijke methode weinig meer gebruikt. BRODIE en BARCOFT en hun medewerkers hebben enkele wijzigingen aangebracht, maar het beginsel van het meten van druk — in plaats van volumeverschillen is behouden gebleven. Deze wijzigingen alsmede een uitvoerige kritische bespreking der methode geeft BARCROFT [1]).

De *correcties* die men moet aanbrengen zijn de volgende:

1°. die van de temperatuurswisselingen, aangegeven door de contrôle;

2°. men moet bij de eindaflezing 3 m.m. optellen voor de absorptie van het CO_2 door de ammoniak, die in de proef wel, in de contrôle niet plaats grijpt. In verband hiermee geven BARCROFT en HALDANE dan ook den raad, de proeven steeds te verrichten in een goed geventileerde kamer, en te zorgen dat men niet in de fleschjes ademt; dit zou immers die correctie foutief maken. Bij de experimenten die ik aanvankelijk met dit apparaat nam, heb ik deze fout vermeden door in het contrôlefleschje eveneens 1.5 c.c. NH_3 en 0.3 c.c. reagens, en in plaats van bloed NaCl 0.85 % te brengen, en deze blanco proef gelijktijdig en op dezelfde wijze te verrichten als het eigenlijke experiment. In dit geval vervalt de geheele correctie, daar de CO_2 absorptie ook in de contrôle plaats grijpt en dus onder de correctie sub 1° is begrepen. Tevens bereikt men daarmee dat eventueele drukverandering, ontstaan door het samenkomen van rood bloedloogzout en ammoniakale bloedoplossing, (b.v. contractie van de vloeistof, of verdunning van de ammonia) in beide apparaten dezelfde is;

3°. men dient nauwkeurig te bepalen hoeveel bloed uit de pipet loopt.

Behalve op deze correcties zij nog op eenige andere *bronnen van fouten* gewezen. Wanneer men bij een O_2 bepaling een buiten verwachting lage waarde krijgt, *dan denke men in de*

---

[1]) BARCROFT, Ergebnisse der Physiologie, Bd. VII, 1908.

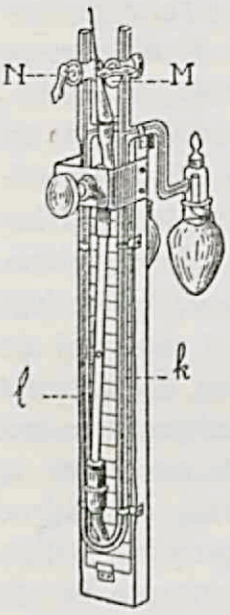
eerste plaats aan de mogelijkheid van onvolkomen haemolyse. Bijna altijd gelukt het met de aangegeven ammonia het bloed lakkleurig te maken; in sommige gevallen — naar mij bleek vooral bij mechanische icterus — wordt aldus het doel niet bereikt. Dan voegt men òf meer ammonia toe (en brengt deze volumeverandering natuurlijk in rekening) òf een druppel saponine.

Dat men bij het brengen van de ferricyaankali in het bakje moet zorgen dat er geen spoor in de oplossing komt, spreekt wel van zelf. Verder ontstaan fouten wanneer men niet voldoende schudt tot alle gas is ontwikkeld; bij het vrijkomen van gassen in vloeistoffen hebben de eerste de neiging om in den toestand van overzadiging in de oplossing te blijven; het sterkst is dit het geval met zeer oplosbare gassen als CO_2, in mindere mate echter ook met O_2. Men kan zich hiervan als volgt overtuigen: wanneer men bij de proef het roode bloedloogzout in de oplossing brengt zonder schudden, dan ziet men deze bruin worden door methaemoglobin-vorming; voorloopig blijven echter de niveaux geheel of zoo goed als geheel onveranderd; gaat men echter schudden, dan ontwijkt de O_2 uit de oplossing, en ziet men den manometer snel stijgen. Aflezingen mogen pas geschieden als men zeker is dat de temperatuur konstant is geworden. Vóór de analyse overtuige men zich dat er in het buizensysteem geen luchtbellen aanwezig zijn en tijdens de manipulaties zorge men dat zij er niet in komen (dit kan b.v. gebeuren als in de gesloten buis door de drukverhooging de vloeistofspiegel zeer sterk daalt, en men het apparaat scheef houdt); ze maken elke analyse volkomen waardeloos.

De boorwijdte der buizen (2—2.5 m.m.) behoeft niet in beide buizen precies dezelfde te zijn; het verschil in stand door de capillaire werking kan in dat geval in rekening worden gebracht. Wel is het echter noodzakelijk — en hiervan kan men zich vergewissen door een kwikzuil — dat iedere buis op zich zelf overal even wijd is, daar anders de capillaire werking den manometerstand beinvloedt op een wijze die men niet kan contrôleeren.

Vóór alles moeten de apparaten *volkomen zuiver* zijn. BARCROFT bereikt dit door ze in een bak met bichromaat en zwavelzuur te verwarmen en daarna met aq. dest. door te zuigen. Men bereikt zijn doel ook door de buizen 24 uur in geconc. H_2SO_4 te plaatsen en ze daarna met aq. dest. door te zuigen. Alcohol en aether dient men te vermijden, omdat aether bijna steeds sporen vet bevat. Het moeilijkst te reinigen zijn de gummislangetjes, die bij het differentiaal-apparaat daarom zijn uitgeschakeld.

FIG. 3.



Differentieele methode.

De techniek der bloedgasanalysen deed een belangrijke schrede voorwaarts met de invoering van de *differentieele methode van* BARCROFT. [1]) In zijn oorspronkelijken vorm, wordt dit apparaat niet meer gebruikt; voor de bewerking van dit proefschrift is aangewend de toestel, (fig. 3), aangegeven door BARCROFT en ROBERTS [2]) (waaraan later door BARCROFT een nog iets eenvoudiger vorm is gegeven [3]). Het bestaat uit een manometer, waarvan ieder der buizen in verbinding staat door een kraan met de buitenlucht en met een eivormig, dunwandig fleschje van 25—30 c.c. inhoud. Aan zijn basis heeft de manometer een verwijding waarin door een gummistop een verdeelde pipet is aangebracht. Boven aan die pipet bevindt zich een gummibuis die door een schroef kan worden gecomprimeerd, en naar boven is afgesloten door een glazen buisje. De fleschjes, wier inhoud in geen geval meer dan 0.1 c.c. onderling mag verschillen, zijn voorzien van een holle stop, waarin een buisje dat ferricyaankali — of voor de CO_2-bepaling wijnsteenzuur — kan bevatten. Naar den kant van de stop is het open; maar de inhoud kan alleen in het fleschje

[1]) BARCROFT, Journal of Physiology, XXXVII, 1908.

[2]) BARCROFT en ROBERTS, Journal of Physiology, XXXIX, 1910.

[3]) BARCROFT, Respiratory function of the blood, Cambridge, 1914, pag. 291.

vloeien als de opening uitkomt in een kleine uitbochting aan de hals.

Het principe van de differentieele bepaling is dit, dat men aan den eenen kant arterieel, aan den anderen veneus bloed inbrengt, na gelijkstelling der niveaux (bij open kranen) en het intreden van temperatuurevenwicht schudt (bij gesloten kranen) tot beiderzijds het bloed verzadigd is met O_2, en uit den resulteerenden manometerstand, bij bekend volume, temperatuur en barometerstand berekent het verschil in O_2-absorptie. Voor O_2 is het in dit geval dus een absorptiometrische methode, waaraan b.v. niet de fouten kleven, veroorzaakt door onvoldoende lakkleurigheid of het morsen van ferricyaankali in de oplossing, daar voor de absorptie het eerste niet noodig is, en het laatste niet wordt gebruikt. Bovendien is een voordeel dat men meet het verschil tusschen een zeer kleine waarde (de absorptie door het arterieele bloed) en een veel grootere (die van het veneuze). Een contrôle is — bij volkomen gelijk volume beiderzijds — in het geheel niet noodig, daar de eene helft automatisch de niveauveranderingen tengevolge van de temperatuurswisselingen tijdens de proef corrigeert. Al blijft het wenschelijk, dat de temperatuur tijdens de proef niet àl te veel verandert, konstant behoeft zij derhalve niet te zijn, mits zij gedurende de enkele oogenblikken, noodig voor het aflezen, gelijk blijft.

Maar de methode kan ons bovendien veel meer leeren dan het verschil in O_2-gehalte van arterieel en veneus bloed. Immers, na afloop van de differentieele bepaling kan men de absolute hoeveelheid, aan één van beide kanten geabsorbeerd, leeren kennen, door die zijde tot het oorspronkelijke volume terug te brengen (dus door het niveau op het nulpunt te brengen door de schroef), terwijl de kraan aan den tegenovergestelden kant open is. [1]) Het waargenomen drukverschil, het bekende

[1]) Bij deze proef moet tijdens de aflezing de temperatuur natuurlijk precies dezelfde zijn als op het oogenblik van sluiting der kranen. Dit bereikt men door in het water een manometer als contrôle te hangen en water van verschillende temp. in den bak bij te gieten zóó dat deze contrôle op het oorspronkelijk nulpunt is teruggekeerd.

volume, de temperatuur en de barometerstand geven dan de gezochte hoeveelheid. Men doet het best, de absorptie van het verneuze bloed te meten, daar die het grootst is. Eindelijk kan men dan, in dezelfde bloedporties en in hetzelfde apparaat, het maximale zuurstofbindend vermogen bepalen door ferricyaankali.

De differentieele methode stelt ons aldus in staat, in één arterieele en één verneuze bloedportie, ieder groot 1 c.c., in één apparaat achtereenvolgens te bepalen:

1°. het verschil in absorbeerend vermogen van arterieel en veneus bloed.

2°. de absolute hoeveelheid, door één van beide geabsorbeerd, waaruit, de waarden sub. 1° bekend zijnde, ook de absorptie van de andere volgt. Men kent hieruit nog niet het verschil in *verzadigingsgraad*, omdat het watergehalte — en dus ook het haemoglobingehalte — van arterieel en veneus bloed lang niet altijd gelijk is (men denke b.v. aan de actief secerneerende speekselklier!) Deze verzadingsgraad leert men nu tevens kennen, door het vaststellen van:

3°. het maximale zuurstofbindend vermogen, van 1 c.c. bloed, eerst van den eenen kant, daarna van den anderen.

We leeren op deze wijze dus achtereenvolgens kennen: het *absorbeerend vermogen van arterieel en veneus bloed;* hun *verzadigingsgraad;* hun *maximale zuurstofcapaciteit.*

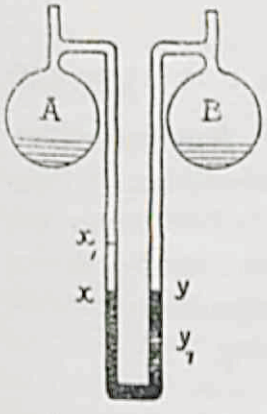
Als manometervloeistof gebruikt men gewoonlijk *kruidnagelolie.* Men zij er echter op bedacht — en hierop wezen ook Münzer en Neumann — dat de *meening van* Barcroft, *volgens welke 10.000 m.m. van deze vloeistof zouden overeenkomen met 760 m.m. kwik, onjuist is.* Kruidnagelolie — een mengsel van verschillende vetten — heeft een zeer verschillend specifiek gewicht. De door mij gebruikte olie had een s. g. van 1.053, derhalve kwamen 9816 m.m. overeen met 760 m.m. kwik, hetgeen met de door Barcroft opgegeven waarde ± 2% verschilt. Van de gebruikte olie dient men dus te voren het soortelijk gewicht te kennen.

Omtrent de *theorie der methode* en *de berekening van een*

differentieele bepaling geeft BARCROFT de volgende uiteenzetting.[1])

Gelijke hoeveelheden arterieel en veneus bloed worden in de twee fleschjes gebracht; hebben deze de temperatuur van het waterbad aangenomen, of heeft de temperatuur althans opgehouden ongelijk te veranderen, blijkens den stilstand van de manometervloeistof, dan worden de niveaux tot het nulpunt gebracht en het apparaat geschud tot het bloed beiderzijds volkomen is verzadigd met O_2. De hoeveelheid O_2. opgenomen uit de lucht, belet de volkomen verzadiging niet. Nadat de flesschen weer een zekeren tijd in het water gestaan hebben, wordt het niveauverschil afgelezen. Het verband tusschen de niveauverandering en het verschil in gasabsorptie of -ontwikkeling wordt nu aangegeven door de volgende berekening:

FIG. 4.



Stel dat de temperatuur voortdurend konstant blijft; zij V het oorspronkelijk volume van A of B (fig. 4), de barometerstand P in millimeters olie. Nemen we aan, dat bij het experiment de gasabsorptie in A is $x\,V$, zoodat na afloop het gasvolume in A, als het teruggebracht werd tot den oorspronkelijken druk P, zou zijn $V(1-x)$. Maar de druk waaraan het is blootgesteld na het experiment is $P-p$, waarbij $2p = x_1\,y_1$. Volgens de wet van BOYLE is dus na de proef het volume van A:

$$\frac{V(1-x)P}{P-p} \quad (1).$$

Eveneens zij verondersteld dat het gas in B na de proef (gereduceerd tot den druk P) is $V(1-y)$. Dan is in B het volume

$$\frac{V(1-y)P}{P+p} \quad (2)$$

Het verschil tusschen (2) en (1) kan niets anders zijn dan

[1]) BARCROFT, Journal of Physiology, XXXVII, 1908, pag. 15.

het volume in de U-buis tusschen x_1 en y_1. Is de doorsnee hiervan d m.m^2, dan hebben we de vergelijking

$$\frac{V(1-y)p}{P+p} - \frac{V(1-x)p}{P-p} = 2\,d\,p.$$

Door beide leden der vergelijking te vermenigvuldigen met $(P^2 - p^2)$ en te deelen door P^2, krijgen we:

$$V\left(x - y - \frac{2p}{P} + \frac{px}{P} + \frac{py}{P}\right) = 2\,d\,p\left(1 - \frac{p^2}{P^2}\right)$$

Daar x en y en $\frac{p}{P}$ klein zijn, zijn $\frac{px}{P}$, $\frac{py}{P}$ en $\frac{p^2}{P}$ te verwaarloozen:

$$V(x-y) = 2\,V\frac{p}{P} + 2\,d\,p.$$

De te berekenen hoeveelheid is het verschil in de twee volumina $V(x-y)$ bij een druk P, dus:

Absorptieverschil $Q = p\left(\frac{V}{P} + d\right)$, waarin p is het waargenomen drukverschil, V het volume in m.m^3, P de barometerstand uitgedrukt in m.m. olie, en d de doorsnede van de buis.

Deze *formule van* Barcroft is in de laatste jaren van verschillende zijden aan kritiek onderworpen, waarop ik nog nader terug kom. Ten einde echter herhalingen te vermijden, moge hier eerst worden gewezen op de ijking.

De ijking van het apparaat.

Uit de formule is te zien dat voor de berekening noodig is de kennis van d en V. De wijze, waarop Barcroft aanvankelijk deze grootheden bepaalde [1]), stiet op moeilijkheden toen later de toestel uit één stuk bestond. Verschillende andere methoden zijn daarna voor de ijking aangegeven, die hier een bespreking mogen vinden.

De physische calibreering volgens Barcroft en Higgins [2]). *Het meten van d.* Als middelste buis neemt men een stan-

---

[1]) Barcroft, Journal of Physiology, XXXVII, 1908.

[2]) Barcroft en Higgins, Journal of Physiology, XLII, 1911.

daard pipet van 1 c.c., verdeeld tot 0.01 c.c. Drijft men nu bij open kranen door middel van de schroef 100 m.m³. olie uit de pipet, dan gaat deze gelijkelijk in beide buizen, in ieder derhalve 50 m.m³., wanneer ze althans even wijd zijn (hetgeen blijkt uit gelijke stand der menisci). Men leest nu af hoeveel m.m. de olie stijgt in de manometerbuizen (h). Dan is $h \times d = 50$. *Deze bepaling van d moet met de uiterste zorg geschieden.* Voorbeeld bij een der apparaten:

Bij ijking van de gebruikte standaardpipet (weging van de uitloopende olie) bleek een schaalverdeeling van 0.40 c.c. overeen te komen met een hoeveelheid uitgedreven olie van *0.383* c.c. Bij het uitdrijven van deze hoeveelheid kreeg ik als waarden voor *h* achtereenvolgens 139, 140, 140, 140.5, 140, gemiddeld 140 m.m. Hieruit volgde

$$d = \frac{383}{2 \times 140} = 1.368 \text{ m.m}^2.$$

Bij twee andere toestellen bedroeg d respectievelijk **1.408** en **0.820**.

Bepaling van V. Is *d* bekend, dan is *V* te vinden door toepassing van de wet van Boyle. Nemen we als voorbeeld weer het eerste apparaat (fig. 3).

Laat bij open kranen de olie beiderzijds staan ter hoogte van 120 m.m. van de schaal. Sluit men nu M (terwijl N open blijft), en draait de schroef totdat het niveau in *k* stijgt tot b.v. 160 m.m., dan is het totale volume van flesch en buis rechts afgenomen met $40 \times d = 40 \times 1.368$ m.m³.; de meniscus in *l* zal niet op 160 m.m. staan, maar hooger. Daar echter de flesch een inhoud heeft van ± 30 c.c., zal het niveauverschil gering, en dus het resultaat onnauwkeurig zijn. Dit euvel is belangrijk te verkleinen door de flesch bijna geheel te vullen met een nauwkeurig bekende hoeveelheid water (men moet hierbij zorg dragen, dat in het buisje dat zich in den hals bevindt, geen water komt, omdat dit dan een hoeveelheid lucht kan afsluiten van de overige ruimte, en het aldus onttrekken aan de drukschommelingen die men teweeg brengt.) De overgebleven — veel kleinere — ruimte bepaalt men dan door de wet van Boyle.

De berekening moge blijken uit het volgende voorbeeld. Ingebrachte vloeistof 22.0 c.c. V_1 = volume der overgebleven ruimte. V = totaal volume in m.m^3. Barometerstand = = 9841 m.m. olie. Rechts wordt de kraan gesloten (na het intreden van temperatuur evenwicht en gelijken stand der menisci), links geopend.

Rechts wordt de meniscus van 120 op 140 m.m. gebracht, links stijgt de olie daardoor van 120 op 173.5 m.m.

Dus is rechts de volume-afname a = 20 × d m.m^3. de druktoename = 33.5 m.m.

Volgens de *wet van* Boyle:

$$\frac{V_1}{V_1 - a} = \frac{P + p}{P}$$

$$V_1 P = (P + p)(V_1 - a)$$

$$V_1 P = V_1 P - P \times a + V_1 p - a \times p$$

$$V_1 p = a(P + p)$$

$$V_1 = \frac{a(P + p)}{p}.$$

$$V_1 = \frac{20 \times d \times (9841 + 33.5)}{33.5} = \frac{20 \times 1.367 \times 9874.5}{33.5}$$

$$\log V_1 = 3.90639 \qquad V_1 = 8.06 \text{ c.c.}$$

$$V = 8.06 + 22.0 = \mathbf{30.06} \text{ c.c.}$$

Bij 3 volgende aflezingen werden voor V_1 waarden verkregen van resp. 8.02, 8.02 en 8.06; gemiddeld bedroeg V dus *30.04* c.c.

Hierna werden nog 2 reeksen, ieder van 4 waarnemingen, gedaan bij andere waarden voor V_1 (in het fleschje bevond zich achtereenvolgens 22.0, 24.0, en 25.0 c.c. vloeistof). De waarde voor V bedroeg 30.04, 29.98 en 30.03 c.c., gemiddeld dus *30.02 c.c.* of rond **30.0** c.c.

Op overeenkomstige wijze werd daarna het volume van de andere helft van het apparaat gemeten. In dit geval bedroeg aan de andere zijde V 29.39 c.c. Het volumeverschil van 0.63 c.c. werd opgeheven door in het grootste fleschje

glazen kogeltjes te brengen van nauwkeurig bekend specifiek gewicht.

Uit de goede overeenstemming tusschen de parallelbepalingen voor V mag men dus besluiten dat het op deze wijze gelukt behoorlijk konstante aflezingen te verkrijgen. [1]) Hieruit volgt echter nog niet dat de voor V berekende waarde de juiste is. De fouten die men op deze wijze maakt zijn drieërlei:

1°. daar men de olie-uitloop uit de standaardpipet niet met groote nauwkeurigheid kan bepalen, kunnen aan de uitkomsten voor d groote fouten kleven. Dit zal zich in het eindresultaat in zulk een geval duidelijk doen gevoelen, want:

$$Q = p\left(\frac{V}{P} + d\right)$$

Daar in het straks genoemde apparaat d ongeveer 30 % bedraagt van den tusschen haakjes geplaatsten factor, zal een fout van 5 % in de waarde van d reeds hierdoor in het eindresultaat een afwijking geven van $1^1/_2$ %. Het gevolg is echter nog bedenkelijker, en wel om de volgende reden:

2°. V wordt bepaald door middel van d. Deze grootheid verschijnt dus tweemaal in de vergelijking. Barcroft heeft getracht, deze moeilijkheid te ontgaan, door uit twee bepalingen de waarde van d te elimineeren. Tevens wijst hij er echter op, dat op deze wijze andere, eveneens groote, fouten binnensluipen, zoodat deze eliminatiemethode geen aanbeveling verdient.

3°. De waargenomen drukverandering (waaruit V wordt berekend) wordt teweeggebracht door een verkleining van het volume. Deze volume-afname is zeer gering ten opzichte van de totale luchtruimte, die overgebleven is na het inbrengen van water. Onder deze verhoudingen geeft de wet van Boyle minder betrouwbare resultaten.

Het blijft dus wenschelijk de physische konstanten V en d langs anderen weg te zoeken, onafhankelijk van elkaar. Bij

---

[1]) Men kan die aflezingen controleeren met de grafische methode, aangegeven door Mathison, (zie bij Barcroft en Higgins, Journ. of Phys. XLII.)

de bespreking van de methode van Münzer en Neumann zal ik daarop nog met een enkel woord terugkomen.

De chemische ijking volgens Barcroft en Burn.[1])

In 1910 hebben Barcroft en Roberts[2]) getracht langs chemischen weg den toestel te ijken, door het waarnemen van de drukverandering, veroorzaakt door het vrijkomen van een bekende hoeveelheid gas in het apparaat.

De meest geschikte reactie bleek te bestaan in de werking van een zure oplossing van $KMnO_4$ op H_2O_2.

Zij bepaalden het verband tusschen de hoeveelheid ontwikkeld gas (x) en het waargenomen drukverschil (p), waarbij $x = k \times p$, als k is de «konstante van het apparaat». Blijkbaar is $k = \frac{V}{P} + d$. Is x bekend (door titratie), dan volgt k uit p.

Een nadeel is de vrij snelle «spontane» ontleding van H_2O_2, die het noodig maakt, onmiddellijk vóór de ijking de oplossing te titreeren met $\frac{n}{10}$ K Mn O_4:

$$2\,K\,Mn\,O_4 + 3\,H_2\,SO_4 + 5\,H_2\,O_2 = K_2\,SO_4 + 2\,Mn\,SO_4 + 8\,H_2\,O + 5\,O_2.$$

Noodig hebben we dus een oplossing van K Mn O_4 van bekende sterkte. Daar ook deze oplossing langzamerhand terugloopt dient ook hiervan de titer onmiddellijk te voren gesteld. Barcroft doet dit door middel van ferro-ammoniumsulfaat; in mijn geval werd door Dr. Muller, die de titraties verrichtte, gebruik gemaakt van *oxaalzuur*:

$$5\,(COOH)_2 + 2\,K\,Mn\,O_4 + 3\,H_2\,SO_4 = 10\,CO_2 + K_2\,SO_4 + 2\,Mn\,SO_4 + 8\,H_2O.$$

Deze titerstelling van het permanganaat is absoluut noodzakelijk; men kan niet volstaan met het ex tempore bereiden

---

[1]) Barcroft en Burn, Journal of Physiology, vol. XLV, 1913.

[2]) Barcroft en Roberts, Journal of Physiology, vol. XXXIX, 1910.

van een oplossing van een afgewogen hoeveelheid $KMnO_4$ «puriss.» omdat men nooit zeker is of er niet verontreinigingen aanwezig zijn.

In laatste instantie hangt dus de nauwkeurigheid van deze ijkmethode af van de vraag of men precies de sterkte van zijn standaardoplossing van oxaalzuur (of ferro-ammoniumsulfaat) kent.

Men kan daarvoor nemen oxaalzuur dat men te voren op 120° heeft verhit (om de 2 moleculen kristalwater te verdrijven) of ook bij de berekening het kristalwater in rekening brengen. Men weegt nauwkeurig een zekere hoeveelheid af, lost dit op in een eveneens nauwkeurig bekende hoeveelheid gedistilleerd water, zoodat de titer $\pm \frac{n}{10}$. Bij de titratie van oxaalzuur met permanganaat plaatst men het bekerglas met $(COOH)_2$ te voren eenige oogenblikken in een waterbad van 70°, omdat anders de reactie niet of zeer langzaam intreedt; is deze eenmaal begonnen, dan verloopt zij zonder verdere verwarming ten einde. Men krijgt een indruk van de gevoeligheid dezer reactie als men bedenkt, dat oxalaten op deze wijze in veel kleinere hoeveelheden nauwkeurig zijn te bepalen dan zelfs door weging. [1])

De sterkte van de H_2O_2 oplossing bepaalt men vóór en na de calibreering, het laatste om zeker te zijn dat de H_2O_2 in die enkele uren niet merkbaar in sterkte is afgenomen. Bij de permanganaattitraties voege men steeds een behoorlijke overmaat H_2SO_4 toe (geen HCl!)

Voor de ijking brengt men 1 c.c. H_2O_2 in ieder fleschje, voegt daarbij 2 c.c. $\frac{n}{100}$ H_2SO_4. In het halsje van de eene flesch brengt men 0.2 c.c. $KMnO_4$, in het andere evenveel water. Is er temperatuurevenwicht ingetreden, dan sluit men de kranen, en laat eenerzijds het $KMnO_4$, anderzijds het water bijloopen. Is de manometeruitslag konstant geworden, dan leest men dezen af, eveneens de temperatuur van het water

[1]) W. Ostwald, Grundlinien der anorganischen Chemie, pag. 646.

(die ongeveer dezelfde moet zijn als de kamertemperatuur) en den barometerstand. Men kan dan k berekenen uit de vergelijking:

$$x = p \times k \times \frac{273}{T} \times \frac{P}{760}$$

Hierin is x de hoeveelheid O_2 in m.m^3, bekend uit de titraties; P is de barometerstand, T de absolute temperatuur.

We hebben aldus k voor het geval de hoeveelheid vloeistof in het fleschje 3.2 c.c. bedraagt. Is deze een andere, b.v. 1.5 c.c., dan is de konstante $k' = k + 0.17$. Is k b.v. 4.20, dan is $k' = 4.37$. Immers:

$$k = \frac{V}{P} + d. \qquad k' = \frac{V + 1700}{P} + d.$$

$$k' = k + \frac{1700}{10.000} = k + 0.17 \text{ (ongeveer).}$$

Aan het eind van het experiment moet de oplossing in de fleschjes vrijwel helder zijn, en *de violette kleur van het permanganaat vertoonen, ten teeken dat dit in overmaat aanwezig is geweest.* Men moet meerdere bepalingen verrichten, en van tijd tot tijd de sterkte van de H_2O_2 controleeren.

Duidelijkheidshalve laat ik hier het volledig verslag volgen van de chemische ijking van een der door mij gebruikte apparaten.

Titraties. Behalve een willekeurige permanganaatoplossing die ruim $^1/_{10}$ normaal was, werden gebruikt:

1°. Een *oxaalzuuroplossing*, verkregen door 6.308 gram $(COOH)_2$, 2 aq. (pro analyse) op te lossen in 1 L. aq. destillata. Daar het moleculair gewicht bedraagt 126.06, bevat 1 L. $\frac{n}{10}$ oxaalzuur dus 6.303 gram $(COOH)_2$ 2 aq. (nl. $^1/_{20}$ grammolecule per liter).

In de gebruikte oxaalzuuroplossing bevond zich per liter dus $\frac{6308}{6303 \times 20}$ mol. $(COOH)_2$ 2 aq.

2°. een *peroxyde-oplossing*, gemaakt door 1 c.c. perhydrol 30 % (z.g. «100 volume») met aq. dest. aan te vullen tot 1 L.

Het bleek nu, dat:

60 c.c. H_2O_2 worden ontleed door resp. 10.18, 10.16 en 10.18, gemiddeld 10.18 c.c. K Mn O_4.

20 c.c. oxaalzuur werden geoxydeerd door resp. 17.72, 17.72 en 17.73, gemiddeld 17.72 c.c. K Mn O_4.
of 60 c.c. oxaalzuur verbruikten 53.16 c.c. K Mn O_4.

Gegeven de bekende sterkte van de oxaalzuuroplossing, volgt hieruit dus, dat 1 L. H_2O_2-opl. bevat

$$\frac{10.18}{53.16} \times \frac{6308}{6303 \times 20} \text{ mol.}$$

Daar verder bij inwerking van K Mn O_4 op H_2O_2 telkens op 1 mol. H_2O_2 1 mol. O_2 vrijkomt, levert dus 1 c.c. H_2O_2 met de overeenkomstige hoeveelheid K Mn O_4

$$\frac{10.18}{53.16} \times \frac{6308}{6303 \times 20 \times 1000} \text{ mol. } O_2.$$

Elk grammolecule van een willekeurig, droog gas neemt bij 0° en 760 m.m. een volume in van 22,394 liter.

De hoeveelheid O_2, ontwikkeld bij inwerking van permanganaat op 1 c.c. van de H_2O_2 opl., bedraagt dus

$$\frac{10.18 \times 6308 \times 22394}{53.16 \times 6303 \times 20000} = 0.2146 \text{ c.c.}$$

Hierna werd nog gecontroleerd of het oxaalzuur werkelijk 2 moleculen kristalwater bevatte (bij 30° begint het dit te verliezen). De oplossing werd vergeleken met barnsteenzuur (dat geen kristalwater bevat en bij 150° werd gedroogd). Beide werden getitreerd met loog, met phenolphthaleïne als indicator.

De opl. van *barnsteenzuur* was nauwkeurig 0.1 normaal. 20 c.c. werden geneutraliseerd resp. door 20.28 en 20.28 c.c. loog, terwijl 20 c.c. oxaalzuur werden geneutraliseerd door resp. 20.23 en 20.26 c.c. loog. Dit geringe verschil valt wel binnen de grenzen der waarnemingsfouten.

Gasanalysen. De betrekking tusschen de hoeveelheid gas (x), in het apparaat ontwikkeld, en het waargenomen drukverschil p, wordt weergegeven door de vergelijking $x = k \times p$.

Het blijkt dat uit de pipet loopt 0.992 c.c. H_2O_2.
Deze levert met het permanganaat dus:

$$x = 0.992 \times 0.2146 = 0.2129 \text{ c.c. } O_2.$$

Het waargenomen drukverschil (p) = 58.7 m.m.
Temperatuur = 15°. Barometerstand = 9806 m.m. olie.

$$212.9 = K \times 58.7 \times \frac{273}{288} \times \frac{9806}{9816}.$$

$$K = \frac{212.9 \times 288 \times 9816}{58.7 \times 273 \times 9806} = \mathbf{3.83}.$$

Andere, analoge bepalingen gaven respectievelijk 3.85, 3.81, 378, 3.84, 386.

K is dus gemiddeld (bij dezen barometerstand) *3.83*. Voor de 3 andere apparaten bedroeg de konstante 3.87, 4.04 en 4.15.

De ijking volgens Hoffmann, gewijzigd door Münzer en Neumann.

Veel eenvoudiger werd de ijking van het apparaat, toen Hoffmann [1]) de konstante physisch ging bepalen door het binnenbrengen van een gemeten hoeveelheid lucht. De methode is vereenvoudigd door Münzer en Neumann [2]). Hun uitvoering is als volgt. (fig. 5.)

Open de kranen *A*, *B* en *C*. Breng *N* zóó laag, dat de meniscus in het onderste deel van *P* staat. In *P* en *N* staan de menisci even hoog. Deze stand wordt genoteerd, en *A* en *C* gesloten. Daarop wordt N naar boven gebracht, tot in den manometer een zeker niveauverschil ontstaat. Na het sluiten van *B* brengen we nu N weer zóóver omlaag, tot de menisci in *P* en *N* weer precies even hoog staan. Het verschil in aflezingen in P vóór en na de proef geeft dan aan het volume van het ingebrachte gas onder de heerschende temperatuurs- en drukverhoudingen. Deze groot-

---

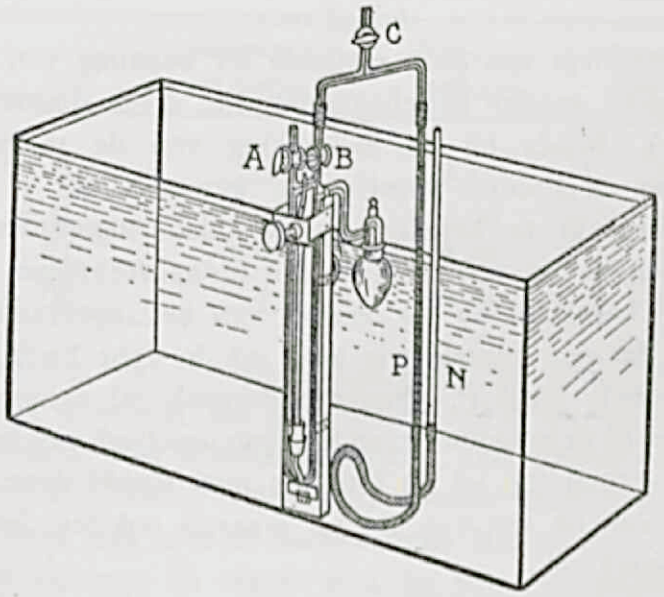
[1]) Hoffmann, Journal of Physiology, Vol. XLVII, 1914.
[2]) Münzer en Neumann, Bioch. Zeitschrift, Bd. 81, 1917.

heid, gedeeld door het niveauverschil in den manometer, levert de konstante van het apparaat.

De waarden, op deze wijze verkregen, stemden goed overeen met die van de peroxyde-ijking, zooals uit de tabel op pag. 41 blijkt.

Met de proefopstelling van Münzer en Neumann kan men ook

Fig. 5.



de grootheden d en V bepalen. De uitvoering van de proef blijft dezelfde als bij die van de genoemde schrijvers, met dit verschil dat de kraan A open blijft. Bij open kranen worden de menisci in den manometer tot het nulpunt gebracht. en de niveaux P en N afgelezen. Daarna wordt C gesloten. Men brengt nu door middel van P N een hoeveelheid lucht binnen, sluit B, en maakt door daling van N de menisci in P en N weer gelijk, en leest den stand in P af. Men kent dan de hoeveelheid binnengebracht gas, (a m.m^3.) Door middel van de schroef wordt nu de meniscus in de gesloten manometerhelft weer tot nul gebracht. Uit de bekende hoeveelheid a, het niveauverschil p en den barometerstand P laat zich V berekenen door de wet van Boyle.

Op dergelijke wijze kunnen wij d berekenen. Daarvoor

gaan wij thans door middel van de schroef den meniscus in het gesloten been zóóver naar beneden brengen dat beide niveaux in de manometerbuis even hoog staan. Zij staan dan over een zekeren afstand b beneden het nulpunt. De lucht in de afgesloten helft staat dan onder atmosferendruk; de toename in volume moet derhalve gelijk zijn aan het volume van de ingebrachte lucht, onder dezelfde omstandigheden van temperatuur en druk; zoodat zonder meer duidelijk is, dat

$$b \times d = a.$$

Een voordeel van deze methode ter bepaling van V is dat zij geschiedt zonder tusschenkomst van d (de doorsnede van de buis). Reeds bij de bespreking van de methode van Barcroft en Higgins werd er op gewezen dat d moeilijk nauwkeurig is te bepalen op de aldaar aangegeven wijze. Bovendien is een voordeel, dat de aldus verkregen waarden voor V berusten op de kennis van het ingebrachte luchtvolume, dat men nauwkeurig kent uit de door kwikuitweging gecalibreerde pipet P. Nader onderzoek zal echter moeten uitmaken of deze kleine veranderingen practisch van beteekenis zijn in verhouding tot de fout die men maakt door de toepassing van de wet van Boyle, waaruit ook hier het volume wordt berekend.

Samenvattende, dien ik op te merken, dat het steeds noodig is, de konstante k langs meer dan één weg te bepalen, als gemiddelde van een zoo groot mogelijk aantal waarnemingen. Eerst trachte men V te leeren kennen; is het volume links en rechts ongelijk, dan wordt dit verschil opgeheven door in het grootste fleschje glazen kogeltjes van bekend specifiek gewicht te brengen. Daarna gaat men k empirisch bepalen; de eenvoudige methode van Münzer en Neumann is in dat geval zeer aan te bevelen.

De peroxyde-ijking geeft soms vrij uiteenloopende waarden; die van Barcroft en Burn verschillen soms tot 4 %; mijn resultaten zijn daarmee in overeenstemming. Niettemin is deze methode zeer goed bruikbaar, mits men het gemiddelde neemt van een groot aantal parallelanalysen. Eindelijk kan men het apparaat ijken door vergelijking met een ander

differentiaal-apparaat waarvan men de konstante kent, of met een kwikpomp.

Vóór dat men tot de empirische ijking overgaat, moet men echter verschillen in volume rechts en links opheffen; *verschillen, grooter dan 0.1 c.c., zijn niet toelaatbaar.* [1])

De empirische methoden geven waarden, die ± 2 % hooger zijn dan die volgens BARCROFT en HIGGINS verkregen, zooals blijkt uit de volgende tabel (k voor denzelfden barometerstand):

	BARCROFT-HIGGINS.	Peroxyd-methode.	MÜNZER en NEUMANN.
Apparaat I	4.05	4.15	4.13
» II	3.93	4.04	4.05
» III	3.87	3.93	3.92
» IV	3.73	3.83	3.83

De waarden van kolom I zijn ieder het gemiddelde van 12, die van kolom II het gemiddelde van 6, die van kolom III het gemiddelde van 4 waarnemingen. Ook andere schrijvers (BARCROFT en BURN, HOFFMANN) vonden empirisch voor k ± 2 % meer dan met de formule van BARCROFT.

Er rest ons nog de vraag: is k bij hetzelfde apparaat bij gelijke volumeverhoudingen, bij elke temperatuur en druk gelijk?

MÜNZER en NEUMANN hebben er op gewezen dat k geen onveranderlijke grootheid is. Immers:

$$k = \frac{V}{P} + d$$

Bij daling van den barometerstand stijgt dus *k*, en omgekeerd. Is k de konstante bij den ijkingsdruk P_1 en k_1 die bij den metingsdruk P_1, dan is

$$k_1 = k \frac{(V + d\,P_1)\,P}{(V + d\,P)\,P_1}$$

MÜNZER en NEUMANN bepalen *k* bij verschillende barometerstanden, stellen de gevonden waarden in een curve samen,

[1]) BARCROFT, Respiratory function of the blood, 1914, pag. 291.

om in elk concreet geval k voor den heerschenden barometerstand door interpolatie te kunnen aflezen.

De formule van Barcroft.

Barcroft's formule ter berekening van de ontwikkelde of geabsorbeerde O_2:

$$x = p\left(\frac{V}{P} + d\right)$$

is in den laatsten tijd van verschillende zijden aan kritiek onderworpen. We hebben gezien dat men met deze formule waarden krijgt, $\pm$ 2 % lager dan die, door middel van de empirisch bepaalde konstante k verkregen. In dit verband zij reeds thans gewezen op de onderzoekingen van Peters, waar een volmaakte overeenstemming tusschen de experimenteel bepaalde en de theoretisch berekende waarden voor de specifieke O_2-capaciteit eerst werd bereikt nadat zijn te lage resultaten waren gecorrigeerd door Barcroft en Burn op grond van de empirische H_2O_2-ijking. Barcroft zegt omtrent deze kleine afwijking het volgende. De oude methode — de bepaling der physische constanten V en d — is correct; afgezien van zeer kleine en volkomen geoorloofde verwaarloozingen in de berekening, is de methode mathematisch juist. Practisch heeft men echter te doen met vloeistoffen, die op alles wat ze aanraken een laagje achterlaten, dat dampspanningen en dergelijke geeft, en daarom behoeft het niet te verwonderen, dat de theoretische waarde 2 % afwijkt van de praktische.

Dat overigens de boven aangehaalde formule theoretisch juist is, blijkt ook wel uit het feit, dat alle onderzoekers, die zich hebben bezig gehouden met deze vraag, langs verschillende wegen zijn gekomen tot een resultaat, overeenkomstig dat van Barcroft. Zoo heeft Hill [1]) een andere mathematische afleiding gegeven, waarin hij de hoeveelheid ontwikkeld of geabsorbeerd gas uitdrukt als een fractie van V; het eindresultaat is echter precies hetzelfde als dat van

[1]) Hill, Proceedings, Journal of Physiology, vol. L. 1915.

BARCROFT. Volgens MÜNZER en NEUMANN [1]) daarentegen zou door een fout in de afleiding de formule van BARCROFT, strikt genomen, onjuist zijn, en moeten luiden:

$$x = p\left[\frac{V}{P} + d\left(1 + \frac{2q}{P}\right)\right]$$

waarin q beteekent den druk waarmee de algemeene druk in het apparaat den barometerstand overtreft tengevolge van de gasontwikkeling. Immers, wanneer men rechts O_2 ontwikkelt, dan stijgt links het niveau; de druk is dan echter links niet gedaald van P op P — $^1/_2$ p zooals BALL aanneemt [2]), maar ook links is de druk gestegen, daar de hoeveelheid gas dezelfde is gebleven en het volume kleiner is geworden. Deze druktoename q, die afhangt van den manometeruitslag, moet voor elke analyse bepaald worden uit een door de schrijvers aangegeven formule; die factor is des te grooter naarmate de manometeruitslag grooter is. Intusschen is het hun gebleken dat deze fout hoogstens $^1/_2$ %, in den regel practisch echter geheel te verwaarloozen is, zoodat zij tot de conclusie komen dat de formule van BARCROFT, ondanks haar niet geheel onberispelijke afleiding, als voldoende kan worden beschouwd. Dat dit inderdaad juist is, blijkt ook hieruit, dat PARSONS [3]) zoowel langs mathematischen als experimenteelen weg heeft aangetoond dat de konstante k praktisch niet afhangt van de vraag of aan beide zijden O_2 wordt geabsorbeerd dan wel ontwikkeld. In beide gevallen kreeg hij een formule, overeenstemmende met die van BARCROFT.

Besproken dient hier nog een vraag, door WERTHEIMER [4]) naar voren gebracht, nl. of bij de berekening het bepaalde gas niet alleen tot 0° en 760 m.m. moeten worden gereduceerd, maar of men tevens het gas tot zijn *droog* volume moet terugbrengen. WERTHEIMER wijst er op, dat er in dit opzicht eenige onzekerheid in de Engelsche literatuur bestaat:

---

[1]) MÜNZER en NEUMANN, Bioch. Zeitschr. Band 81, 1917.

[2]) BALL neemt het geval van absorptie, maar principieel geldt daarvoor een overeenkomstige redeneering.

[3]) PARSONS, Biochemical Journal, Vol. XV, 1921.

[4]) WERTHEIMER, Bioch. Zeitschr. Bd 106, 1920.

zoo wordt b.v. door BARCROFT [1]) in een CO_2-experiment het volume tot droogheid gereduceerd, eveneens door BARCROFT en BURN [2]) het O_2-vol. in een H_2O_2-proef; daarentegen houdt PETERS [3]) geen rekening met de waterdampspanning, evenmin BARCROFT [4]) in zijn monographie, hoewel de tekst hier het tegendeel zou doen vermoeden. Dat men het volume alleen moet reduceeren tot 0° en 760 m.m., en *niet tot droogheid*, blijkt uit de volgende overwegingen. Meet men een hoeveelheid gas, die zich in een met waterdamp verzadigde ruimte (die water bevat) ontwikkelt, *volumetrisch*, d. w. z. zoodanig dat de totale druk dezelfde blijft en het volume zich vergroot, dan is het duidelijk dat het vrijkomende gas zich eveneens met waterdamp verzadigt, en dus uit de gevonden toename in volume de ware hoeveelheid vrijgekomen gas wordt gevonden door het waargenomen verschil niet alleen tot 0° en 760 m.m. terug te brengen, maar tevens de dampspanning in rekening te brengen. Bepaalt men echter het ontwikkelde gas bij gelijkblijvend volume uit de druktoename, dus *pressimetrisch*, dan heeft zich bij het oorspronkelijke gas alleen een zekere hoeveelheid droog gas gevoegd, daar de maximale waterdampspanning — bij konstante temperatuur — dezelfde is gebleven; in dit geval mag men dus de dampspanning *niet* in rekening brengen.

Bij de gasanalysen in BARCROFT's apparaat hebben we nu te doen met een combinatie van deze beide gevallen. Men meet weliswaar drukverschillen, maar ook het volume blijft niet geheel en al onveranderd. Door de dampspanning geheel buiten rekening te laten, maakt men dus een zekere fout, waarvan de grootte uit het volgende voorbeeld moge blijken.

Bij een willekeurige gasanalyse werden de volgende waarnemingen gedaan:

Barometerstand 9864 m.m. olie. Temperatuur van het waterbad = 14.8° C.

---

[1]) Journ. of Phys. Vol. XXXVII, 1908, pag. 23.
[2]) Journ. of Phys. 45, Vol. XLV, 1913, pag. 495.
[3]) Journ. of Phys. Vol. XLIV, 1912, pag. 131.
[4]) BARCROFT, Resp. function of the blood, 1914, pag. 293.

Manometeruitslag 49.8 m.m. $k = 4.04$.

Hoeveelheid zuurstof =

$$4.04 \times 4.98 \times \frac{273}{287.8} \times \frac{9864}{9816} = 191.8 \text{ m.m}^3.$$

Als d = de doorsnee van de manometerbuis, is het volume toegenomen met d $\times$ ½ p. $= 1.368 \times 24.9 = 34$ m.m^3.

In dit geval bedroeg de toename van het volume dus

$$\frac{34}{191.8} \times 100 = 17.7\,\% \text{ van de totale hoeveelheid.}$$

Nu werd de proef genomen bij een temperatuur van 14°.8 C., waarbij de maximale spanning van waterdamp ± 12.5 m.m. kwik, d. i. 1.6 % van een atmosfeer. Daar de volume-toename echter 17.7 % van het ontwikkelde gas bedroeg, mag de dampspanning dus slechts in rekening gebracht worden tot een bedrag van $\frac{17.7}{100} \times 1.6 = 0.28\,\%$.

Wertheimer berekent dat deze correctie in zijn proeven gemiddeld 0.4% bedroeg. Daar deze correctie in omgekeerden zin plaats heeft als die welke in de formule van Münzer en Neumann is aangegeven, en deze twee correcties elkaar ongeveer opheffen, besluit ook Wertheimer dat men Barcroft's formule zonder meer kan aanvaarden; bij de reductie tot normaalvolume heeft men wel de temperatuur en den barometerstand, niet de waterdampspanning in rekening te brengen.

Nauwkeurigheid der ferricyaankali-methode.

We hebben gezien dat de O_2 en het CO, gebonden aan haemoglobine, door rood bloedloogzout quantitatief in vrijheid worden gesteld, zooals door Haldane, op grond van hier niet nader te beschrijven experimenten, werd waargenomen. Von Zeynek[1]) en Hüfner[2]) die iets later, onafhankelijk van Haldane's werk, eveneens de werking van ferricyaankali op oxyhaemoglobine beschreven, waren een andere meening toegedaan. De hoeveelheden O_2, die zij op deze wijze verkregen,

[1]) Von Zeynek, Archiv. für (Anat. u.) Physiol. 1899.

[2]) Hüfner. Archiv. für (Anat. u.) Physiologie 1899.

waren veel lager (in de beste experimenten 13%, in andere meer dan 50%) dan die welke zij indirect berekenden uit hun spectrophotometrische bepalingen, onder de aanname dat 1 gram haemoglobine maximaal bindt 1.34 c.c. O_2. HALDANE schrijft dit voor een deel toe aan de aanwezigheid van bacteriën[1]); bij versch bloed kreeg HÜFNER dan ook weliswaar te lage, maar veel betere waarden. Overigens acht HALDANE de spectrophotometrische waarneming een onzekere basis voor de O_2-bepalingen.

In 1904 is de vraag van de praktische nauwkeurigheid der methode aan een uitvoerig onderzoek onderworpen door FRANZ MÜLLER[2]). De resultaten van dezen schrijver stemden zoowel onderling als met de gaspomp over 't algemeen goed overeen. Een uitzondering hierop maakte vooral hondenbloed, waarbij niet zelden met de chemische methode lagere waarden werden verkregen dan met de pomp. De meest waarschijnlijke oorzaak is deze dat hondenbloed moeilijk geheel lakkleurig is te maken (HALDANE[3]). Hetzelfde zag PETERS bij kattenbloed.

Wat betreft het foutenpercentage dat men bij de analyse van 1 c.c. bloed maakt, meent MÜLLER[4]) dat met het differentiaalapparaat 1% nauwkeurigheid wordt bereikt in twee goed geslaagde analysen. Zóó algemeen laat zich echter de foutgrens niet aangeven. Door BARCROFT[5]) wordt er op gewezen dat het niet van de werkelijke fout van het apparaat afhangt of de resultaten goed zijn of niet, maar van de verhouding waarin die fout staat tot de totale waarde; deze verhouding moet men in elk concreet geval beoordeelen. Zoo zal bij bloed met een geringe O_2-capaciteit de fout — absoluut gelijk

---

[1]) Zuurstofverbruik (b.v. door bacteriën) kan men hieraan herkennen dat na de algeheele O_2-ontwikkeling het vrijgekomen gas weer slinkt, zoodat, ook bij konstante temperatuur en barometerstand, geen konstante eindaflezing wordt verkregen.

[2]) FRANZ MÜLLER, Pflüger's Archiv. Band 103, 1904.

[3]) Vergelijk ook BARCROFT, Ergebnisse der Physiologie, Band VII, 1908, pag. 779.

[4]) MÜLLER, in Oppenheimer's Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband 1913, pag. 120.

[5]) BARCROFT, Ergebnisse der Phys. Bd VII, 782.

blijvend — *procentsgewijs* grooter zijn dan bij normaal bloed.

Daar bij mijn waarnemingen bij bloed met een ongeveer normaal zuurstofbindend vermogen tot dusver de parallelanalysen niet meer van elkaar afweken dan 2 %, mogen we aannemen, dat *in dit geval* bij de analyse van 1 c.c. bloed de fout zeker niet grooter is dan 1 %, in de meeste gevallen waarschijnlijk kleiner. Een willekeurig voorbeeld moge dit nader toelichten. Van normaal bloed werden 8 parallelanalysen verricht, waarbij als uiterste waarden werden verkregen 18.23 en 18.00 vol. % O_2; de 6 andere waarden lagen daartusschen, waarbij het gemiddelde bedroeg 18.12 %. Het verschil der uiterste waarden bedroeg dus ± 1.3 % van het gemiddelde. Het verschil tusschen dit laatste en de werkelijke waarde is kleiner. Nauwkeuriger wordt nog het resultaat wanneer het aantal analysen grooter wordt. Dit is een groot voordeel van de chemische methode boven de kwikpomp: terwijl men in het eerste geval in korten tijd een groot aantal analysen kan verrichten[1]), is men bij de pomp aangewezen op één of enkele waarnemingen.

Het gemiddelde van 8 analysen, bij bloed van een ongeveer normale O_2-capaciteit onder alle voorzorgen in nauwkeurig geijkte apparaten uitgevoerd, wijkt minder dan 1 % af van de werkelijke waarde.

Bij bloed met een veel kleinere O_2-capaciteit wordt de fout grooter, echter niet in evenredigheid met de afname van die grootheid. Immers een deel van de fouten (calibreering, uitmetingsfouten bij het aflezen van de buretten) blijft procentsgewijs gelijk; alleen de fout bij het aflezen van den

---

[1]) Eventueel kan men de statistische fouten-theorie toepassen voor de «accidenteele» afwijkingen; de gemiddelde fout vindt men dan uit de formules $f = \frac{\mu}{\sqrt{n}}$ en $\mu = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$, waarin f is de gemiddelde fout van de serie, μ de standaard deviatie, d de deviatie van iedere bepaling van het gemiddelde, n het aantal waarnemingen. Over de toepassing van deze wet bij biologisch werk, zie: KROGH, The respiratory exchange of animals and man, 1916, pag. 17. Bij een dergelijk klein aantal waarnemingen mag men deze wet echter niet dan met kritiek toepassen.

manometer neemt toe in evenredigheid met het kleiner worden van den uitslag, dus met de afname van het O_2-bindend vermogen. Het foutenpercentage bij bloed van een haemoglobingehalte van 20% zal dus niet het vijfvoud zijn van dat bij een kleurstofgehalte van 100%, maar b.v. het dubbele of drievoud.

IV.

Quantitatieve kleurstofbepaling.

De beste methode zou zijn de kleurstof in zuiveren toestand uit het bloed af te scheiden, haar te drogen en te *wegen*. Daar deze stof echter zeer labiel is, moet haar quantitatieve bepaling langs indirecten weg geschieden, hetzij door het vaststellen van de hoeveelheid van een der bestanddeelen, hetzij door middel van optische methoden. Van deze laatste zijn de colorimetrische de eenvoudigste en de meest gebruikelijke. Voor mijn doel waren ze minder geschikt, omdat zij niet dien graad van nauwkeurigheid bereiken, dien men in dit geval moet eischen. Voor andere methoden (zooals b.v. de spectrophotometrische, de seleencel van Plesch[1]) of de elegante contrastmethode van Schlesinger en Fuld[2])) ontbrak mij zoowel de apparatuur als de ervaring, zoodat ik aangewezen was op de bepaling van het ijzergehalte.

Wanneer men de elementairanalytische data van de verschillende onderzoekers vergelijkt, dan heerscht over geen der aanwezige elementen eenstemmigheid. Voor een deel berusten die verschillen op het feit dat het uiterst moeilijk blijkt haemoglobine in zuiveren toestand te verkrijgen. De vraag rijst verder of het haemoglobine van alle diersoorten, van alle individuen der zelfde species, onder alle verhoudingen dezelfde samenstelling heeft. Het wordt steeds meer waarschijnlijk dat deze vraag in ontkennenden zin moet worden beantwoord. Daarop wijzen, behalve verschillen in elementaire samenstelling, ook afwijkingen in moleculairgewicht, kristalvorm, en dergelijke. Men neemt meer en meer aan,

[1]) Plesch, Bioch. Zeitschr. Band I, 1906.
[2]) Schlesinger en Fuld, Berl. Klin. Woch. Schrift 1911, No. 18.

dat verschillen in de elementaire samenstelling zijn toe te schrijven aan het globin-complex van het molecule. De elementen die ook hierin voorkomen (C, N, H, O, S) kunnen dus niet als maatstaf dienen voor het haemoglobinegehalte. Voor het ijzer zijn echter de verhoudingen belangrijk anders. Dit komt alleen voor in de «gekleurde» kern, het *haemochromogeen*, niet in den eiwitcomponent. Het haemochromogeen — daarover is men het eens sinds de onderzoekingen van NENCKI en zijn leerlingen[1]), HÜFNER en KÜSTER[2]), PREGL[3]) — heeft een konstant ijzergehalte en zuurstofbindend vermogen. Neemt men aan dat een zeker aantal moleculen haemoglobine steeds een even groot aantal dier kernen bezit, dan mocht men verwachten, dat voor het ijzer de overeenstemming tusschen de verschillende onderzoekers grooter was. Het tegendeel ziet men in bijgaande tabel I. De resultaten wisselen tusschen 0.49 % (zelfs 0.59 %!) en 0.335 %, wijken onderling dus niet minder dan 30 % af!

Nauwkeurige waarnemingen omtrent het ijzergehalte zijn het eerst gedaan door ZINOFFSKY[4]) en JAQUET[5]), die bij paard-, hond- en kip-haemoglobine een ijzergehalte vonden van 0.335 %. Geheel hiermee in overeenstemming zijn de resultaten van de SAINT-MARTIN[6]), BUTTERFIELD[7]), waarschijnlijk ook die van MASING[8]). Al deze schrijvers nemen dan ook met HÜFNER een konstant ijzergehalte van 0,335 % aan, welke meening in de laatste jaren vrij algemeen de heerschende is. BUTTERFIELD verklaart de in de literatuur waargenomen verschillen hierdoor dat haemoglobine, op verschillende wijzen verkregen,

---

[1]) NENCKI en SIEBER, Archiv. f. exp. Path. Bd. XVIII 1884, en Bd. XX 1886; NENCKI en ZALESKI, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 30, 1900.

[2]) HÜFNER en KÜSTER, Archiv. für (Anat. u.) Physiologie, Suppl. 1904.

[3]) PREGL, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 44, 1905.

[4]) ZINOFFSKY, Dissertatie DORPAT 1885, en Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 10, 1885.

[5]) JAQUET, Dissertatie BAZEL 1889; Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, 1888 en 14, 1889.

[6]) SAINT-MARTIN, Comptes rendus de la Société de Biologie, T 53, 1901.

[7]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 62, 1909.

[8]) MASING, Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. 98 en 99, 1910.

TABEL I. **IJzergehalte van oxyhaemoglobine in %.**

Schrijver.	IJzer-gehalte.	Herkomst van het bloed.	Schrijver.	IJzer-gehalte.	Herkomst van het bloed.	
LEHMANN [1])	0.48	hond	JAQUET [12])	0.336	hond	
C. SCHMIDT [2])	0.43	hond	»	0.3353	kip	
HOPPE-SEYLER [3])	0.43	hond	HÜFNER-JAQUET [13])	0.336	rund	
»	0.43	gans	LAWROW [14])	0.47	paard	
»	0.48	cavia	ABDERHALDEN [15])	0.38	paard	
»	0.59	eekhoorn	BUTTERFIELD [16])	0.335	rund	
PREYER [4])	0.42	hond	»	0.335	mensch	(norm. en path.
KOSSEL [5])	0.47	paard	MASING [17])	0.29	rund	zie voor de aan te brengen correctie de tekst van de S. O. C.
OTTO [6])	0.43	varken	»	0.292	konijn	
OTTO [7])	0.45	paard	»	0.295	gans	
BÜCHELER [8])	0.47	paard	»	0.295	mensch	
ZINOFFSKY [9])	0.335	paard	SAINT-MARTIN [18])	0.338	rund	berekend uit de door hem opgegeven sp. f. m. haem. waarden en ijzerbepalingen
HÜFNER [10])	0.47	varken	»	0.34	hond	
HÜFNER [11])	0.42	rund	»	0.336	mensch	

[1]) LEHMANN, Ber. der Verhandl. der Sächsischen Ges. d. Wiss. math. phys. classe 1852.
[2]) SCHMIDT, in Böttcher's Blutkristalle, Dorpat 1862.
[3]) HOPPE-SEYLER, Med. chem. Untersuchungen, 1866/'68.
[4]) PREYER, Centr.bl. für die med. Wiss. 1866.
[5]) KOSSEL, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 2, 1878.
[6]) OTTO, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1882.
[7]) OTTO, Pflüger's Archiv, Bd. 31, 1883.
[8]) BÜCHELER, Dissertatie Tübingen 1883, en HÜFNER, Zeitschr. für physiol. Chemie, Band 8, 1884.
[9]) ZINOFFSKY, Dissertatie Dorpat 1885, en Zeitschr. f. physiol. Chemie, Band X, 1885.
[10]) HÜFNER, Festschrift für Carl Ludwig 1887.
[11]) HÜFNER, Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 22, 1880.
[12]) JAQUET, Dissertatie Bazel 1889; Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, 1888 en 14, 1889.
[13]) HÜFNER, Archiv für Physiol., 1894.
[14]) LAWROW, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 26, 1898.
[15]) ABDERHALDEN, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 37, 1903.
[16]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 62, 1909.
[17]) MASING, Deutsches Archiv Bd. 98 en 99, 1910.
[18]) SAINT-MARTIN, Société de Biologie, 1901.

en van verschillenden zuiverheidsgraad, in veel te kleine hoeveelheden werd geanalyseerd; verder was soms de technische uitvoering niet onberispelijk: zoo werd niet zelden het ijzer in *zoutzure* oplossing getitreerd met permanganaat, hetgeen te hooge waarden kan geven. Anderen, b.v. BOHR, deden maar zelden dubbelbepalingen. Verder is het zeer moeilijk ijzervrije reagentia te krijgen. Men moet deze laatste nauwkeurig op hun ijzergehalte onderzoeken ten einde dit in rekening te kunnen brengen. Daarbij komt, dat b.v. H_2SO_4, dat aanvankelijk geen spoor ijzer bevat, later duidelijk positieve ijzerreacties kan vertoonen, door onttrekking van die stof aan den wand van de flesch, waarin het sterke zuur wordt bewaard. Bij de geringe hoeveelheden die men bepaalt, geven verontreinigingen met sporen ijzer reeds belangrijke fouten.

De onderzoekingen, die verricht zijn met JOLLES' ferrometer zijn door mij buiten beschouwing gelaten. Zooals bekend, wordt bij deze methode het ijzer colorimetrisch bepaald als rhodaanijzer. Blijkens de onderzoekingen van KRÜSS en MORAHT[1]) is echter de kleur van het ijzerrhodanide in hooge mate afhankelijk van de vorming van een dubbelzout $Fe(CNS)_3$. 9 KCNS. 4 aq. hetgeen een colorimetrische bepaling buitensluit. Tot een zelfde resultaat kwamen RIBAN[2]), ZANGEMEISTER[3]), SCHWENKENBECHER[4]), PLESCH[5]) en anderen[6]).

Voor mijn onderzoek is eigenlijk de nauwkeurige kennis van het procentische ijzergehalte van het haemoglobine niet noodig. Het zou voldoende zijn, wanneer wij konden aantoonen dat het normale, onveranderde haemoglobine een konstante verhouding vertoonde tusschen ijzergehalte en zuur-

---

[1]) KRÜSS en MORAHT, Berichte der deutschen chem. Ges. XXII 2, 1889. Zie ook: G. KRÜSS en H. KRÜSS, Kolorimetrie und quantitatieve Spectralanalyse, 1891, pag. 174—183.

[2]) RIBAN, Bulletin de la Soc. chim. de Paris 1891 t. VI en 1892 t. VII.

[3]) ZANGEMEISTER, Zeitschr. für Biologie, Bd. 33, 1896.

[4]) SCHWENKENBECHER, Deutsches Archiv Bd. 75, 1903.

[5]) PLESCH, Deutsches Archiv. Bd. 99, 1910.

[6]) Voor een uitvoerige bespreking van de wijze waarop deze methode later is verbeterd, verwijs ik naar ROESSINGH, Dissertatie Utrecht, 1921, pag. 75.

stofbindend vermogen. Wanneer b.v. zou blijken dat het haemoglobine van alle normale individuen steeds op 1 atoom ijzer maximaal 2 atomen zuurstof zou kunnen binden, dan zou de hoeveelheid O_2, gebonden per gram ijzer (uitgedrukt in c.c., en gemeten bij 0° en 760 m.m.), de z.g. *specifieke zuurstofcapaciteit* van Bohr, steeds *401* [1]) moeten bedragen. Elke verandering in deze konstante zou dan een aanwijzing zijn, dat òf het ijzergehalte, òf het zuurstofbindend vermogen òf beide veranderingen hadden ondergaan.

Voorwaarde bij dit onderzoek is, dat alle ijzer die men bepaalt, uitsluitend afkomstig is van het haemoglobine, en niet van andere verbindingen; de gemeten zuurstof moet quantitatief overeenstemmen met die welke aan het haemoglobine los gebonden is. We hebben ons dus rekenschap te geven van de vraag:

Is het analytisch gevonden ijzer uitsluitend aanwezig in de bloedkleurstof? Bepaalt men de los gebonden zuurstof werkelijk quantitatief?

De zuurstof. Er twijfelt thans wel niemand meer aan dat het zuurstofvervoer uitsluitend toekomt aan het haemoglobine. Voor de meening van Biernacki[2]), die aan de fibrinegeneratoren een rol wil toekennen bij het O_2-transport, is geen enkele aannemelijke reden aan te voeren. De vraag is echter gewettigd of men in alle gevallen de bij het experiment gemeten O_2 mag beschouwen als quantitatief overeenkomende met de hoeveelheid die aan het haemoglobine is gebonden. Hüfner meent dit te moeten ontkennen[3]); bij het langere schudden van de oplossing steeds zou weer een deel der O_2 in vastere verbinding overgaan, hetzij met metallische verontreinigingen van het kwik hetzij met gemakkelijk oxydeerbare stoffen,

---

[1]) Dit blijkt als volgt. Als 1 atoom ijzer bindt 2 atomen zuurstof, dan wordt 1 grammolecule O_2 gebonden door 1 gramatoom Fe, of 32 gram O_2 door 55,84 gram ijzer. Daar 1 grammolecule O_2 bij 0° en 760 m.m. een volume inneemt van 22.394 liter, wordt dan door 1 gram ijzer gebonden 401 c.c. O_2.

[2]) Biernacki, Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. 31, 1896, pag. 285.

[3]) Hüfner, Journal für praktische Chemie, Band 22, 1880, pag. 383.

afkomstig van de bloedlichaampjes, hetzij met bestanddeelen van het kraanvet. Vandaar dat HÜFNER in zijn latere publicaties ook steeds de O_2-capaciteit indirect heeft bepaald uit de CO-binding. Zoo schrijft hij in 1903[1]): «Ich durfte annehmen, dass das Kohlenoxyd als ein im Allgemeinen indifferenter, von anderen organischen Stoffen wenig oder gar nicht angezogener Körper, wenn einmal aus seiner verbinding ausgetrieben, sich auch vollständig aus der Lösung werde auffangen und genau genug messen lassen. Vom Sauerstoff ist, wenn eine Lösung von Blutköperchen damit geschüttelt wird, wie ja schon öfter hervorgehoben wurde, aber immer wieder von Neuem betont werden muss, das Gleiche nicht zu erhoffen; weswegen man auch, wie schon lange bekannt, durch Auspumpen des Blutes unter Erwärmen seine ganze darin lose gebundene Menge niemals gewinnen kan».

Men zou echter zeer verkeerd doen de gasanalyse der ferricyaankalimethode in dit opzicht op één lijn te stellen met pompanalysen, onder verwarming uitgevoerd.

In deze laatste gevallen wordt het bloed tot 40°, zelfs tot 100° verwarmd; tijdens deze bewerking — die meerdere uren duurt — gaat niet zelden een deel van de los gebonden O_2 in vastere binding over, zoodat zij niet verder is uit te pompen. Bovendien bevat reeds het natieve bloed stoffen, die bij kamertemperatuur niet, bij hoogere zeer snel O_2 absorbeeren; o. a. reduceert de *glucose* reeds duidelijk bij lichaamstemperatuur. Een verwerping van elke O_2-bepaling op grond van pompanalysen, die onder verwarming zijn verricht, heeft dus geen zin.

Van zeer groot belang is de invloed van de bacteriën. Wanneer men echter bij normaal bloed onder steriele verhoudingen en bij kamertemperatuur de O_2 door ferricyaankali in vrijheid stelt, is een O_2-verbruik in bovenbedoelden zin hoegenaamd niet te duchten; onder de vele experimenten, die dit bewijzen, noem ik slechts die van PETERS. Voorwaarde is echter dat het bloed versch zij; in oud bloed vormen zich

---

[1]) HÜFNER, Archiv. für (Anat. u.) Physiologie, 1903, pag. 218.

bijna steeds reduceerende stoffen, en niet zelden een groot aantal bacteriën.

De vraag in hoeverre dit toepasselijk is op pathologisch bloed, is zoo in het algemeen niet te beantwoorden, maar dient in elk op zichzelf staand geval te worden beoordeeld. Dit kan op de volgende wijze geschieden. Wanneer men in een differentiaal apparaat aan den eenen kant brengt een hoeveelheid — met O_2 verzadigd — bloed, aan den anderen kant evenveel steriel physiologisch water (eveneens met O_2 verzadigd), dan zullen — wanneer het bloed geen bacteriën of reduceerende stoffen bevat — na het intreden van temperatuurevenwicht en het sluiten der kranen de menisci beiderzijds even hoog blijven staan. Bevat het bloed daarentegen reduceerende stoffen of een groot aantal bacteriën, dan ziet men het veneus worden, en bij het schudden gaat de meniscus aan denzelfden kant naar boven, aan den anderen kant naar beneden, ten teeken dat het veneus geworden bloed O_2 opneemt. Dit verschijnsel ziet men b.v. uitgesproken bij oud, rottend bloed. Treedt er echter na een tijd, grooter dan den duur van het experiment, niet de minste niveauverandering in, dan kan men zeker zijn, dat O_2-absorptie niet plaats vindt in een mate, die aan de nauwkeurigheid der analyse eenige afbreuk doet.

In sommige gevallen kunnen in het pathologische bloed stoffen voorkomen die reeds bij gewone temperatuur O_2 uit de lucht opnemen; hiertoe behooren b.v. de *galkleurstoffen*, die in het serum een concentratie kunnen bereiken, gelijkstaande met die in de menschelijke gal. [1]) Het bleek mij dat in een alkalisch milieu de galkleurstoffen in enkele minuten een niet onbelangrijke hoeveelheid O_2 kunnen absorbeeren. Op de boven aangegeven wijze werden links in een differentiaal apparaat gebracht 4 c.c. serum van een patient, lijdende aan hypertropische cirrhose. Het bilirubinegehalte van dit serum bedroeg 47 eenheden (scala Hymans van den Bergh). Aan dit serum werden toegevoegd 3 c.c. NH_3 0.4 %. Rechts in het

[1]) Hijmans v. d. Bergh, Der Gallenfarbstoff im Blute, 1918, pag. 54.

apparaat werden 4 c.c. NaCl 0.85 % gebracht + 3 c.c. NH_3; na het intreden van temperatuurevenwicht werden de kranen gesloten, en het apparaat geschud. Het bleek nu dat de menisci, die aanvankelijk even hoog (op 120 m.m.) stonden, na enkele minuten niet minder dan 15½ m.m. verschilden; links steeg het niveau tot 128.5, rechts daalde het tot 113 m.m. Daar bij deze verhoudingen k van het apparaat = 3.35, de temperatuur = 15° en de barometerstand = 768 m.m., bedroeg de geabsorbeerde O_2 dus 49.7 m.m³. Aannemende dat in 1 c.c. bloed ± ½ c.c. serum aanwezig was, en de O_2-capaciteit ± 180 m.m³. bedroeg, zou bij de bepaling van het O_2-bindend vermogen aan lakkleurig bloed het bilirubingehalte van het serum een fout hebben kunnen geven van ± 3 % der totale waarde. Bij sera van patienten met pernicieuze anaemie, meent Leschke [1]) eveneens een dergelijke O_2-opname te hebben waargenomen.

Het leek daarom gewenscht uitsluitend te experimenteeren met haemoglobine-oplossingen, verkregen door gewasschen roode bloedlichaampjes lakkleurig te maken. In de erythrocyten komen galkleurstoffen niet voor [2]). In deze oplossingen heb ik op de boven aangegeven wijze nooit eenige zuurstofabsorptie gezien, zoodat ik mag aannemen, dat het gas, volledig door ferricyaankali uitgedreven, ook quantitatief is gemeten.

Het ijzer. Van niet minder groot belang is de vraag:

Bevat het bloed ijzer, dat geen deel uitmaakt van de bloedkleurstof? Aanvankelijk nam men met Hoppe-Seyler algemeen aan, dat zich in het bloed geen ander ijzer bevond dan dat van het haemoglobine. In latere jaren zijn daartegen verschillende bedenkingen ingebracht. Socin [3]), die uitvoerig de wijze bestudeerde, waarop ijzer bij het paard wordt geresorbeerd, zag dat het serum, mits haemoglobinevrij, nooit eenig spoor ijzer bevatte, ook niet bij toediening van ijzerpraeparaten per os;

---

[1]) Leschke, Deutsche mediz. Wochenschrift, 1921.

[2]) Hijmans v. d. Bergh, l.c. pag. 26 en 27.

[3]) Socin, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 15, 1891.

deze onderzoeker veraschte bij iedere proef niet minder dan 200—500 c.c. serum, en verkreeg daarna met zwavelammonium of rhodaankali een negatieve ijzerreactie. Andere schrijvers (MALLET[1]), JOLLES en WINKLER[2])) vonden op deze wijze sporen ijzer in het serum. De door hen gevonden minimale hoeveelheden zijn echter geheel te verwaarloozen tegenover het totale ijzergehalte van het bloed; verder dient rekening te worden gehouden met het feit dat het uiterst moeilijk, om niet te zeggen praktisch onmogelijk, is, geheel haemoglobine-vrij serum te krijgen, zoodat de veronderstelling niet te gewaagd is dat die sporen ijzer afkomstig zijn geweest van de veraschte bloedkleurstof. Bij onderzoek van sera (zonder verassching) met zoutzure ferrocyaankali, zwavelammonium of rhodaankali heb ik in de hier beschreven gevallen geen mineraal ijzer kunnen aantoonen, ook niet bij ziekteprocessen die met sterke bloedafbraak gepaard gingen. Het vinden van ijzer in het serum na verassching bewijst ook hierom niet de aanwezigheid van mineraal ijzer, omdat in pathologische gevallen *zeer dikwijls* in het serum haematine wordt aangetroffen.

Bij de reeds boven geciteerde onderzoekingen zag SOCIN dat de leucocyten vrij veel ijzer bevatten. QUINCKE heeft aangetoond dat oude erythrocyten door de leucocyten worden gephagocyteerd, waarbij het haemoglobine wordt omgezet in een ijzerhoudend pigment. Op grond van deze feiten meent EHRLICH[3]), dat wel physiologisch, niet pathologisch het ijzer een maatstaf kan zijn van het haemoglobinegehalte; onder het microscoop ziet men bij anaemieën aan de roode bloedlichaampjes ijzerreacties, hetgeen beteekent de aanwezigheid van ijzer, dat geen bestanddeel is van het haemoglobine. Ander ijzer kan volgens hem nog in een niet direct aantoonbare ijzeralbuminaatverbinding in de morphologische elementen aanwezig zijn; verder is bekend dat bij anaemieën het ijzer-

---

[1]) MALLET, Thèse de Genève, 1901.

[2]) JOLLES en WINKLER, Archiv. für exp. Path. 1900, Bd. 44.

[3]) EHRLICH-LAZARUS, Die Anaemien, NOTHNAGEL's Handbuch, deel VIII, pag. 12.

gehalte van alle organen zeer sterk verhoogd is «Aus diesen Hinweisen ergibt sich, wie unzuverlässig die Berechnung des Hämoglobingehaltes aus dem Esengehalt in pathologischen Fällen ist.» Ook KRAUS[1]) meent op analoge gronden dat men bij pathologisch bloed geen konstante verhouding mag verwachten tusschen ijzergehalte en lichtabsorptie.

Dat bij de beoordeeling van mijn resultaten de eventueele aanwezigheid van dit z.g. «slakkenijzer» geen rol heeft kunnen spelen, blijkt bij volgende overwegingen. Het ijzer waarvan EHRLICH en KRAUS spreken, geeft zwartkleuring met zwavelammonium. Alle ijzer, dat in reactie treedt met $(NH_y)_2S$, wordt uit een ammoniakale oplossing, bij overmaat van deze base, quantitatief neergeslagen als hydroxyd. Zooals nader zal blijken, bij het mededeelen der klinische waarnemingen, werd bij haemolytische processen soms meer ijzer gevonden dan overeenkwam met de O_2-capaciteit. Dit verschil bedroeg nooit meer dan 0.04 m.g. Fe per c.c. bloed. Wanneer men nu aan 10 c.c. normaal bloed of serum toevoegt 0.5 m.g. ijzer als neutraal oxalaat — zoodat deze verkregen emulsie met zure ferrocyaankali duidelijk blauwkleuring geeft — dan wordt bij toevoeging van 20 c.c. NH_3 0.4 % alle ijzer neergeslagen. Deze praecipitatie verloopt niet momentaan, maar duurt eenige oogenblikken, en kan eerst als voleindigd worden beschouwd als de oplossing na centrifugeeren volkomen helder is geworden. In dat geval geeft de oplossing geen ijzerreacties meer, het centrifugaat daarentegen wel. Mineraalijzer zou dus, ingeval het aanwezig zou zijn, in dit ammoniakaal milieu volkomen worden neergeslagen. De verschillen, gevonden tusschen O_2-capaciteit en ijzergehalte kunnen dus onmogelijk worden verklaard uit de aanwezigheid van mineraal ijzer.

[1]) KRAUS, KOSSLER en SCHOLZ, Archiv. für exp. Path. Bd. 42, 1899.

V.

De specifieke zuurstofcapaciteit.

De belangrijke vraag van het maximaal O_2-bindend vermogen van het haemoglobine heeft reeds meer dan een halve eeuw de physiologen en clinici bezig gehouden. De eerste waarnemingen omtrent de hoeveelheid O_2 die 1 gram haemoglobine maximaal kan binden, zijn afkomstig van HOPPE-SEYLER [1]). Door het uitpompen van bloedkristallen, deels opgelost en deels gesuspendeerd in water, verkreeg hij op 1 gram haemoglobine 1.68 c.c. O_2 [2]); werden de kristallen uitgeperst met filtreerpapier dan leverden ze 0.66 c.c., droog kristalpoeder gaf 0.52 c.c. Aanvankelijk verklaarde hij deze verschillen aldus dat de O_2 absorptie tot op zekere hoogte een functie was van de concentratie in dien zin, dat de O_2-absorptie steeg bij toenemende verdunning; later gaf hij deze verklaring op en meende hij, dat de O_2 des te moeilijker door het vacuum was te verwijderen naarmate de kristallen droger waren, hetzij dat de verbinding bij het verwarmen bestaan blijft, hetzij dat deze zich onder nauwere verbinding met de O_2 ontleedt; waarschijnlijk zou beide plaats grijpen. DYBKOWSKY [3]) die de CO-verdringing van BERNARD toepaste verkreeg in één geval 1.55 c.c., in twee andere gevallen veel lagere waarden, die echter volgens hem niet meegerekend kunnen worden wegens de ontwikkeling van CO_2. PREYER [4]) die zuurstofvrije haemoglobine-oplossingen uit een bekend volume zuurstof liet absorbeeren en het overblijvende gas bepaalde, vond resp. 1.80, 1.72 en 1.62 c.c. Aangenomen

[1]) HOPPE-SEYLER, Virchow's Archiv, Bd. XXIX, 1864, p. 598; HOPPE-SEYLER's Mediz. chem. Untersuchungen, Tübingen, 1866—1868.

[2]) Alle verder te noemen waarden zijn bedoeld bij 0° en 760 m.m.

[3]) DYBKOWSKY, HOPPE-SEYLER's Medizin. chem. Untersuchungen, 1866—1868, pag. 117.

[4]) PREYER, Dissertatie Bonn 1866, en Centralblatt für die mediz. Wiss. 1866.

dat 1 mol. haemoglobine 1 mol. O_2 zou binden, moest volgens hem — gegeven het moleculairgewicht — theoretisch 1 gram haemoglobine 1.71 c.c. O_2 absorbeeren. Hij meende te mogen besluiten, dat dit practisch ook inderdaad het geval was; van alle vroegere waarnemingen beschouwde hij alleen de hoogste als betrouwbaar, nl. de waarde 1.68 van HOPPE-SEYLER, en 1.55 van DYBKOWSKY; van zijn eigen resultaten nam hij alleen de 3 genoemde (hij spreekt van veel mislukte proeven!), en als gemiddelde van deze vijf kreeg hij 1.67 c.c., «toevallig» juist de theoretisch verlangde. [1])

Geheel buiten beschouwing bleven daarbij de te lage waarden van STRASSBURG [2]) — die dit zuurstoftekort zelf toeschreef aan O_2-verbruik tijdens de analyse — en die van WORM MÜLLER [3]) die bij zijn studie van de dissociatie van het oxyhaemoglobine de te lage waarden der maximale binding verklaart uit een te onnauwkeurige haemoglobine-bepaling. QUINQUAUD [4]), die aannam dat het O_2-bindend vermogen van het bloed evenredig was met het haemoglobine-gehalte, berekende uit zijn waarnemingen dat 1 gram haemoglobine bond 2.08 c.c. O_2. Hij kwam tot dit te veel hooge cijfer door de dubbele fout dat hij eenerzijds met het procédé-SCHÜTZENBERGER de O_2 bepaalde, anderzijds voor de berekening van het haemoglobine-gehalte de veel te hooge ijzerwaarde van HOPPE-SEYLER (0.42 %) gebruikte; hij besloot niettemin tot goede overeenstemming met de resultaten van PREYER.

De wijze waarop men aldus was gekomen tot de aanname van een konstant O_2-bindend vermogen van 2 atomen zuurstof op 1 atoom ijzer (1 mol. haemoglobine) was echter weinig bevredigend, zoodat dit vraagstuk moeilijk als definitief opgelost kon worden beschouwd. Het werd daarom opnieuw aangevat door

---

[1]) PREYER, Die Blutkristalle, Jena, 1871.

[2]) STRASSBURG, Pflüger's Archiv Bd. IV, 1871.

[3]) WORM MÜLLER, Ber. der kön. sächs. Gesellschaft der Wissenschaften. Mathematisch-physische classe. Band 22, 1870.

[4]) QUINQUAUD. Bulletin de la soc. chim. de Paris, T. XX, 1873 en Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, T LXXVI, 1873.

HÜFNER[1]) die overigens volkomen instemt met PREYER, als deze een groot aantal waarnemingen buiten beschouwing laat, en uit het overblijvende kleine aantal (die nog vrij veel uiteenloopen) het gemiddelde neemt. De verdere studie van dit vraagstuk is grootendeels beheerscht door den scherpen strijd tusschen de meeningen van twee onderzoekers: HÜFNER en BOHR.

Nadat HÜFNER de spechophotometrische methode had uitgewerkt tot een naar zijn oordeel zeer nauwkeurige haemoglobinbepaling[2–5]), hebben hij en zijn leerlingen in een lange reeks onderzoekingen trachten aan te toonen, dat ijzergehalte, lichtabsorptie en zuurstofbindend vermogen van het haemoglobine drie grootheden waren met onderling konstante verhouding, waaruit hij besloot dat het haemoglobine — althans voor zoover betrof de ijzerhoudende gekleurde kern — onder normale omstandigheden één en dezelfde stof was niet alleen bij verschillende individuen van dezelfde soort, maar ook bij verschillende species (HÜFNER [6]), OTTO [7]), MARSHALL [8]), KÜLZ [9]), BÜCHELER [10]), HÜFNER [11]), HÜFNER en KÜSTER [12]), HÜFNER [13])).

Tegen deze opvatting is BOHR in 1891 te velde getrokken. Hij meende er op te moeten wijzen dat, in afwijking van de heerschende meeningen, er verschillende modificaties van het hae-

---

[1]) HÜFNER, Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 1, 1877—'78, pag. 317 en 386.

[2]) HÜFNER, Journal für praktische Chemie, Bd. 16, 1877.

[3]) HÜFNER, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 3, 1879.

[4]) VON NOORDEN, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 4, 1879.

[5]) HÜFNER, Zeitschrift für physikalische Chemie, Bd. 3 1889. Hier geeft hij de laatste constructie van zijn spectrophotometer.

[6]) HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 1, 1877.

[7]) HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883.

[8]) OTTO, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883 en Pflüger's Archiv, 1883, Bd. 31.

[9]) KÜLZ, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883.

[10]) BÜCHELER, Dissertatie Tübingen, 1883 en bij HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1884, Bd. 8.

[11]) HÜFNER, Archiv. f. Physiologie, 1894.

[12]) HÜFNER en KÜSTER, Arch f. Physiol. Suppl. 1904.

[13]) HUFNER, Arch. f. Physiol. 1903.

moglobine bestonden («α-, β-, γ-, δ-haemoglobine») onderling verschillend in lichtabsorptie, ijzergehalte en O_2-bindend vermogen.

Deze modificaties zouden zich zonder ingrijpende bewerking in elkaar laten overvoeren, en in verschillende verhoudingen naast elkaar aanwezig zijn zoowel in een oplossing van haemoglobinekristallen als in het natieve bloed. Nog afgezien van het feit dat de O_2-absorptie in hooge mate zou afhangen van de concentratie, zou de *specifieke zuurstofcapaciteit* — waaronder hij verstond de verhouding van respiratorische capaciteit tot ijzergehalte, of wel het aantal c.c. O_2 (gemeten bij 0° en 760 m.m.) maximaal gebonden per gram ijzer — wisselen niet alleen bij verschillende diersoorten, maar zelfs bij verschillende individuen van dezelfde soort, bij hetzelfde individu onder verschillende omstandigheden, ja zelfs bij hetzelfde individu op hetzelfde oogenblik in verschillende vaatsystemen. IJzergehalte en lichtabsorptie zouden volgens Bohr dus allerminst een maatstaf kunnen zijn voor de berekening van de absolute hoeveelheid haemoglobine; ja zelfs tusschen deze beide grootheden zou geen konstante verhouding bestaan, zoodat voor de bepaling van de specifieke O_2-capaciteit de lichtabsorptie hoogstens als een aanvullende methode kon worden beschouwd. De voorstelling, dat de kleurstof zich konstant verhoudt met betrekking tot de maximale zuurstofabsorptie, diende dus te worden opgegeven. Alleen op deze wijze kon hij zich de groote, door hem en anderen waargenomen, verschillen verklaren, niet door analytische fouten, daar we de zuurstof en het ijzer zeer nauwkeurig kunnen doseeren. Hij ging zelfs zóó ver, aan te nemen dat niet alleen het haemoglobine als geheel, maar zelfs de gekleurde kern wisselen zou in samenstelling.

De door hem gevonden verschillen zijn aldus samen te vatten:

1°. In het arterieele bloed van verschillende individuen van dezelfde soort is de specifieke zuurstofcapaciteit zeer wisselend.

2°. In het stroomende bloed uit het onderste gedeelte van de v. cava is de S. O. C. geringer dan in het gelijktijdig aan het dier ontnomen arterieele bloed.

3°. Door bloedverlies neemt de S. O. C. van het arterieele bloed af.

4° Door het inademen van zuurstofarme lucht daalt de S. O. C. van het arterieele bloed, die van het veneuze bloed blijft onveranderd; in asphyctisch bloed is de S. O. C. verhoogd.

Behalve op eigen onderzoek steunde Bohr op de uiteenloopende waarden van Hoppe-Seyler, Dybkowsky, Strassburg, Setschenow [1]); op het feit dat Preyer spreekt van vele mislukte proeven; op de onderzoekingen van Krüger [2]) die zag dat herhaalde omkristalliseering invloed had op de lichtabsorptie, wat Bohr opvatte als een gefractionneerde scheiding van verschillende haemoglobinen; en eindelijk vooral op de experimenten van Hüfner, die in één reeks bepalingen (van de O_2 per gram haemoglobine) waarden kreeg, varieerende tusschen 1.57 en 1.31 (verschil 16 %), in een andere tusschen 2.21 en 1.45 (verschil 34 %), in nog een andere tusschen 2.37 en 1,67 c.c. (verschil 30 %). «Im Ganzen findet man also in der Litteratur im höchsten Grade wechselnde Angaben über die Sauerstoffabsorption des Hämoglobins. Für unseren Zweck sind besonders die Untersuchungen über das Pferdehämoglobin von Werth und unter ihnen besonders die von Hüfner angeführten Versuche. Wenn ein geübter Untersucher, wie der genannte Forscher, mittels guter anerkannter Methoden Abweichungen zwischen den einzelnen Bestimmungen antrifft, die ca. ein Drittel des ganzen Werthes betragen, ist hiermit so gut wie bewiesen, dass der Stoff, mit dem er gearbeitet, keine constante Zusammensetzung gehabt hat.»

Bohr hechtte aan de door hem waargenomen variabiliteit van de bloedkleurstof een groote biologische beteekenis. Zij opende naar zijn meening voor de weefselcellen de mogelijkheid, op elk gegeven oogenblik binnen zekere grenzen de in

---

[1]) Dybkowsky, l.c.

[2]) Strassburg, l.c.

[3]) Setschenow, Pflüger's Archiv, Bd. 22, 1880.

[4]) Krüger, Zeitschr. für Biologie, Bd. 24, 1888.

het plasma beschikbare hoeveelheid O_2 zelfstandig en naar behoefte te regelen. Dit begrip van auto-regulatie der O_2-voorziening door de weefsels, door middel van een «Umstimmung» van het haemoglobine tijdens de capillaircirculatie, is de leidende gedachte van BOHR's onderzoekingen over de specifieke zuurstof-capaciteit.

Het behoeft nauwelijks gezegd, dat HÜFNER en zijn school op de mededeelingen van BOHR het antwoord niet zijn schuldig gebleven. Volgens HÜFNER heeft BOHR gewerkt met mengsels van oxyhaemoglobine en zijn omzettingsproducten, blijkens de daling van het O_2-bindend vermogen, de veranderingen in de lichtverdeeling van het spectrum, en de wijze waarop hij de stof heeft verkregen. Vindt men bij een met lucht verzadigde bloedoplossing het photometrische quotient meer dan 2.5 % lager dan de normale waarde, dan bevat ze reeds omzettingsproducten, en moet men haar volgens HÜFNER, als onbruikbaar voor gasanalytisch onderzoek, wegwerpen. Door nieuwe waarnemingen heeft hij getracht zijn theorie nieuwen steun te verleenen. De oplossingen van versch runderbloed of oxyhaemoglobine-kristallen werden gereduceerd door hydrazine, daarna met CO verzadigd en het geabsorbeerde gas gemeten; de hoeveelheid kleurstof werd photometrisch bepaald. Na het aanbrengen van eenige correcties, wordt — met weglating van twee belangrijk afwijkende resultaten — van de 6 overblijvende het gemiddelde genomen, dat overeenkomt met de theoretisch verlangde waarde 1.34 c.c. Ook uit het opnieuw bepaalde ijzergehalte (0.336 %) berekent HÜFNER een CO-capaciteit van 1.34 c.c., waarna hij besluit met de woorden: «Die Blutfarbstoffe einer Reihe höherer Tiere haben wasserfrei sämmtlich das gleiche Molekulargewicht und damit auch die gleiche Capacität für Kohlenoxyd und Sauerstoff.» [1]) Later [2]) heeft hij deze opvatting nogmaals trachten te steunen door een drietal waarnemingen waarbij het kooloxyd werd uitgedreven door ferricyaankali. Verder toonde hij in samen-

---

[1]) HÜFNER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, 1894.
[2]) HÜFNER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, 1903.

werking met KÜSTER[1]) aan, dat haemochromogeen steeds 1 mol. CO bindt op 1 atoom ijzer; deze experimenten vormden (evenals die van PREGL[2])) een bevestiging van de onderzoekingen van NENCKI en zijn leerlingen, die voor het haemochromogeen tot een konstante samenstelling hadden besloten, hetgeen door BOHR eveneens in twijfel was getrokken.

BOHR en HÜFNER zagen dus beiden in de vereeniging van de bloedkleurstof met O_2 en CO een chemisch proces; beiden — ook HÜFNER, afgezien van het drietal waarnemingen in 1903 — vonden belangrijke verschillen in de individueele bepalingen. De interpretatie der waargenomen feiten was echter geheel verschillend. HÜFNER verwierp bij voorbaat elke bepaling waarbij het photometrisch quotient meer dan 2.5% was beneden de normale waarde; dit zou een teeken zijn dat zich omzettingsproducten als methaemoglobine hebben gevormd, hetzij doordat het bloed niet versch is, hetzij door de bewerkingen die het heeft ondergaan. Hij ging daarbij dus uit van de onbewezen veronderstelling, dat bij «gezonde» dieren, onder physiologische verhoudingen, in de bloedbaan nooit omzettingsproducten van de bloedkleurstof worden aangetroffen, maar dat deze steeds buiten het organisme in het ontnomen bloed worden gevormd. Sterk afwijkende waarden werden niet zelden geheel weggelaten, waarna uit de overblijvende het gemiddelde werd genomen. HÜFNER en zijn school schrijven de waargenomen verschillen dus eenvoudig toe aan analytische fouten. De vraag rijst evenwel, of bij zoo uiteenloopende cijfers het nemen van een gemiddelde geoorloofd is.

BOHR daarentegen stelde zich op een geheel ander standpunt. Elk experiment had volgens hem zijn waarde; het mocht niet worden weggelaten alleen omdat het schijnbaar in strijd was met de overige feiten of met heerschende meeningen. Dit beginsel was vroeger door BERNARD o. a. aldus geformuleerd: «C'est là une critique essentiellement vicieuse que celle qui consiste à exclure des faits dits

[1]) HÜFNER en KÜSTER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, Suppl. 1904.
[2]) PREGL, Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd 44. 1905.

négatifs au nom d'autres faits dits positifs. Il n'y a pas de faits négatifs, il n'y a que de faits mal interprétés ou incomplétement observés; il faut par de nouvelles expériences compléter ou rectifier l'interprétation mais il ne faut rejeter aucun fait, il faut tous les admettre, car ils ont tous leur raison d'être, et la critique consiste à trouver une interprétation qui les comprenne tous en leur assignant leur valeur et leurs rapports». [1]) Bohr betrok dus *al* zijn waarnemingen in zijn beschouwingen. Daar hij evenwel de nauwkeurigheid van zijn techniek overschatte, en daarom meende de verschillen niet te mogen toeschrijven aan analytische fouten, moest hij aannemen het bestaan van *mengsels* van verschillende haemoglobinen, onderling afwijkend in hun specifieke zuurstofcapaciteit.

Na Bohr's publicaties kwamen van verschillende zijden mededeelingen die zijn opvattingen schenen te steunen. (Cherbuliez [2]), Abrahamson [3]), Tobiesen [4])). Daarentegen meenden Kraus, Kossler en Scholz [5]) in hun resultaten — die varieerden tusschen 91 en 197 c.c. O_2 per 100 gram haemoglobine, spectrophotometrisch bepaald — geen reden te vinden om een wisselende O_2-capaciteit aan te nemen. Bohr [6]) zag evenwel juist in deze onderzoekingen een bevestiging van zijn meening; Hüfner [7]) merkte op, dat dergelijke schommelingen alleen zijn te verklaren uit grove fouten bij de uitvoering. Haldane en Smith [8]) vonden bij gefractionneerd centrifugeeren van hetzelfde bloedmonster in de afzonderlijke porties met verschillend specifiek gewicht een verschillende specifieke O_2-capaciteit, zonder dat hier echter van verschillen in een bepaalde richting kon worden gesproken. De onderzoekingen van de Saint-

---

[1]) Bernard, Liquides de l'organisme, I, pag. 54.

[2]) Cherbuliez, Thèse de Paris, 1890.

[3]) Abrahamson, geciteerd volgens Bohr, Nagel's Handbuch I.

[4]) Tobiesen, Skand. Arch. f. Physiologie, Bd. 6, 1895.

[5]) Kraus, Kossler en Scholz, Archiv. für exp. Pathol. u. Pharmakologie, Bd. 42. 1899.

[6]) Bohr, Nagel's Handbuch, I, 1, 1905.

[7]) Hüfner, Arch. f. (Anat. u.) Physiologie, 1903.

[8]) Haldane en Smith, Journal of Physiology, Vol. XVI, 1894.

MARTIN[1]) wezen evenmin op een konstante specifieke O_2capaciteit. Zijn eerste waarnemingen wisselden tusschen 1.70 en 1.08 c.c. O_2 per gram haemoglobine (de S.O.C. bedroeg resp. 507, 367, 420, 328, 322.) Bij verder onderzoek werden waarden verkregen die eveneens dikwijls van het theoretische cijfer 1.34 c.c. O_2 (resp. S.O.C. = 401) afweken en wel in dien zin, *dat de afwijkende resultaten steeds lager, nooit hooger dan 1.34 waren*[2]). De afwijkingen konden volgens den schrijver onmogelijk worden verklaard uit technische fouten, daar de spectrophotometrie waarden geeft, nauwkeurig in overeenstemming met het ijzergehalte[3]). Als oorzaak van de lage O_2-capaciteit neemt hij in die gevallen niet aan een omzetting in methaemoglobine (het photometrisch quotient $\frac{E'}{E}$ vertoonde nl. geen belangrijke daling) maar een gestoorde haematopoëse[4]): bij regeneratie zou een stijging der O_2-capaciteit intreden, omdat nieuw gevormd haemoglobine meer O_2 zou binden dan oud. ERBEN[5]) nam bij pernicieuze anaemie een belangrijk verhoogd ijzergehalte waar, en schreef dit toe aan de aanwezigheid van ijzerverbindingen, andere dan haemoglobine. Zeer de aandacht verdienen de onderzoekingen van ARON en MÜLLER[6]), die dikwijls in versch bloed van oogenschijnlijk gezonde dieren een daling zagen van het photometrisch quotient, die veel verder ging dan de experimenteele fouten. Ze schreven dit toe aan de aanwezigheid van geringe hoeveelheden methaemoglobine in het bloed en meenden op deze wijze, althans gedeeltelijk, het verschil in opvatting tusschen BOHR en HÜFNER te kunnen verklaren: BOHR bepaalde nl. de lichtabsorptie slechts in één gebied, en juist daar waar

---

[1]) DE SAINT-MARTIN, Journal de phys. et de path. générale, I, 1899.

[2]) DE SAINT MARTIN, Journal de phys. et de path. générale, II, 1900; Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, CXXXI, 1900.

[3]) DE SAINT-MARTIN, Comptes rendus de la Societé de biologie, LIII, 1901.

[4]) DE SAINT-MARTIN, Journ. de phys. et de path. générale, II, 1900.

[5]) ERBEN, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 40. 1900.

[6]) ARON en MÜLLER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, suppl. 1906.

bij aanwezigheid van methaemoglobine de extinctie E′ het sterkst daalt; vandaar dat BOHR besloot tot een wisselende verhouding tusschen lichtextinctie, ijzergehalte en O_2-bindend vermogen. HÜFNER daarentegen bepaalde de lichtabsorptie in twee spectraalgebieden, en bij een te laag quotient verwierp hij de bepaling op grond van methaemoglobine-vorming *buiten het lichaam;* door het buitensluiten van methaemoglobine-houdend bloed vond hij de verhouding dier drie grootheden konstant. ARON en MÜLLER namen dus aan dat de verhouding tusschen lichtabsorptie en ijzergehalte reeds in «normaal» bloed van «gezonde» dieren kan veranderen door de aanwezigheid van een lichaam, dat op een gelijk ijzergehalte een geringere O_2-binding vertoont en een minder intensieve lichtabsorptie in het gebied $\lambda = 545\ \mu\mu$, in zijn eigenschappen dus veel gelijkt op methaemoglobine. Deze opvatting scheen belangrijke steun te krijgen, toen het ARON[1]) gelukte aan te toonen, dat bloed, versch een te lage waarde gevende voor $\frac{E'}{E}$, na zelfreductie en daarop volgende oxygenatie een belangrijke stijging in dit quotient kan vertoonen. Dit kon alleen worden verklaard door reductie van het methaemoglobine en daarop volgende oxydatie tot oxyhaemoglobine.

Ook ENGELMANN[2]) vond bij het haemoglobine van oogenschijnlijk «gezonde» dieren verschillen in optische eigenschappen.

Volgens BORNSTEIN en MÜLLER[3]) die na aderlating bij een tweetal katten een specifieke zuurstofcapaciteit zagen en zich op het standpunt van BOHR stelden, kan echter ARON's opvatting niet alles verklaren.

In dien tijd heerschte dus op dit gebied allerminst eenstemmigheid, en de onzekerheid werd nog grooter, toen ver-

---

[1]) ARON, Bioch. Zeitschrift, Band 3, 1907.

[2]) ENGELMANN, Verhandlungen der physiol. Gesellsch. zu Berlin 1905/1906. Volgens Aron zouden Engelmann's waarnemingen overeenstemmen met de zijne; Engelmann's artikel was niet tot mijn beschikking.

[3]) BORNSTEIN en MÜLLER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, 1907.

schillende onderzoekers met een minder goede techniek zeer uiteenloopende resultaten kregen bij de vergelijking van het ijzer- resp. haematinegehalte met het kleurend vermogen van het haemoglobine als zoodanig. Sommigen bepaalden het ijzergehalte volgens de methode van JOLLES, en vergeleken dit met het colorimetrisch bepaalde haemoglobinegehalte; uit de gevonden verschillen besloten zij tot het bestaan van «ijzerarme» en «ijzerrijke» haemoglobinen. Anderen vergeleken het volgens Gowers (INAGAKI[1]) of Fleischl-Miescher (SAITO[2]), OERUM[3]) bepaalde haemoglobinegehalte met de haematinewaarden volgens Sahli.

Het behoeft nauwelijks te verwonderen, dat de meeningen onder invloed van al deze tegenstrijdige waarnemingen gestuwd werden in de richting van BOHR. Er was echter nog een andere reden, waarom deze opvattingen zoo gereedelijk ingang vonden in de pathologie: de onderstelling van een specifieke O_2-capaciteit, wisselend naar de behoefte der weefsels zooals BOHR zich dit dacht, bood — in tegenstelling met de eenvoudige theorie van HÜFNER — ruimschoots veld aan speculatieve hypothesen, die verband zochten tusschen de ziekteverschijnselen en de specifieke O_2-capaciteit van het bloed, en die ten doel hadden die verschijnselen (resp. hun compensatie door het organisme) te verklaren. In dit verband zij herinnerd aan de onderzoekingen van MOHR[4]), die bij dieren posthaemorrhagisch in enkele dagen een zeer belangrijke stijging der specifiieke O_2-capaciteit zag intreden (van 126 op 200 c.c. O_2 per 100 gram haemoglobine) MOHR meende — zij het dan ook onder alle voorbehoud — uit deze feiten het recht te mogen putten, in een stijging der specifieke O_2-capaciteit een compensatieverschijnsel te zien bij anaemieën. Een tegenhanger van deze waarnemingen wordt gevonden in die

---

[1]) INAGAKI, Zeitschrift f. Biologie, Bd. 49, 1907.
[2]) SAITO, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 49, 1907.
[3]) OERUM, Deutsche med. Wochenschrift 1908, No. 28.
[4]) MOHR, Zeitschr. f. exp. Path. u. Therapie, Bd. 2, 1906.

van SENATOR[1]), MOHR[2]) en LOMMEL[3]), die bij de polycythaemie een daling der specifieke O_2-capaciteit zagen, welke daling door LOMMEL en BENCE[4]), als het essentieele der ziekte werd beschouwd: compensatorisch zou het organisme het verlies, ontstaan door een qualitatieve degeneratie van het haemoglobine, trachten te dekken door een quantitatieve overproductie van de bloedkleurstof, ten einde een voldoend O_2-transport naar de weefsels te waarborgen. Deze theorie is geheel verlaten sinds de onderzoekingen van MORAWITZ en RÖHMER[5]), BUTTERFIELD[6]), MASING en SIEBECK[7]); ook andere schrijvers (PARKINSON[8]), BERGMANN en PLESCH[9]), RÖVER[10]), ADOLF LOEWY[11]) hebben haar niet bevestigd gevonden.

De meeningen omtrent de specifieke zuurstofcapaciteit hebben in enkele jaren een belangrijke kentering ondergaan. Een belangrijke stoot daartoe werd gegeven door MORAWITZ en RÖHMER, die aantoonden dat niet alleen bij normale personen (zooals door HALDANE en SMITH[12]) was waargenomen en door BARCROFT en MORAWITZ[13]) bevestigd) maar ook bij de meest verschillende vormen van zware anaemie en bij de polycythaemie een parallelisme bestaat tusschen maximale zuurstofcapaciteit en kleurend vermogen (bepaald als CO-haemoglobine volgens HALDANE). Zij meenen dan ook niet met BOHR te moeten aannemen het optreden van compensatorische haemoglobineveranderingen bij anaemieën, aan den anderen kant willen ze evenmin met HÜFNER beweren dat

---

[1]) SENATOR, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 60, 1907.
[2]) MOHR, Verhandl. d. Kongr. f. innere Med. 1905.
[3]) LOMMEL, Deutsches Archiv für klin. Med., Bd. 87, 1906 en 92, 1907.
[4]) BENCE, Deutsche med. Wochenschrift, 1906, No. 36 en 37.
[5]) MORAWITZ en RÖHMER, Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. 94, 1908.
[6]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 62, 1909.
[7]) MASING en SIEBECK, Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. 99, 1910.
[8]) PARKINSON, Lancet 1912 II.
[9]) BERGMANN en PLESCH, Münch. med. Woch. 1911 II.
[10]) RÖVER, Münch. med. Woch. 1911 II.
[11]) LOEWY, Berl. klin. Woch. Schrift 1909 II.
[12]) HALDANE en SMITH, Journal of Physiology, vol. XXV, 1900.
[13]) BARCROFT en MORAWITZ, Deutsches Archiv, Bd. 93, 1908.

haemoglobine één stof is met een konstante samenstelling; de verhouding van kleurend vermogen tot lichtextinctie en ijzergehalte kan zeer goed wisselend zijn. Daarvoor pleit naar hun meening, dat zij weliswaar bij anaemieën gewoonlijk het haematinegehalte (SAHLI) zagen dalen evenredig met het haemoglobinegehalte (HALDANE), *maar in sommige gevallen in mindere mate.* Dat zou volgens de schrijvers wijzen op de vorming van een «haematinrijkere, globinarmere» kleurstof.

Van zeer grooten invloed zijn in de volgende jaren gegeweest de onderzoekingen van BUTTERFIELD [1]), MASING en SIEBECK [2]) en PETERS [3]).

BUTTERFIELD heeft bij runder- en menschenbloed vergeleken het ijzergehalte, de lichtextinctie en de CO-capaciteit. Het haemoglobine werd met de beste spectrophotometrische methoden bepaald, de CO-capaciteit langs absorptiometrischen weg na reductie met hydrazine zooals door HÜFNER is aangegeven; het ijzer werd na vochtige verassching getitreerd in zwavelzure oplossing met $KMnO_4$. Zijn waarden voor de specifieke O_2-capaciteit, ook in pathologische gevallen, schommelen tusschen 384 en 409 (gemiddeld 399), zoodat hij besluit, *dat lichtextinctie, ijzergehalte en gasbindend vermogen van het menschenhaemoglobine binnen de grens der methodische fouten konstante grootheden zijn, niet alleen onder physiologische verhoudingen, maar ook bij bloedziekten als polycythaemie, pernicieuze anaemie, chlorose, skorbut en pseudoleukaemie.*

Hierbij sluiten zich aan MASING en SIEBECK. Ook deze onderzoekers komen tot de gevolgtrekking dat het normale en pathologische menschelijk bloed met hun methoden een tamelijk konstant zuurstofbindend vermogen vertoont.

Eindelijk heeft PETERS bij verschillende dieren (rund, kat, schaap, varken, hond) nagegaan de specifieke O_2-capaciteit, waarbij de O_2 werd bepaald in BARCROFT's differentiaal apparaat (telkens 16 waarnemingen), het ijzer getitreerd

---

[1]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 62, 1909.

[2]) MASING en SIEBECK, Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. 99, 1910.

[3]) PETERS, Journal of Physiology, vol. XLIV, 1912.

met titaanchloruur. Zijn techniek had zeer groote voordeelen boven die van zijn voorgangers die gewoonlijk slechts één, hoogstens enkele gasbepalingen konden verrichten, die bovendien meerdere uren duurden. PETERS' waarden, gecorrigeerd door BURN [1]) in verband met de ijking der apparaten, schommelen tusschen 394 en 411, en geven als gemiddelde *401*. Deze resultaten zijn zóó overtuigend, *dat er geen twijfel meer aan kan bestaan, of het normale, onveranderde oxyhaemoglobine van verschillende dieren heeft een konstante specifieke zuurstofcapaciteit van 401, d.w.z. er zijn steeds 2 atomen zuurstof op 1 atoom ijzer maximaal gebonden.* In 1920 zijn deze waarnemingen bevestigd door WERTHEIMER [2]), die in alkalische oplossing een gemiddelde O_2-capaciteit vond van 1.33 c.c. per gram haemoglobine (spectrophotometrisch bepaald), in neutrale oplossing 1.26 c.c., dus ongeveer 6 % minder, waarvoor de schrijver geen verklaring kan geven. Meer en meer neigt men er toe, met BUTTERFIELD en MASING en SIEBECK ook in pathologische gevallen, b.v. bij bloedziekten, een konstante specifieke O_2-capaciteit aan te nemen. Deze opvatting is echter niet algemeen; zoo is PLESCH [3]) ook nadien blijven staan op het vroeger [4]) door hem ingenomen standpunt dat ijzergehalte, lichtabsorptie en O_2-capaciteit een wisselende verhouding vertoonen. Daarenboven heeft zich bij de bestaande scholen van BOHR en HÜFNER — die beide een chemische binding aannemen — een derde gevoegd, die in de vereeniging van haemoglobine en O_2 een *adsorptieverschijnsel* ziet (MANCHOT [5])). Volgens MANCHOT, die hierover uitvoerige onderzoekingen heeft verricht, waarop hier niet nader zal worden ingegaan, is de hoeveelheid O_2 die

---

[1]) BURN, Journal of Physiology, Vol. XLV 1913; zie ook BARCROFT, Respiratory function of the blood, 1914, pag. 7.

[2]) WERTHEIMER, Bioch. Zeitschr. Bd. 106, 1920.

[3]) PLESCH, Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. 99, 1910.

[4]) PLESCH, Hämodynamische Studien, Hirschwald, Berlin, 1909.

[5]) MANCHOT, Sitz. Ber. Phys. med. Ges., Würzburg 1909; Liebigs Annalen Bd. 370, 1909; Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 70, 1910; Bioch. Zeitschr. Bd. 43, 1912; Liebigs Annalen Bd. 372, 1910.

per gram haemoglobine wordt opgenomen, afhankelijk van de concentratie der oplossing in dien zin, dat bij toenemende verdunning die opname grooter zou worden. BURN [1]) die den invloed der verdunning nogmaals heeft nagegaan, vindt echter een volkomen parallelisme tusschen de concentratie en het O_2-bindend vermogen. Ook KÜSTER [2]) en BUTTERFIELD [3]) bestrijden de adsorptie-theorie. BARCROFT [4]), die ernstige bedenkingen heeft tegen MANCHOT's methodiek, merkt op dat in het licht der adsorptietheorie een konstante maximale binding als door PETERS, BUTTERFIELD en MASING en SIEBECK is aangetoond, moeilijk is te verklaren; aan de andere kant laten zich alle feiten van de gasbinding van het zuivere haemoglobine met de omkeerbare reactie $Hb + O_2 \rightleftarrows HbO_2$ ongedwongen verklaren. Ook PETERS [5]) wijst er op dat geen enkel feit tegen een chemische binding pleit, verschillende onderzoekingen over de dissociatiecurve wel ervóór.

* * *

De reden waarom het wenschelijk scheen, het vraagstuk der specifieke O_2-capaciteit opnieuw aan te vatten, was voor-eerst gelegen in de omstandigheid, dat op pathologisch gebied nog slechts zeer weinig waarnemingen zijn verricht met een techniek, waarbij de O_2 gasanalytisch, het ijzer als zoodanig, met uitsluiting van indirecte (spectrophotometrische) methoden werd bepaald. Daar nu op grond van die enkele waarnemingen zeer vèrstrekkende conclusies zijn getrokken (BUTTERFIELD grondt zijn uitspraak op één geval van pernicieuze anaemie, één van skorbut, één van pseudoleukaemie, twee van chlorose, vier van polycythaemie) is voorloopig het grootst mogelijk voorbehoud gewenscht. Dit heeft te meer reden, sinds in de laatste twee decenniën feiten aan

---

[1]) BURN, l.c.
[2]) KÜSTER, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 66, 1910.
[3]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 79, 1912.
[4]) BARCROFT, The respiratory function of the blood pag. 24.
[5]) PETERS, l.c.

het licht zijn gekomen, die, a priori beschouwd, onvereenigbaar zijn te achten met een konstante, normale specifieke O_2-capaciteit bij sommige ziekteprocessen, o. a. bij verschillende anaemieën. Immers, van verschillende zijden is er op gewezen, dat onder pathologische omstandigheden in het bloed kunnen voorkomen omzettingsproducten van haemoglobine, die hun ijzergehalte hebben behouden, hun O_2-bindend vermogen verloren. Zoo zagen eerst Hollandsche, daarna ook Engelsche onderzoekers bij verschillende ziektetoestanden, waar van exogene vergiftigingen geen sprake was, *methaemoglobinaemie* resp. *sulfhaemoglobinaemie*; SCHUMM nam het eerst gevallen waar van *haematinaemie*, o.a. bij pernicieuze anaemie, en anderen hebben zijn bevinding kunnen bevestigen. Het is niet moeilijk, in te zien, dat in deze gevallen, *in overeenstemming met Hüfner's theorie,* moet zijn gedaald; immers, de specifieke O_2-capaciteit zou in die gevallen alleen haar normale waarde kunnen behouden, indien het overblijvende normale haemoglobine compensatorisch meer dan 2 atomen zuurstof zou kunnen binden op 1 atoom ijzer; neemt men echter met HÜFNER voor het onveranderde haemoglobine een konstante specifieke O_2-capaciteit aan, dan *moet* bij dergelijk bloed die grootheid zijn gedaald. Een ander alternatief is er niet.

VI.

De gang van het onderzoek.

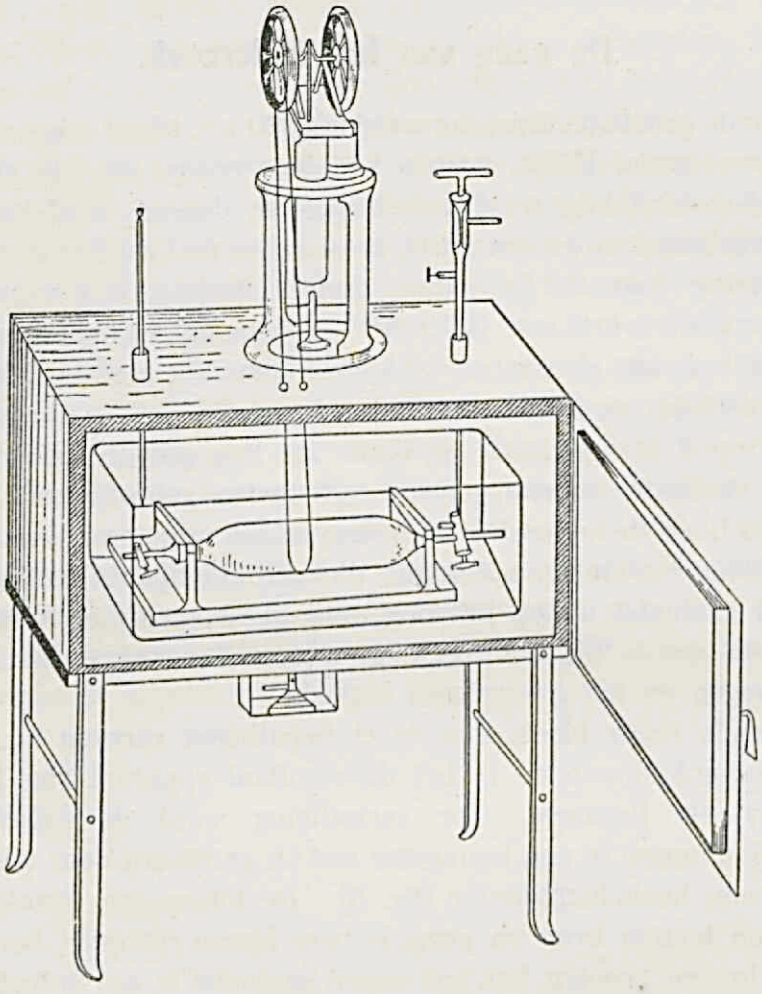
Uit de gestuwde armvena werden ± 20 c.c. bloed opgevangen in een steriel kolfje, waarin het door eenige steriele glazen parels voorzichtig werd gedefibrineerd; daarna werd het gecentrifugeerd en eenige malen gewasschen met een keukenzoutoplossing van 0.9 %, alles onder steriele verhoudingen. De emulsie werd met NaCl 0.9 % aangevuld tot het oorspronkelijk volume, en daarna lakkleurig gemaakt met de dubbele hoeveelheid verdunde ammonia (4 c.c. liq. amm. caust. s.g. 0.88 op 1 L. aq. dest.), en thans zoo lang gecentrifugeerd tot alle stromata en onopgeloste erythocyten geheel waren verwijderd, en de oplossing *volkomen helder* was geworden. Van de aldus verkregen oplossing, die onmiddellijk in de ijskast werd geplaatst tot op het oogenblik der gasanalysen (uiterlijk 4 uren na de bloedonttrekking) werden het zuurstofbindend vermogen en het ijzergehalte bepaald.

Zooals reeds bleek, zijn de O_2-bepalingen verricht met de ferricyaankalimethode in het differentiaal apparaat van Barcroft en Roberts. Ter verzadiging werd de oplossing ± 45 minuten in een tonometer met O_2 geroteerd door middel van een heete-lucht-motor (fig. 6). De tonometer, draaiende op een houten brug en gevat in twee leeren riempjes, bevond zich in een grooten bak met water, geplaatst in een autoclaaf; door een thermoregulator kon de verzadiging bij elke gewenschte temperatuur plaats vinden. In deze gevallen geschiedde de verzadiging steeds bij kamertemperatuur (± 15°).

Hierna werd uit een Bang'sche buret van 5 c.c. (verdeeld tot in 0.01 c.c.) nauwkeurig in ieder apparaat-fleschje 3 c.c. gemeten. Bij deze dunne vloeistofkolom kan men gemakkelijk aflezen tot op 0.005 c.c., zoodat op deze wijze elk individueel

metingsverschil hoogstens kan bedragen 3.005 — 2.995 = 0.01 c.c., d.i. $^1/_3$ %. Bijna steeds werden in 4 BARCROFT-apparaten 8 parallelanalysen verricht, in enkele gevallen bedroeg dit aantal 6.

FIG. 6.



Voor de ijzerbepalingen werden uit dezelfde gecalibreerde buret in elk van de twee Kjeldahl-kolven 10 c.c. der oplossing gemeten (bij laag haemoglobingehalte werden grootere hoeveelheden genomen). Na indamping tot droog werd verascht langs den natten weg met het *zuurmengsel van* NEUMANN (gelijke deelen geconc. H_2SO_4 en geconc. HNO_3) waarvan door indamping van 500 c.c. het ijzergehalte zeer nauwkeurig

was bepaald. Dit laatste is strikt noodzakelijk, en behoort af en toe te worden gecontroleerd, omdat deze sterke zuren — ook al zijn ze «ijzervrij» geleverd — niet alleen soms vrij veel ijzer bevatten maar dit bovendien langzamerhand opnemen uit den wand van de flesch waarin ze worden bewaard, zoodat b.v. H_2SO_4 dat bij ontvangst totaal ijzervrij is (zooals bij het H_2SO_4-Kahlbaum het geval was) na eenige maanden vrij veel van dat element kan bevatten. De vochtige verassching volgens NEUMANN is een voortreffelijke methode, en werd door mij verkozen boven die langs den drogen weg, omdat PETERS opgeeft, dat op deze laatste wijze niet zelden te lage ijzerwaarden worden verkregen: is de temperatuur niet hoog genoeg dan wordt niet alles verbrand en niet alle ijzer opgenomen in het later toegevoegde zuur; gloeit men te sterk, dan wordt het ijzer onoplosbaar; in beide gevallen wordt de ijzerwaarde te laag, de specifieke zuurstofcapaciteit dus te hoog. Daarenboven is het bij de droge verassching niet gemakkelijk het «spatten» van het bloed bij de verwarming geheel te voorkomen, zoodat ook hierdoor verlies van ijzer kan optreden.

De droge rest, verkregen na indamping, wordt na toevoeging van ± 10 c.c. zuurmengsel op een zandbad zacht verwarmd,[1]) zóólang tot geen bruine dampen meer ontwijken en er zich SO_3 begint te ontwikkelen. Dan laat men afkoelen; kleurt zich hierbij de oplossing donker, dan is de oxydatie nog niet afgeloopen, en men voegt opnieuw zuurmengsel toe. Men herhaalt dit zóó lang tot bij het ontwijken van SO_3-dampen de oplossing kleurloos of helder geel is, en na afkoeling *waterhelder* wordt. Daarna verdrijft men de laatste sporen HNO_3, door te verdunnen met water en te verhitten tot het overgaan van SO_3, en dit nog één of twee keer te herhalen. Bij aanwezigheid van HNO_3 is nl. rhodaankali als indicator onbruikbaar, omdat dit met nitrieten een roode kleur geeft. Eindelijk verdunt men dan de verkregen oplossing tot ± 150 — 200 c.c.

---

[1]) Er is maar zeer weinig verwarming noodig, de verbranding verloopt bij betrekkelijk lage temperatuur.

met *uitgekookt, zuurstofvrij water*, en *kookt even op;* dit laatste is noodig, omdat bij toevoeging van het koude water aan de warme oplossing het ijzer gedeeltelijk colloidaal kan neerslaan, hetgeen groote fouten zou kunnen geven. Daarna wordt de heete vloeistof onder CO_2-inleiding in de titreerkolf gegoten, en deze laatste in een bak met ijswater geplaatst, steeds onder inleiding van CO_2. Is de temperatuur van de vloeistof gedaald tot dicht bij 0°, althans beneden 10° C., dan wordt, onder voortdurende CO_2-inleiding, getitreerd met titaanchloruur.

De *titratie met titaanchloruur*, aangegeven door KNECHT en HIBBERT [1]), uitvoerig bestudeerd o. a. door JAHN [2]), en o. a. gebruikt door PETERS, berust op de volgende reactie:

$$Ti\,Cl_3 + Fe\,Cl_3 = Ti\,Cl_4 + Fe\,Cl_2.$$

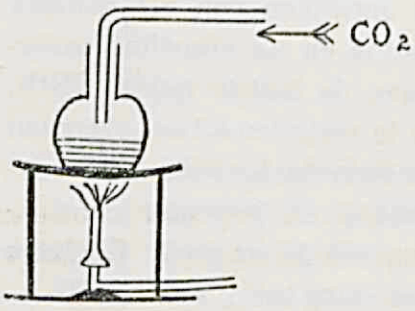
Het ferri-ion wordt dus gereduceerd tot ferro-ion, waarbij het driewaardige titaan overgaat in het vierwaardige.

Benoodigde oplossingen en opstelling.

1°. *Titaanchloruur* $\pm\ ^n/_{250} - ^n/_{500}$, dat men als volgt bereidt.

Bij 10 c.c. van een geconcentreerde 15 %-ige titanochloride-oplossing worden gevoegd 10 c.c. acid. hydrochl. puriss. (s.g. 1,19) en in een zoo klein mogelijk bekerglas (om door verkleining van het oppervlak de oxydatie door de lucht tegen te gaan) eenigen tijd zwak gekookt. Om elke oxydatie te vermijden gebruikte ik een klein, nauwhalzig fleschje zooals voor bloedsuikerbepalingen wordt aangewend, en leidde tijdens het verwarmen CO_2 in (fig. 7).

FIG. 7.



Tijdens het koken houdt men er af en toe een loodpapiertje boven om te zien of er H_2S ontwijkt; is dit het geval dan wordt zoolang gekookt tot alle H_2S is verdreven; ik heb het geen enkele keer kunnen aantoonen. Daarna laat men de oplossing in ijswater *zoo snel mogelijk afkoelen*, brengt dit *na volledige afkoeling* in een

[1]) KNECHT en HIBBERT, Chem. Berichte, 36, 1903.

[2]) JAHN, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 75, 1911.

flesch van 2 L. en vult deze tot 2 L. aan met *uitgekookt, geheel afgekoeld* water. Zoowel de geconcentreerde oplossing als het water moeten *koud* zijn, anders ontstaat volgens JAHN een colloidale, opalescente vloeistof, die niet te gebruiken is. Men verbindt de flesch (B) eenerzijds met een waterstofapparaat (K), anderzijds met een fijne buret (b) die tevens communiceert met het waterstofapparaat (fig. 8). Voor de H_2-ontwikkeling gebruike men *zeer zuivere grondstoffen:* verdund H_2SO_4 (verkregen uit H_2SO_4 puriss.) en zuiver, arseenvrij zink-Kahlbaum. Sporen H_2S worden tegengehouden door loodacetaat of permanganaat. Daar de diffusie van O_2 door de slang nooit is buitengesloten heb ik de H_2 laten strijken door alkalische pyrogallol (in de concentratie, opgegeven door HALDANE[1]). De communicatie tusschen de pyrogallol-(A) en de titaanflesch (B) is één glazen buis zonder gummiverbinding, Men kan de titaanoplossing nog bedekken met een laagje vloeibare paraffine, maar dit heeft overigens niet veel te beteekenen.[2]) De zijbuis (z) van de buret bestaat eveneens grootendeels uit glas, alleen is een klein stukje gummi tusschengeschakeld voor het klemmetje p. De beide buretten b en b′ zijn Bang'sche buretten van 5 c.c., verdeeld in 0.01 c.c., en door kwikuitweging gecalibreerd.

Bij deze opstelling kan men de titaanoplossing gemakkelijk 2 maanden goed houden, waarbij ze hoogstens 10 % achteruitloopt, soms zelfs geheel konstant blijft. Alle ijzertitraties moeten vergezeld gaan van een gelijktijdige titerstelling door middel van

2°. een *standaard ijzeroplossing*, die (volgens voorschrift van JAHN) per c.c. 0.1 m.g. Fe bevat. Daartoe wordt een zekere hoeveelheid Fe_2O_3 (Kahlbaum, pro analyse) 5 uur verhit op 150° C., om elk spoor vocht te verdrijven. Nu worden

[1]) HALDANE (J. of physiol. 22,): voeg bij 50 c.c. water, 100 gram vaste potasch; 100 c c. van deze KOH-opl. worden gemengd met 10 gram pyrogallol.

[2]) De gummistop wordt bestreken met een lap met toluol, daarna bedekt met een laag vaste paraffine. Betere afsluiting dan met gummi bleek ik te verkrijgen bij het gebruik van kurk, gedrenkt in vloeibaar gemaakte paraffine.

0.14297 gram Fe_2O_3 (overeenkomende met 0.1 gram Fe) met 20 c.c. geconc. H_2SO_4 (van bekend ijzergehalte) en ± 200 c.c. aq. dest. in een Kjeldahlkolf op een zandbad verhit. Men laat dikwijls afkoelen en vult het verdampte water bij. De oplossing van Fe_2O_3 geschiedt in verdund H_2SO_4 sneller dan in geconcentreerd. Men kookt zoo lang tot alle ijzer is opgelost, hetgeen meerdere uren duurt. De oplossing wordt *na afkoeling* (anders vorming van colloidaal ijzer!) in een literkolf gespoeld, waarna men aanvult tot de streep met uitgekookt O_2-vrij water. Na inleiden van waterstof wordt de flesch gesloten door een stop die daarna bedekt wordt met een laag vaste paraffine.

3°. Als indicator *rhodaankali-oplossing 40 %*. Vóór het gebruik moet men nagaan of dit ijzer bevat. Men doet het beter niet door verassching, dit is een uiterst gevaarlijke bezigheid; bij de zeer heftig verloopende verbranding ontwikkelen zich groote hoeveelheden blauwzuur. Het reageeren op ijzer doet men aldus dat bij 10 c.c. van de indicator eenige ijzervrij HCl of H_2SO_4 worden gevoegd. Treedt er een merkbare bruinkleuring op, dan verwerpt men den indicator en probeert een ander preparaat, zoolang tot men een ijzervrij heeft gevonden. In het rhodaankali proanalyse (KAHLBAUM) vond ik geen ijzer.

4°. *Geconc. H_2SO_4 en HNO_3 van nauwkeurig bekend ijzergehalte.*

Het ijzergehalte wordt bepaald door indamping van 200 of 500 c.c. tot 5 à 10 c.c. Voor H_2SO_4 duurt dit zeer lang. Met HNO_3 gaat dit veel sneller; bij de overgebleven 5 à 10 c.c. voegt men 10—20 c.c. H_2SO_4 van bekend ijzergehalte verdrijft daarna het HNO_3 geheel op de reeds boven aangegeven wijze, laat afkoelen, vult aan tot 150 c.c. en bepaalt dan het ijzergehalte met titaanchloruur.

Het HNO_3 bevat steeds vrij veel ijzer. Het H_2SO_4 kan geheel ijzervrij zijn. Het is daarom niet altijd noodig een groote hoeveelheid in te dampen (een langdurig werk!) Men kan dan beter b.v. 10 c.c. H_2SO_4 verdunnen tot 150 c.c. en zien of er met rhodaankali bruinkleuring optreedt; is dit het

geval, dan moet men het ijzergehalte bepalen. Blijft echter elk spoor van bruinkleuring uit, dan is men zeker dat — zelfs al mocht het zuur ijzer bevatten — dit in elk geval te gering is om bij de titratie een rol te kunnen spelen.

5°. *Luchtvrij water* (D), verkregen door uitkoken. Men vult de flesch, die vele liters kan bevatten, onder CO_2-atmosfeer en laat haar hiermee voortdurend in verbinding (K').

De *titratie* geschiedt nu als volgt. (fig. 8.)

Eerst stelt men den titer van de titaanoplossing. 10 c.c. van de standaard ijzeroplossing (C) worden in de titreerkolf t gelaten (onder voortdurende CO_2-inleiding), dan verdund met 100 c.c. luchtvrij water (D), 5 c.c. H_2SO_4 toegevoegd en daarna de kolf in een bak met ijs geplaatst. Na afkoeling tot beneden 10° C. voegt men 5 c.c. rhodaankali 40 % toe, en laat titaanchloruur bijloopen tot volledige ontkleuring, met een zoo gering mogelijk overschot aan titaan. Dan titreert men terug met de standaard-ijzeroplossing totdat het optredende spoor van bruinkleuring *minstens 5 minuten blijft bestaan*. Dit is het moeilijke oogenblik van de titratie. Aanvankelijk verdwijnt de bruine tint weer, eindelijk blijft ze bestaan. De kleuromslag is weinig uitgesproken; men heeft daarom *zeer goed licht* noodig. Het is van groot voordeel dat men de titreerkolf plaatst op een witte ondergrond, b.v. een melkglas *m*. Het spreekt vanzelf dat men vanaf het begin *ononderbroken CO_2 moet inleiden*.

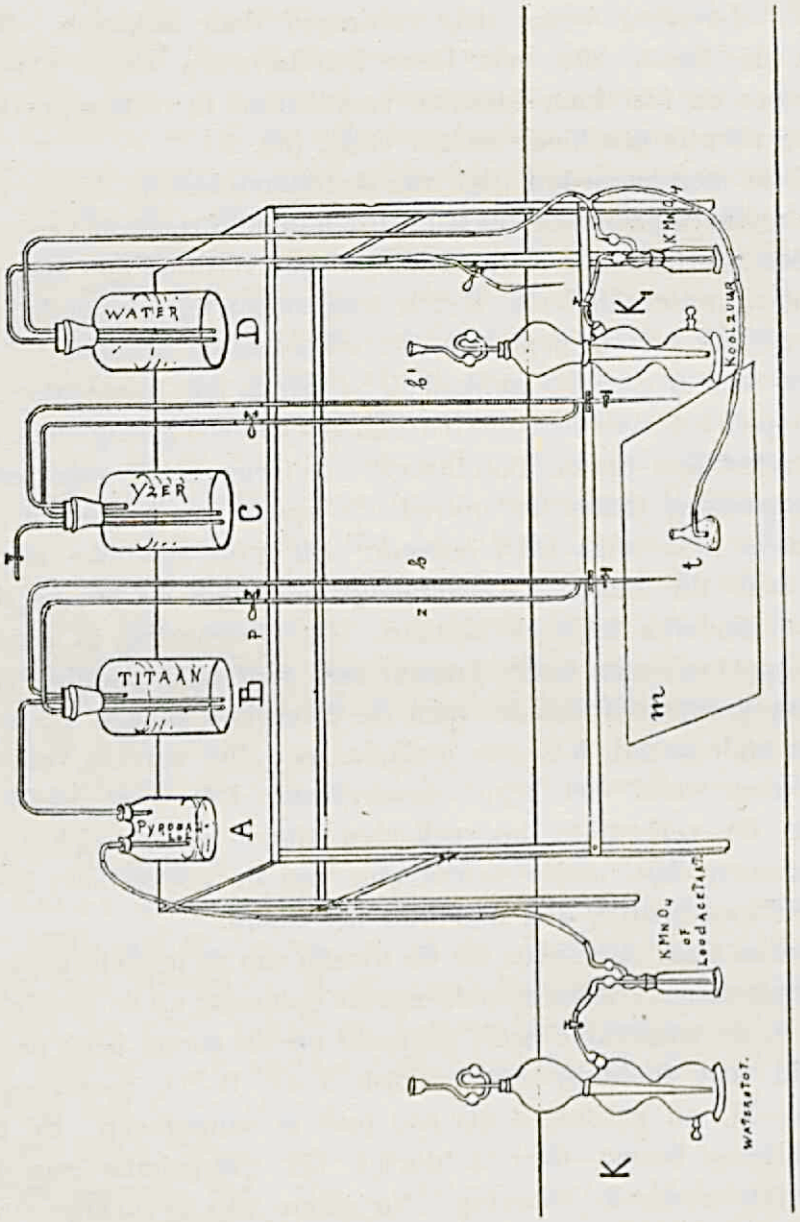
Uit de verbruikte hoeveelheden titaan- en ijzeroplossing vindt men dan, onder inachtname van de hoeveelheid ijzer in het zwavelzuur, den titer van het titaan.

Hierna gaat men over tot de titratie van de te onderzoeken ijzeroplossing. Nadat men de warme oplossing uit de Kjeldahlkolf in de titreerkolf heeft gebracht en de eerste heeft nagespoeld met luchtvrij water, wordt 5 c.c. H_2SO_4 toegevoegd, afgekoeld, en getitreerd als zoo juist is aangegeven. Bij de berekening brengt men natuurlijk het ijzergehalte van de gebruikte zuren in rekening. Na afloop van de titraties stelt men nogmaals den titer van de titaanoplossing.

Vóór het titreeren laat men altijd eerst de buretten uitloopen. Jahn geeft op dat het gewenscht is, tevoren de

titaanoplossing te schudden. Dit lijkt mij niet noodig, zelfs minder gewenscht, omdat dit schudden niet van voordeel is

FIG. 8.



voor de sluiting van de flesch. De menging van vloeistof — als die van belang mocht zijn — wordt overigens voldoende

verkregen, doordat men vóór de titraties de buretten laat uitloopen, waardoor H_2 door de vloeistof borrelt.

Bij de ijzertitratie met titaanchloruur mag de oplossing geen koper of kobalt bevatten; wanneer deze elementen aanwezig zijn, moet het ijzer eerst worden afgescheiden. Bij menschelijk bloed hebben we hiermee geen rekening te houden.

Ter verduidelijking moge hier het volledig verslag volgen van een onderzoek van een haemoglobine-oplossing van een *normaal proefpersoon*.

Gasanalysen.

In elk fleschje bevindt zich 3 c.c. haemoglobine, in het halsje 0.3 c.c. ferricyaankali. Na intreding van temperatuurevenwicht worden de kranen gesloten, en links de vloeistoffen gemengd. Nadat alle O_2 is vrijgekomen, vertoont de manometer een uitslag van 50.4 m.m.

Barometerstand = 760.75 m.m. (ongecorrigeerd), temperatuur van het kwik = 16.5° C.

Dus de gecorrigeerde barometerstand is $760.75 \times \frac{5550}{5566.5}$

Bij dezen barometerstand is de konstante van het apparaat k = 4.05.

De temperatuur van het waterbad = 14° C.

Dus 3 c.c. haemoglobine bindt maximaal

$$4.05 \times 50.4 \times \frac{273}{287} \times \frac{760.75 \times 5550}{760 \times 5566.5} = \text{x m.m}^3.$$

log x = 2.28758

x = *193.8* m.m^3. (gereduceerd tot 0° en 760 m.m.)

Op dezelfde wijze werd aan de rechterkant verkregen x = 193.6 m.m^3.

De bepalingen in de 3 andere apparaten leverden resp. 194.2, 193.4, 194.2, 193.0, 193.4, 194.6, waarvan het gemiddelde bedraagt x = *193.8* m.m^3.

IJzerbepaling.

De *titerstelling* leverde het volgend resultaat:

10 c.c. $Fe_2(SO_4)_3$-oplossing [1]) worden ontkleurd door 3.46 c.c.

[1]) 1 L. van deze oplossing bevatte 100,66 m.g. ijzer.

titaanchlooruur. Blijvende bruinkleuring treedt op bij het terugtitreeren door 0.29 c.c. $Fe_2(SO_4)_3$.

Daar het gebruikte zwavelzuur-Kahlbaum volkomen ijzervrij was gebleken — hetgeen bij dezen door een blanco-proef zonder veraschte oplossing nogmaals werd bevestigd — kwamen dus 10.29 c.c. ijzeroplossing overeen met 3.46 c.c. titaanchloruur

$$10.29 \times 0.10066 + 5 \times 0 = 3.46 \text{ c.c. titaan.}$$

Dus 1 c.c titaanchloruur reduceerde *0.2994* m.g. ijzer.

De *verasschingsvloeistof* leverde het volgende resultaat:

Gebruikt was 12 c.c. HNO_3 en 12 c.c. H_2SO_4, bij de titratie nogmaals 5 c.c. H_2SO_4. 1 c.c. HNO_3 bevatte 0.00408 m.g. ijzer.

Ontkleuring trad op door 8.255 c.c. titaan, blijvende bruinkleuring door 0.15 c.c. ijzeroplossing.

$$15 \text{ haem.} + 17 \times 0 + 12 \times 0.00408 + 0.15 \times 0.10066 = 8.255 \times 0.2994$$

15 haem. bevat dus 2.4074 m.g. Fe.

3 c.c. haem. bevat 0.4815 m.g. Fe.

Bij de paralleltitratie werd gevonden 0.4826 m.g. Fe.

Gemiddeld ijzergehalte van 3 c.c. haem. = 0.4820 m.g. ijzer.

$$\textbf{Specifieke zuurstofcapaciteit} = \frac{193.8}{0.4820} = \textbf{402}.$$

Samenvattende kan ik dus zeggen dat mijn techniek dezelfde is geweest als die van PETERS, behoudens enkele veranderingen. Het werken met haemoglobine-oplossingen in plaats van met bloed of emulsies van bloedlichaampjes heeft het voordeel dat groote fouten, die kunnen ontstaan door het sedimenteeren van roode bloedlichaampjes of door het niet-inwerken van ferricyaankali op dekkleurig bloed totaal worden vermeden. Ook is het serum geheel uitgeschakeld. Een verschil met de techniek van PETERS bestaat in de verassching die ik langs den natten weg heb verricht. Ook heb ik uit fijne buretten afgemeten, waardoor de verschillen tusschen de individueele waarnemingen kleiner worden, omdat men veel nauwkeuriger kan aflezen. Deze verschillen doen zich bij het gemiddelde van PETERS' gasanalysen niet gevoelen, omdat hij 48 c.c. achtereen, ononderbroken, uit de buret in

de verschillende fleschjes laat loopen; van meer belang is het bij ijzerbepalingen, omdat men hiervan slechts twee verricht in ieder geval; vandaar dat hij in één geval een verschil van $2^1/_2$ % tusschen zijn paralleltitraties vindt.

Behalve de ijzer- en O_2-bepalingen werd bij elk bloed een spectroscopisch onderzoek verricht van serum en bloedlichaampjes afzonderlijk. De bloedkleurstof werd gespectroscopiseerd in *neutrale* oplossing, eerst geconcentreerd, daarna in verdere verdunningen.

VII.

Klinische waarnemingen.

Normale personen.

Nadat het door voldoende oefening gelukt was met beide methoden — de gasanalytische en de titrimetrische — nauwkeurige resultaten te verkrijgen, werd overgegaan tot het onderzoek van de specifieke zuurstofcapaciteit bij gezonde en zieke menschen.

Bij een 5-tal normale personen werden resaltaten verkregen die men in Tabel II vindt weergegeven. Ze bewegen zich zóó nauw om de theoretische waarde 400.8, dat ze — ondanks hun gering aantal — voldoende reden mogen zijn om met Hüfner, Butterfield, Peters, e.a. aan te nemen dat *het normale, onveranderde haemoglobine van den mensch bij maximale verzadiging met O_2 steeds 2 atomen zuurstof op 1 atoom ijzer bindt.* Hieruit mag echter niet worden besloten dat het bloed van «gezonde» personen eveneens deze verhouding onder alle omstandigheden zou vertoonen; het is zeer goed mogelijk dat bij sommige individuen — of bij alle — af en toe geringe hoeveelheden methaemoglobine of andere omzettingsproducten circuleeren, die de specifieke O_2-capaciteit doen dalen. Dat dit bij dieren inderdaad het geval kan zijn, zal nog nader blijken.

Bij de keuze van mijn materiaal heb ik mij beperkt tot een drietal groepen van aandoeningen:

1°. eenige gevallen van intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie.
2°. eenige anaemieën.
3°. croupeuze pneumonie en andere infectieziekten.

TABEL II.

Normale personen.

Namen.	Maximale of respiratorische O_2 cap. in m.m³.	IJzergehalte van 3 c.c. haem. opl. in m.g.	Specifieke zuurstof capaciteit.
I. Barbara van B.	180.0 181.2 182.1 182.0 180.1 180.4 182.3 181.2 181.2	0.4510 0.4490 0.4500	**403**
II. Hendrik P.	182.5 181.8 183.4 183.2 181.6 183.0 182.5 182.0 182.5	0.4569 0.4609 0.4589	**405**
III. Adrianus B.	193.9 192.0 195.2 194.2 193.6 193.8 193.4 192.4 193.9	0.4815 0.4826 0.4820	**402**
IV. Cornelis V.	193.6 192.0 192.9 194.2 193.4 193.8 192.4 192.4 193.1	0.4820 0.4792 0.4806	**401**
V. Joh. R.	185.6 186.3 186.0 187.6 186.9 187.3 187.2 185.9 186.6	0.4688 0.4704 0.4696	**397**

De intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie.

Reeds betrekkelijk kort nadat men spectraalanalytisch verschillende bloedkleurstoffen had leeren herkennen, zag men dat verschillende stoffen, bij het dier-experiment in het organisme binnengebracht, de bloedkleurstof in vivo konden omzetten, o.a. in methaemoglobine. Hetzelfde werd waargenomen in gevallen van opzettelijke of toevallige vergiftigingen van den mensch, waarbij als klinisch verschijnsel de intensieve cyanose van huid en slijmvliezen op den voorgrond trad. In de laatste twee decenniën heeft men echter ook ziektetoestanden leeren kennen, die tot het optreden van dergelijke veranderingen aanleiding geven, zonder dat van vergiftiging sprake is. Als goed begrensd ziektebeeld is deze z.g. autotoxische cyanose het eerst beschreven door Stokvis en Talma.

Het is hier niet de plaats uitvoerig stil te staan bij de verschillende onderzoekingen, in verband met dit symptomencomplex van Hollandsche — later ook van Engelsche — zijde verricht. Hier zij volstaan met verwijzing naar een uitvoeriger verhandeling van Hijmans van den Bergh en Engelkes [1])

Het toeval wilde, dat ik, bezig zijnde met dit onderzoek over de specifieke O_2-capaciteit, in de gelegenheid was, van eenige patienten met intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie het bloed te onderzoeken. Over de hoeveelheid bloedkleurstof die haar O_2-bindend vermogen in dergelijke gevallen heeft verloren, heb ik in de literatuur geen gegevens gevonden.

Geval I. Karel V., oud 17 jaar, bloemistknecht.

Anamnese. Volgens opgave van de moeder heeft patient van zijn geboorte af zoo goed als nooit spontaan ontlasting. Deswegen wordt hij op de polikliniek van prof. Lameris behandeld met darmspoelingen, ongeveer eens in de 14 dagen. Hij heeft veel klachten over hoofdpijn, misselijkheid, braken. *In den laatsten tijd ziet patient blauw.* De familie-anamnese geeft geen nieuwe gezichtspunten.

Onderzoek. Patient is veel te klein voor zijn leeftijd. Gelaat en periphere deelen zijn uitgesproken *cyanotisch.* Vingers en teenen hebben den *trommelstok-vorm.* Verder zijn er verschijnselen van

[1]) Ter perse.

infantilisme (geen spoor van baardgroei, geen oksel-haren; de testikels zijn niet ingedaald, als erwtgroote knobbeltjes te voelen in de liesopening). Aan de borstorganen zijn geen afwijkingen te vinden. De temperatuur is normaal, ook de pols vertoont geen bijzonderheden. De buik is sterk opgezet; nu en dan is duidelijk peristaltiek te zien. In de mediaanlijn is een operatie-littecken. Lever en milt zijn niet te voelen. Bij Röntgen-onderzoek (barium-clysma) blijkt het sigmoid de geheele linkerbuikhelft tot aan het diaphragma op te vullen. De urine bevat, behalve een spoor indican, geen abnormale bestanddeelen bij het gewone onderzoek. Daar geen enkele afwijking in de borst is gevonden, die de cyanose kan verklaren, moet gedacht worden aan de mogelijkheid van haemoglobineveranderingen Bij spectroscopische bezichtiging van de huid met opvallend licht blijkt er een *band in het rood* zichtbaar te zijn. Veel duidelijker wordt dit bij het doorlichten van een oorlelletje, een wang of een plooi van het scrotum, door middel van een zaklantaarn. Het vermoeden wordt volledige zekerheid bij het daarna ingestelde spectroscopische bloedonderzoek: terwijl het serum geen abnormale bloedkleurstoffen bevat, vertoonen de bloedlichaampjes na oplossing in gedist. water het typische spectrum van *sulfhaemoglobine.*

De *diagnose* moet dus luiden: *ziekte van Hirschsprung, infantilisme* en *intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie.*

Het *onderzoek der specifieke zuurstofcapaciteit* werd tweemaal verricht. De eerste waarneming geschiedde onmiddellijk vóór de darmspoeling, de tweede eenige dagen daarna.

Eerste waarneming: 2 December 1920.

Zuurstofbindend vermogen (van 3 c.c. haemoglobine-oplossing: de O_2 gemeten bij 0° en 760 m.m.)		*IJzergehalte* (van 3 c.c. haemoglobine-oplossing, in m.m.)
180.4	181.6	0.5545
180.9	180.0	0.5574
179.7	179.3	0.5560
180.0	181.5	
180.4		

$$\textbf{Specifieke zuurstofcapaciteit} = \frac{180.4}{0.5560} = \textbf{324}$$

De S.O.C. vertoonde dus ten opzichte van den norm 401 een daling van ruim 19 %. Daar de zuurstofwaarde het ge-

middelde is van 8 goed overeenstemmende gasanalysen, en een O_2-verbruik tijdens die analysen was uitgesloten (noch het serum, noch de haemoglobine-oplossing absorbeerden O_2, zooals werd nagegaan op de reeds eerder aangegeven wijze), en het ijzergehalte het gemiddelde is van 2 parallelwaarden die minder dan 1 % uiteenloopen, mogen we aannemen, dat de daling van het O_2-bindend vermogen is toe te schrijven aan de gedeeltelijke omzetting van het haemoglobine in sulfhaemoglobine. Teneinde onnoodige omschrijvingen te voorkomen, zal ik deze daling noemen het **capacitaire deficit** [1]), waaronder dus in de volgende bladzijden zal worden verstaan *het breukdeel van de bloedkleurstof, dat zijn O_2-bindend vermogen heeft verloren, uitgedrukt in procenten van het geheel.*

Tweede waarneming bij denzelfden patient.

Na een darmspoeling worden de volgende resultaten verkregen.

Zuurstofbindend vermogen.		*IJzergehalte.*
178.1	177.5	0.4939
178.7	178.1	0.4952
179.8	179.7	0.4946
178.4	178.4	
	178.6	

Specifieke zuurstofcapaciteit $= \frac{178.6}{0.4946} =$ **361.**

Capacitair deficit = 10 %.

Geval II dank ik aan de welwillendheid van Prof. KOUWER, die mij in de gelegenheid stelde het bloed te onderzoeken van:

Mej. Sm.—Dum. *Diagnose: haematocele retrouterina.*

Deze 40-jarige, gehuwde vrouw, die als kind — naar het schijnt op haar 10e jaar — gonorrhoïsch, en in haar 2e huwelijk luetisch werd geinfecteerd, is sinds Aug. 1919 onregelmatig gaan menstrueeren, met langdurig vloeien, en buikpijn. Den 1sten Jan. 1920 krijgt ze een nieuwen aanval van buikpijn, thans zonder vloeien, die den 7en Jan. heel erg wordt, en vergezeld gaat van koorts. Braakneiging, tenesmi. De ontlasting wordt traag en gaat met pijn gepaard, de urineloozing wordt moeilijk. Buik opgezet. Den 8sten Jan. opname in de chi-

[1]) Zulks in afkorting van respiro-capacitair of oxygeno-capacitair deficit,

rurgische kliniek. Ze is zeer ziek, niet cyanotisch, niet icterisch. Buik sterk gespannen en opgezet, vooral in meso- en hypogastrium. Luide tympanie, geen abnormale peristaltiek. In hypogastrium drukpijnlijk. Vaginaal: weeke weerstand in cavum Douglasi.

Patiente, die nu en dan braakt, wordt behandeld met clysmata, waarbij flatus en ontlasting komen. Daarna is de toestand veel beter, de buik wat soepeler. De darmontlediging blijft echter onvoldoende. Den 12^{en} Jan. wordt een slang in het rectum gebracht; er komen flatus, geen faeces. Den 13^{en} Jan., na hernieuwde clysmata, komt er ontlasting en het gelukt thans door lavementen en door bitterwater deze aan den gang te houden. Den 29^{en} Jan. lichte ileus-verschijnselen, zichtbare peristaltiek, luid hoorbare darmbewegingen. Buik opgezet. Urine: spoor eiwit, geen indican. Wassermann + 6.

Patiente wordt thans vervoerd naar de gynaecologische kliniek, waar men twijfelt tusschen ectopische zwangerschap met haematocele, ovariaalkyste met steeldraaiing, pyosalpynx (gonorrhoe!) en retroflexie. Het meest wordt gedacht aan *haematocele*. Daar Prof. KOUWER zich herinnert dat anderen (SCHUMM, THORMAEHLEN) bij gevallen van buitenbaarmoederlijke zwangerschap in het bloedserum haematine hebben gevonden, wordt ons bloed toegezonden ter onderzoek.

Het blijkt dat het serum *geen spoor haematine* bevat, evenmin is het bilirubinegehalte toegenomen; tot onze groote verbazing blijken echter de roode bloedlichaampjes *een groote hoeveelheid sulfhaemoglobine te bevatten*. Een ontstaan van het spectrum buiten het lichaam na de bloedonttrekking is geheel buitengesloten, daar bij doorlichting van het oor in vivo eveneens het spectrum wordt waargenomen. We hebben ook hier dus te doen met *intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie*.

Het onderzoek van het bloed geeft nu de volgende resultaten.

Zuurstofbindend vermogen.		*IJzergehalte.*
122.3	122.0	0.3392
124.0	123.7	0.3379
122.7	124.4	0.3380
123.6	122.7	
123.2		

Specifieke zuurstofcapaciteit $= \frac{123.2}{0.3380} = 356.$

Capacitair deficit = 11 %.

Bij de operatie wordt gevonden een *haematocele retrouterina, met gebarsten, verwijde, linker tuba.*

Vóór het beëindigen van deze experimenten was ik niet in de gelegenheid het onderzoek te herhalen na de operatie.

Geval III. Tot deze waarneming werd ik in staat gesteld door de vriendelijkheid van Prof. SNAPPER die mij een weinig bloed ter beschikking stelde van een, door hem waargenomen patiente, met een *hemiplegie.* De bloedlichaampjes gaven een intensief sulfhaemoglobine-spectrum, het serum bevatte geen abnorme bloedkleurstoffen.

Het onderzoek gaf als resultaten:

Zuurstofbindend vermogen.		*IJzergehalte.*
160.8	158.0	0.5109
159.1	159.3	0.5097
159.7	158.5	0.5103
158.2	159.1	
159.1		

Specifieke Zuurstofcapaciteit $= \frac{159.1}{0.5103} = 312.$

Capacitair deficit = 22 %.

Behalve deze 3 gevallen kwamen nog eenige andere met intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie ter waarneming, n.l. een 22-jarig meisje met een adhaesieve, tuberculeuze peritonitis, en een 9-jarig meisje met een recto-vaginale fistel. Bij dit kind verdween het spectrum nadat Prof. LAMÉRIS een anus praeternaturalis had aangelegd ter voorbereiding van een plastiek. Om bijzondere redenen was het echter in deze twee gevallen niet mogelijk, een gasanalytisch onderzoek te verrichten.

Niet onbesproken mag hier blijven een waarneming, door Prof. HIJMANS VAN DEN BERGH en mij gedaan bij dieren, daar zij niet zonder belang is voor onze opvattingen over de specifieke zuurstofcapaciteit van het bloed onder «normale» verhoudingen.

Er was ons gebleken, dat het serum van onzen patient KAREL V. in vitro bij 37° in een oplossing van normaal menschenhaemoglobine — dat alleen het zuivere oxyhaemoglobinespectrum vertoonde — na 2 × 24 uur een zwak, doch onmiskenbaar sulfhaemoglobine-spectrum kon doen ontstaan. Wij wilden daarna beproeven of inspuiting van dit serum bij een «gezond» konijn genoemd spectrum in het stroomende bloed te voorschijn kon roepen. Uitgaande van de algemeen gangbare opvatting, dat «normale» dieren in hun bloed alleen onveranderd haemoglobine en geen omzettingsproducten herbergen, spoot ik dit serum bij een willekeurig, oogenschijnlijk «gezond» konijn intraveneus in *zonder van te voren het bloed te hebben gespectroscopeerd.* Nadat het dier van de eerste «shock» was hersteld, werden na ± 30 minuten eenige druppels bloed uit het oor opgevangen in gedist. water, en *dit vertoonde zeer duidelijk het sulfhaemoglobine spectrum.*

Groot was onze verbazing, toen bij een ander konijn dezelfde afwijking werd waargenomen, zonder dat er iets met het dier was gebeurd. Bij dit konijn, dat voor geen enkele proef was gebruikt, en geen teekenen vertoonde die op ziekte wezen, vonden wij in het uit het oor ontnomen bloed een spectrum, dat in al zijn eigenschappen volkomen overeenstemde met dat van het sulfhaemoglobine, ook in zijn verhouding tegenover de reacties, die men pleegt uit te voeren ter onderscheiding van deze stof van het methaemoglobine.

Het lag nu voor de hand, van een zoo groot mogelijk aantal konijnen het bloed te onderzoeken, en, zoo mogelijk, door het varieeren van hunne levensvoorwaarden te trachten de oorzaak van de afwijking op het spoor te komen. Met dat doel werden 55 konijnen onderzocht; het resultaat vindt men weergegeven in tabel III.

Behalve de 2 genoemde dieren werden nog 5 andere uit hetzelfde hok onderzocht, 5 konijnen uit het instituut van Prof. MAGNUS, 8 werden op de markt gekocht en onmiddellijk daarna onderzocht, 10 waren afkomstig uit het instituut van Prof. BLIEK, 25 andere uit dat van Prof. WESTER. Bij deze dieren, van zeer verschillende herkomst, werd niet zelden

TABEL III. **Bloedonderzoek bij konijnen.**

Aantal.	Herkomst.	Nr.	Sulfhaemoglobine-Spectrum.
2 konijnen	eigen hok	1	*duidelijk* +
		2	*duidelijk* +
5 konijnen	eigen hok	3	**zeer sterk** + (naar het schijnt niet minder dan pat. Karel V., band i.h. rood door de ooren in vivo te zien.
		4	een spoor +
		5	een spoor +
		6	negatief
		7	negetief
5 konijnen	Pharm. Inst. (Prof. MAGNUS)	8	negatief
		9	negatief
		10	negatief
		11	zeer zwak +
		12	*duidelijk* +
5 konijnen	Gekocht op de markt, en dadelijk onderzocht.	13	**zeer sterk** + Reeds bij doorlichting van de ooren in vivo duidelijk te zien.
		14	**zeer sterk** + idem. idem.
		15	zwak +
		16	zwak +
		17	negatief
3 konijnen	Markt	18	misschien een spoor
		19	negatief
		20	negatief
2 konijnen	Veeartsenijk. Inst. (Prof. BLIEK)	21	negatief
		22	negatief
2 konijnen	Veearts. Inst. Prof. BLIEK	23	**sterk** + bij doorlichting van de ooren duidelijk te zien.
		24	negatief
6 konijnen	Veearts. Inst. Prof. BLIEK	25	negatief
		26	*duidelijk* +
		27	*duidelijk* +
		28	*duidelijk* +
		29	zwak +
		30	zwak +
25 konijnen	Veearts. Inst. Prof. WESTER	31	*duidelijk* +
		32-55	negatief

de beschreven afwijking waargenomen, in enkele gevallen zelfs in zeer sterke mate. Dit maakt het onwaarschijnlijk dat verschillende uiterlijke omstandigheden hier een hoofdfactor waren, al verdient het vermelding dat bij de 25 dieren uit het instituut van Prof. WESTER slechts in één geval het sulfhaemoglobine-spectrum werd waargenomen. Met deze gegevens is het niet mogelijk uit te maken of het ras, het geslacht, de leeftijd, de voeding een rol spelen. Daarvoor is noodig een veel uitgebreider, en vooral een meer systematisch onderzoek dan ons mogelijk was. Alleen zij nog vermeld, dat van de dieren die wij maanden lang hebben geobserveerd (een 10-tal) degene, die de afwijking hadden, haar steeds bleven behouden, daarentegen de andere met een normaal spectrum het SHb-spectrum nimmer gingen vertoonen; beide groepen leefden in hetzelfde hok, onder dezelfde voorwaarden van voeding en dergelijke; de onderstelling ligt dus voor de hand, dat men de oorzaak niet alleen in de levensvoorwaarden heeft te zoeken, maar althans voor een deel — waarschijnlijk een groot deel — in individueele eigenschappen van de dieren zelf.

Van welken aard nu verder ook de oorzaak moge wezen, vast staat dat onder bepaalde, niet nader bekende, omstandigheden bij sommige schijnbaar gezonde konijnen [1]) — althans bij konijnen die in geen enkel opzicht opvallend afwijken van andere soortgenooten — het bloed een spectrum kan vertoonen, in al zijn eigenschappen overeenstemmende met dat van het sulfhaemoglobine. Onze tegenwoordige kennis van de bloedspectra laat geen andere conclusie toe dan aan te nemen dat zich in het bloed in dat geval sulfhaemoglobine bevindt. Dit uit biologisch oogpunt hoogst merkwaardige feit vormt dus een experimenteele bevestiging van het reeds vroeger vermelde, door ARON uitgesproken vermoeden. [2]) BUTTERFIELD [3]) meent dat op deze wijze de verschillen tusschen

[1]) Bij drie konijnen met een SHb-spectrum werd sectie verricht; afwijkingen werden daarbij niet gevonden.

[2]) Zie pag. 68 van dit boekje.

[3]) BUTTERFIELD, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 62, 1909, pag. 177.

de resultaten van Bohr en Hüfner niet kunnen worden verklaard. Aron steunt hoofdzakelijk op een aantal sterk schommelende waarnemingen met den spectrophotometer; wanneer de door hem waargenomen verschillen werkelijk zouden zijn toe te schrijven aan de aanwezigheid van overeenkomstige hoeveelheden methaemoglobine, dan zou dit gemakkelijk reeds spectroscopisch zijn aan te toonen. [1]) Tot dusver heeft echter niemand van dergelijke spectroscopische waarnemingen melding gemaakt.

Dat bij onze proeven het sulfhaemoglobine-spectrum buiten het organisme na de bloedonttrekking zou zijn ontstaan, *is geheel uitgesloten:* bij de 4 dieren, die de afwijking het meest intensief vertoonden (nrs. 3, 13, 14, 23) hebben wij, *bij eenvoudige doorlichting van de dubbelgevouwen ooren het spectrum duidelijk in vivo, in het stroomende bloed,* waargenomen. Deze doorlichting geschiedde met een koolspitsenlamp; een zaklantaarn geeft in dit geval niet genoeg licht.

De spectroscopie geschiedde steeds in een verdunning van ongeveer 1 deel bloed op 3 deelen water (laagdikte 1 c.c.), daarna bij verdere verdunningen. Deze hooge concentratie is noodig, omdat anders een zwakke absorptie in het rood niet wordt gezien.

Eindelijk hebben wij getracht, een indruk te krijgen van de hoeveelheid sulfhaemoglobine, in dergelijke gevallen aanwezig. In de tabel kan men zien, dat in de gevallen 3, 13, 14 en 23 een intensieven band in het rood werd waargenomen, reeds duidelijk zichtbaar in het stroomende bloed; in andere gevallen was dit minder sterk, in de groote meerderheid negatief. Beschouwen wij de zwak positieve en twijfelachtige reacties als negatief, dan blijven over 11 duidelijke (waarvan 4 sterk positieve) gevallen van sulfhaemoglobinaemie bij 55 konijnen. Van het konijn n°. 3 (waarvan het bloed een band in het rood vertoonde, weinig minder sterk dan die van patient Karel V.) werd nu het bloed onderzocht op zijn specifieke O_2-capaciteit.

[1]) In elk geval worden op deze wijze niet de te *hooge* waarden van Bohr verklaard.

Er werd achtereenvolgens door steriele spuiten bloed opgezogen uit de aorta, v. cava en v. portae (die door een ligatuur zoo dicht mogelijk bij de porta hepatis werd gestuwd).

V. portae. Hieruit konden niet meer dan 7 c.c. bloed worden verkregen, waardoor slechts 4 gasanalysen mogelijk waren.

Zuurstofbindend vermogen.	*IJzergehalte.*
156.4 154.2	0.4447
154.5 155.7	0.4431
155.2	0.4439

Specifieke zuurstofcapaciteit = 350.
Capacitair deficit = 12.5 %.

Aorta. Het aorta-bloed gaf de volgende resultaten:

Zuurstofbindend vermogen.	*IJzergehalte.*
154.9 153.7	0.4287
153.2 154.2	0.4269
154.0	0.4278

Specifieke zuurstofcapaciteit = 362.
Capacitair deficit = 10 %.

V. cava. Het bloed uit de v. cava werd niet voldoende geschud, waardoor het stolde. Gasanalysen werden daarom niet uitgevoerd.

Het bloed van dit konijn vertoonde dus een duidelijke daling van de specifieke zuurstofcapaciteit. Aan het waargenomen verschil tusschen aorta- en porta-bloed (± 2½ %) meen ik geen beteekenis te moeten toekennen, omdat het — bij dit kleine aantal analysen — binnen de grenzen der waarnemingsfouten valt.

De voornaamste conclusie, uit deze experimenten te trekken, is de volgende. Het moge waar zijn, dat het normale, onveranderde haemoglobine steeds 2 atomen zuurstof bindt op 1 atoom ijzer; *niet juist is daarentegen de uitbreiding, daaraan door* HÜFNER *gegeven:* «Die Blutfarbstoffe einer Reihe höherer Thiere [1]) haben wasserfrei sämmtlich das gleiche Molekular-

[1]) Waarmede hij óók het konijn bedoelt.

gewicht und damit auch die gleiche Capacität für Kohlenoxyd und Sauerstoff». [1])

De specifieke zuurstofcapaciteit bij eenige anaemieën. De haematinaemie.

In het afgeloopen decennium is het aantal ziekteprocessen, waarbij haemoglobineveranderingen werden waargenomen, aanzienlijk gestegen. Het is vooral de verdienste van Schumm [2–7]), op de belangrijke beteekenis en het tamelijk veelvuldig voorkomen van de haematinaemie te hebben gewezen. Nadat hij bij een geval van chroomzuurvergiftiging in het circuleerende bloedplasma belangrijke hoeveelheden haematine had gevonden, heeft hij het bloed van een groot aantal patienten spectroscopisch onderzocht. Het bleek hem, dat de haematinaemie allerminst als een zeldzame afwijking is te beschouwen: bij zeer uiteenloopende aandoeningen — als *malaria, anaeroben-sepsis, eclampsie, buitenbaarmoederlijke zwangerschap, pernicieuze anaemie, chronische familiaire icterus,* — kreeg hij een positief resultaat. Ook Schottmüller [8]) wees op de diagnostische beteekenis der haematinaemie. De waarnemingen van Schumm werden, voor zoover betreft de pernicieuze anaemie, spoedig bevestigd door Hijmans van den Bergh en Snapper [9]), die bovendien bij de miltexstirpatie bij een geval van pernicieuze anaemie in het bloed der miltader meer haematine vonden (spectroscopisch beoordeeld naar de dikte van de streep) dan in dat van de v. cubiti. Feigl [10]) zag haematinaemie

---

[1]) Hüfner, Archiv für (Anat. u) Physiologie, 1894, pag. 176.
[2]) Schumm, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 80, 1912.
[3]) Schumm, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 87, 1913.
[4]) Schumm, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 97, 1916.
[5]) Schumm, Münch. med. Woch. Schrift 1912, n°. 53.
[6]) Schumm, Münch. med. Woch. Schrift 1914, n°. 28.
[7]) Schumm, in Festschrift des Eppendorfer Krankenhauses.
[8]) Schottmüller. Münch. med. Woch. Schrift 1914, n°. 5.
[9]) Hijmans van den Bergh en Snapper, Über anhepatische Gallenfarbstoffbildung, Berl. klin. Woch. Schrift 1915, n°. 42, en: Hijmans van den Bergh, Der Gallenfarbstoff im Blute, 1918.
[10]) Feigl, Münch. med. Woch. Schrift 1914, n°. 28.

optreden in een geval van vergiftiging met kaliumchloraat. Het onderzoek van het serum op haematine bij ectopische zwangerschap is herhaald door THORMAEHLEN [1]) en kort geleden door HILTERMANN [2]) die beiden in een groot aantal gevallen een positief resultaat kregen. Onlangs is door HOFSTEE [3]) beschreven een geval van intraperitoneale bloeding bij een myxocystoma ovarii, waar eveneens haematine in het serum werd gevonden. Alle tot dusver waargenomen gevallen van haematinaemie stemmen hierin overeen, dat er steeds plaats heeft afbraak van bloed.

SCHUMM zag, wat betreft het voorkomen van haematinaemie, een zeer scherpe tegenstelling tusschen de z.g. secundaire anaemieën en de pernicieuze anaemie: terwijl bij de eerste door hem nimmer dit verschijnsel werd aangetroffen, leverden alle onderzochte (10) gevallen van pernicieuze anaemie een positief resultaat op.

Bij de volgende uiteenzetting zal ik de door mij onderzochte gevallen van anaemie indeelen in twee groepen:

1°. *chloro-anaemieën* of *secundaire anaemieën*, zich kenmerkende door een lagen kleurindex, en afwezigheid van verschijnselen van haemolyse (geen hyperbilirubinaemie, geen haematinaemie, geen urobilinurie);

2°. *haemolytische* anaemieën, gepaard gaande met een hoogen kleurindex en verschijnselen van verhoogde bloedafbraak (hyperbilirubinaemie, resp. haematinaemie, gewoonlijk urobilinurie).

Het bilirubinegehalte van het serum — dat in alle gevallen werd bepaald door Dr. P. MULLER — is uitgedrukt in de scala-HIJMANS VAN DEN BERGH; een normaal persoon heeft ongeveer een bilirubinegehalte van 0.4—0.5 eenheden, hoogstens 0.8 eenheden (afgezien van de z.g. constitutioneele hyperbilirubinaemie).

---

[1]) THORMAEHLEN, Mitteilungen aus den Grenzgrebieten der Med. und Chir. Bd. 30. 1918.

[2]) HILTERMANN, Haematocele retrouterina, Acad. Proefschrift, Amsterdam 1921.

[3]) HOFSTEE, Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde, 1922, 14 Jan.

Secundaire anaemieën.

Over de resultaten van het onderzoek naar de specifieke O_2-capaciteit, verkregen bij een 7-tal secundaire anaemieën, kan ik kort zijn. Het waren alle anaemieën van het niet-haemolytisch type, waarbij het serum weinig bilirubine en geen haematine bevatte, de kleurindex laag was, en de urine geen of een zeer zwakke urobiline-reactie vertoonde. Intraglobulaire omzetting van het haemoglobine in methaemoglobine of sulfhaemoglobine was spectroscopisch niet aan te toonen. Kortheidshalve zie ik bij deze gevallen af van het weergeven der ziektegeschiedenissen; de gegevens vindt men samengevoegd in Tabel IV, waaruit dadelijk blijkt dat de eindwaarden geheel vallen binnen de grenzen der waarnemingsfouten.

In deze 7 gevallen van «secundaire» anaemie heeft dus de bloedkleurstof haar normale specifieke zuurstofcapaciteit behouden, en 2 atomen zuurstof gebonden op 1 atoom ijzer.

Anaemieën van het haemolytisch type.

Het bleek mij al spoedig dat bij deze vormen van anaemie (b.v. die van Addison-Hunter) de verhoudingen minder eenvoudig waren. Voor dit onderzoek werden alleen klassieke voorbeelden van pernicieuze anaemie gekozen, waarbij de klinische diagnose boven allen twijfel stond; dit maakte de statistiek weliswaar kleiner, maar meer betrouwbaar.

Geval I. Johannes M., 53 jaar, wever van beroep.

Betrouwbare anamnestische gegevens zijn van patient moeilijk te krijgen. In hoofdzaak komen zijn klachten neer op toenemende sufheid en vermoeidheid en hoofdpijn. Verder is hij den laatsten tijd *zeer bleek* geworden. Vroeger zou hij *lues* gehad hebben. Bij onderzoek worden geen afwijkingen gevonden, in 't bijzonder niet zoodanige, die zijn sterke anaemie zouden kunnen verklaren. Van een chronische vergiftiging is geen sprake. Tumoren zijn nergens te voelen; de ontlasting bevat nooit occult bloed of porphyrine, evenmin eieren van parasieten. De reactie van Wassermann is negatief. Daarentegen vertoont patient het *typische bloedbeeld der pernicieuze anaemie in het haemolyse-stadium:*

TABEL IV. **Secundaire anaemieën.**

Naam en diagnose.	Morphologie v.h. bloed.	Serum.	Respiratorische cap. van 3 c.c. haem.	IJzergehalte van 3 c.c. haem.	Specifieke O_2-cap.
I. Arie v. d. B. Ulcus ventriculi Posthaemorrh. anaemie.	Haemogl. 50 % Erythr. 3.000.000 Leuc. 7600 Geen kerhoudende roode cellen Index < 1.	Bilirubinegehalte van het serum 0.4 Haematine negatief	108.7 108.2 107.2 107.5 106.7 107.9 107.7	0.2691 0.2665 0.2678	**402**
II. Mej. Schuurm. Myxoedeem Sec. anaemie	Haem. 55 % Erythr. 3.200.000 Index < 1.	Bilirubine 0.35 Haematine negatief	124.4 123.5 124.9 124.8 124.1 124.4 123.8 125.2 124.4	0.3112 0.3090 0.3101	**401**
III. Mej. van S. Abortus posthaem. anaemie	Haem. geh. 50 % Erythr. 3.420.000 Index < 1.	Bilirubine 0.3 Haematine negatief	114.3 115.1 114.7 114.9 114.0 113.9 114.5	0.2893 0.2902 0.2898	**395**
IV. Gerrit Gaz. Gastrogene diarrhoeën Enterogene anaemie	Haem. 65 % Erythr. 4.300.000 Index < 1	Bilirubine 0.3 Haematine negatief	155.0 156.6 154.9 153.4 154.5 154.4 157.0 155.5 155.0	0.3810 0.3828 0.3819	**406**
V. Klaas E. Algemeene streptokokken-sepsis Sec. anaemie	Haem. 55 % Erythr. 2.800.000 Index ± 1. Leuc. 20.000.	Bilirubine te laag om af te lezen. Haematine negatief	138.0 137.9 137.8 138.5 138.3 137.4 138.3	0.3425 0.3449 0.3437	**401.5**
VI. Cornelis H. Rachitis tarda Sec. anaemie	Haem. 55 % Erythr. 3.760.000 Index < 1.	Bilirubine zeer laag. Haematine negatief	108.2 108.4 108.8 108.0 109.1 108.0 107.8 108.4 108.4	0.2731 0.2719 0.2725	**398**
VII. Mej. H. Sec. anaemie (causa ?)	Haem. 35 % Erythr. 2.700.000 Index < 1.	Bilirubine zeer laag Haematine negatief	69.6 69.2 69.2 68.9 68.9 69.4 67.8 67.7 68.8	0.1707 0.1730 0.1719	**400**

Serum: Bilirubine 1.0. Vertraagde reactie.
Haematine + + + + Zeer sterk positief.

Haemoglobine 40 % Sahli } kleurindex 1.4
Erythrocyten 1.400.000 }

Leucocyten 3300, waarvan 38 % eenkernigen.

Preparaat: zeer sterke aniso- en poikilocytose, polychromasie; kernhoudende roode cellen werden niet gezien.

In de gehaemolyseerde roode bloedlichaampjes geen spectrale veranderingen te zien.

De *lichaamstemperatuur* is licht verhoogd, en de *urine* bevat *zeer veel urobiline.*

Er is *anaciditeit* van het maagsap.

Zooals uit de tabel blijkt, bedroeg hier de specifieke O_2-capaciteit 350, en was er dus een **capacitair deficit van ± 13 %.**

Geval II. Teunis van den Br., 53 jaar, voerman.

Anamnese: In den laatsten tijd na 't gebruik van vaste spijzen een zwaar gevoel in de maagstreek; hij kan weinig voedsel tegelijk verdragen. Hij braakt niet. Eetlust is tamelijk slecht. Vaak dunne ontlasting. In den laatsten tijd veel hoofdpijn en last van koude handen en voeten. Lues wordt ontkend.

Onderzoek. Bij deze bleeke, licht icterische man worden geen afwijkingen gevonden die de anaemie kunnen verklaren (geen vergiftigingen, geen tumoren, negatieve Wassermann, enz.). De dunne ontlasting bevat nooit bloed, slijm of etter. Er is anaciditeit van het maagsap. Ook hier weer het typische *bloedbeeld van de pernicieuze anaemie tijdens het haemolyse-stadium:*

Serum: Bilirubine gehalte 1.15. Vertraagde reactie.
Haematine + + + + Zeer sterk positief.

Haemoglobine 50 % } kleurindex = 1.5.
Erythrocyten 1.618.000 }

Leucocyten 3850.

Thrombocyten 80.000.

Zeer sterke aniso- en poikilocytose; geen kernhoudende roode cellen gezien.

In de gehaemolyseerde roode bloedlichaampjes zijn *geen spectroscopische veranderingen* te zien.

De *urine* bevat, behalve een spoor eiwit, *zeer veel urobiline.*

TABEL V.

Pernicieuze anaemieën.

Naam.	Bloedbeeld.	Respir. Capaciteit.	IJzergehalte.	Spec. O_2-cap.	Cap. Deficit.
I. Joh. M. Stadium van haemolyse	Bilirubine 1.0 Haematine + + + + Kleurindex 1.4	73.3 74.7 75.4 74.0 74.7 75.8 76.7 74.2 75.0	0.2132 0.2160 0.2146	**350**	**± 13 %**
II. Teunis v. d. B. Stadium van haemolyse	Bilirubine 1.15 Haematine + + + + Kleurindex 1.5	114.3 113.4 114.9 114.0 113.7 114.6 115.2 114.6 114.6	0.3138 0.3150 0.3144	**364**	**± 9 %**
III. Mej. K.—L. Stadium van haemolyse.	Bilirubine 1.6 Haematinenegatief Kleurindex 1.5	68.8 69.7 68.0 68.1 67.1 67.6 68.7 69.2 68.4	0.1911 0.1920 0.19155 0.1896 0.1898 0.1897	**357** **361**	**11 %** **10 %**
IV. Mej. M. Geen haemolyse	Bilirubine 0.4 Haematine negatief Index < 1	89.9 90.9 89.3 88.7 90.6 89.6 89.4 90.5 89.9	0.2210 0.2236 0.2223	**404**	**± 0**

TABEL V. (Vervolg)

Pernicieuze anaemieën.

Naam.	Bloedbeeld.	Respir. Capaciteit.	IJzergehalte.	Spec. O_2-cap.	Cap. Deficit.
V. BEREND E. Geen haemolyse	Bilirubine 0.3 Haematine negatief Index = 1	81.9 82.9 83.5 81.9 83.4 82.8 82.7	0.2016 0.2032 0.2024	**409**	± **0** (**2 % te hoog**)
VI. C. H. Dr. Interval	Bilirubine 0.35 Haematine negatief Kleurindex ± 1	136.4 136.6 135.1 135.2 135.8 136.0 135.9	0.3366 0.3385 0.3376	**402**	± **0**

Tabel VI.

Pernicieuze anaemieën.

VII. W. v. T. *Eerste waarneming a.* tijdens haemolyse (8 Januari)	Bilirubine 1.35 Haematine + + Kleurindex 1.4	58.2 55.4 56.5 57.7 57.9 56.3 56.5 55.9 56.8	0.1558 0.1570 0.1564	**364**	**ruim 9 %**
Dezelfde, *b*, bij afwezigheid van haemolyse- verschijnselen (2 Februari)	Bilirubine 0.4 Haematine negatief Index ± 1	135.1 134.6 134.2 134.9 136.0 135.8 135.1	0.3428 0.3412 0.3420	**395**	± **0** (**1½ % te laag**)

Het onderzoek van O_2-bindend vermogen en ijzergehalte geeft als resultaat:

Specifieke zuurstofcapaciteit = 364.

Capacitair deficit = 9 %.

Geval III. Mej. K.—L., oud 64 jaar, huisvrouw.

Anamnese. Sinds een paar jaar klachten over moeheid en hangerigheid en een wee gevoel in den buik. Het laatste jaar heeft ze vaak dunne ontlasting: defaecatie 1 à 2 maal per dag, maar de ontlasting is dunner dan normaal; bij aanvallen zijn de diarrhoeën erger, ze braakt dan soms ook. Veel hartkloppingen, oorsuizen en moeheid; ze heeft absoluut geen eetlust, is echter niet vermagerd.

Onderzoek. Zeer bleeke, licht icterische vrouw. Behalve systolische geruischen aan alle hart-ostia en enkele vochtige rhonchi aan de longranden, worden geen afwijkingen gevonden. Wel is het sternum zeer pijnlijk bij druk. De urine bevat zeer veel urobiline. Ook hier wordt geen enkele oorzaak voor de anaemie gevonden. De milt is niet te voelen. In de fundus oculi enkele bloedingen.

Het bloed vertoont het *typische beeld van de pernicieuze anaemie:*

Serum: Bilirubinegehalte 1.6. Vertraagde reactie.
Haematine negatief.

Haemoglobine 38 % Sahli
Erythrocyten 1.314.000
} kleurindex = 1.5.

Leucocyten 2500.

Thrombocyten 86.000.

In het preparaat enkele normoblasten en megaloblasten. De gehaemolyseerde lichaampjes vertoonden geen spectroscopische afwijkingen.

Specifieke zuurstofcapaciteit: 357.

Capacitair deficit: 11 %.

Den volgenden dag werden van dezelfde haemoglobine-oplossing nogmaals 2 ijzerbepalingen verricht; voor het ijzergehalte werd thans een waarde gevonden, ongeveer 1 % lager dan den vorigen dag, zoodat thans het capacitaire deficit bedroeg 10 % (gasanalysen werden niet opnieuw verricht, omdat de haem. opl. 24 uur had gestaan). Hiermee was wel voldoende duidelijk, dat de daling der S. O. C. niet was toe te schrijven aan technische fouten.

Bij bovengenoemde 3 gevallen van pernicieuze anaemie in het stadium van haemolyse werd dus gevonden een belangrijke daling der specifieke zuurstofcapaciteit (Tabel V, gevallen I, II en III).

In zekeren zin een tegenstelling hiermee vormen een drietal waarnemingen die ik thans zal mededeelen. (Tabel V, gevallen IV, V en VI).

Geval IV. Mej. M., 47 jaar, werkvrouw.

Anamnese. Sinds een half jaar ziet patiente *bleek*, is ze *lusteloos* en spoedig *vermoeid* en heeft ze vaak *hoofdpijn*. Den laatsten tijd kreeg ze pijn in de *borst* en in de *tong;* door dit laatste veroorzaakte het eten pijn. Sinds eenige dagen heeft ze *diarrhoe,* voelt ze zich erg ziek en *braakt* ze af en toe. Zes gezonde kinderen, geen miskramen.

Onderzoek. Huid en slijmvliezen zijn zeer bleek en licht icterisch. Hier en daar zijn in de huid enkele petechiën. De tong is bleek en atrophisch, met kleine blaartjes aan de randen. Behalve een systolisch geruisch boven alle hart-ostia en een drukpijnlijk borstbeen worden bij het onderzoek van den thorax geen afwijkingen gevonden. De *milt* is duidelijk te voelen en voelt vast aan. Ook de lever en de rechter nier zijn even te voelen. Overigens in den buik geen afwijkingen te vinden, ook niet bij vaginaal en rectaal onderzoek.

De *urine* bevat *zeer veel urobiline.* De ontlasting bevat geen bloedsporen, geen wormeieren.

De reactie van WASSERMANN is negatief.

Bloedbeeld bij binnenkomst (21 Augustus):

Serum: Bilirubinegehalte 1.8, vertraagde reactie.
Haematine: door vergissing hierop niet onderzocht.

Haemoglobine 30 %
Erythrocyten 1.130.000 } Index = 1.3.
Leucocyten 5600.

Preparaat: veel aniso- en poikilocytose, polychromasie, basophile korreling; geen normo- en megaloblasten gezien.

Bij binnenkomst bevond patient zich dus in een *aanval van haemolyse.* In dit stadium werd de O_2-capaciteit niet onderzocht. Zij werd nu behandeld met subcutane arsenicum-injecties volgens VON ZIEMSSEN, en langzamerhand ging de toestand iets vooruit, hoewel het haemoglobine-gehalte slechts zeer langzaam toenam.

Eenige weken na binnenkomst (14 Sept.) wordt een onderzoek ingesteld naar de specifieke O_2-capaciteit. Thans is het bloedbeeld als volgt:

Serum: Bilirubine 0.4.
Haematine negatief.

Haemoglobine 40 % } Index ± 1
Erythrocyten 2.200.000 }

In het preparaat norboblasten en megoblasten.

Spectroscopisch geen intrag'obulaire afwijkingen te zien.

De specifieke zuurstofcapaciteit bedroeg **404**, had dus een normale waarde.

Geval V. Berend E., 67 jaar, fabrieksarbeider.

Anamnese. Sinds ± 3 maanden spoedig kortademig bij inspanning. Over 't algemeen klaagt patient over trage ontlasting. In de kliniek wisselen perioden van trage ontlasting af met tijden van diarrhoe. De eetlust is slecht. Patient zegt zeer weinig, zoodat het verder moeilijk is, anamnestische gegevens te verkrijgen.

Onderzoek. Huid en slijmvliezen zijn zeer bleek en een weinig icterisch. Bij physisch onderzoek worden geen afwijkingen gevonden. Nergens worden afwijkingen gevonden die de anaemie kunnen verklaren. In de ontlasting geen bloed, geen wormeieren. In de urine veel urobiline.

Bloedbeeld.

Serum: Bilirubinegehalte 1.8, vertraagde reactie.

Haemoglobine 35 % } Index ± 2!
Erythrocyten 900.000 }

Leucocyten 3400.

Preparaat: enkele normo- en megaloblasten.

Tijdens het verblijf in de kliniek verbeterde de algemeene toestand geleidelijk. Op het oogenblik dat de zuurstofcapaciteit werd bepaald, was het bloedbeeld als volgt:

Serum: Bilirubinegehalte 0.3.
Haematine negatief.

Haemoglobine 37 % } Index = ± 1.
Erythrocyten 1.850.000 }

Spectroscopisch geen intraglobulaire afwijkingen.

Op dit tijdstip bedroeg de **specifieke zuurstofcapaciteit 409**,

d. i. 2 % meer dan de theoretische waarde. Deze afwijking valt hier wel binnen de grenzen der waarnemingsfouten, zoodat we dit als een normale waarde moeten beschouwen.

Geval VI. C. H. Dr., 31 jaar, bontwerker.

Het zou mij hier veel te ver voeren volledig verslag te geven van de lange geschiedenis van dezen patient. Het zij genoeg, te vermelden, dat het hier betrof een klassiek geval van pernicieuze anaemie[1]), dat in den loop van 3 jaar in 6 „aanvallen" verliep, waarbij patient telkens in de medische kliniek werd behandeld. Tijdens den 6^{en} aanval is patient gesuccombeerd; post mortem werd de diagnose pernicieuze anaemie bevestigd.

Bij dezen man werd de specifieke zuurstofcapaciteit bepaald, na afloop van den 4^{en} aanval, na zijn ontslag uit de kliniek, tijdens het interval, terwijl hij zich weer hersteld gevoelde. Het bloedbeeld — dat tijdens de aanvallen steeds de typische verschijnselen gaf der pernicieuze anaemie, als hyperbilirubinaemie, hoogen kleurindex, leucopenie, thrombopenie, kernhoudende roode cellen, enz. — was op dit oogenblik als volgt:

Serum: Bilirubinegehalte 0.35 (tijdens den afgeloopen aanval eens 2.8!)
Haematine negatief.
Haemoglobine 65 % (was 25 % geweest!)
Erythrocyten 3.020.000. *Index* ± 1.
Praeparaat: enkele kernhoudende roode cellen.
Spectroscopisch intraglobulair niets bijzonders.

Specifieke zuurstofcapaciteit 402.

Bij nadere beschouwing van de 6 beschreven gevallen — samengevoegd in Tabel V — valt het volgende op te merken.

Alle 6 patienten waren lijdende aan pernicieuze anaemie. De drie eersten bevonden zich in het stadium van bloedafbraak, en vertoonden een daling der specifieke zuurstofcapaciteit; bij de drie laatsten werd het onderzoek verricht op een oogenblik, dat alle verschijnselen van bloedafbraak afwezig waren; daarbij had de specifieke O_2-capaciteit de normale waarde. Het spreekt vanzelf dat zes gevallen geen conclusie toelaten;

[1]) Alleen de leeftijd van den patient deed een oogenblik twijfel rijzen aan de diagnose; het verdere verloop bevestigde de diagnose echter volkomen.

maar zij waren een reden om te denken aan de mogelijkheid dat de waarde der specifieke zuurstofcapaciteit bij de pernicieuze anaemie — een ziekte die bij uitstek cyclisch pleegt te verloopen — niet steeds gelijk zou zijn op verschillende tijdstippen gedurende het ziekteproces. Er werd daarom besloten bij volgende gevallen reeksen van waarnemingen te verrichten op verschillende oogenblikken bij denzelfden patient. Bij de mededeeling van deze gevallen zal ik noodzakelijk iets uitvoeriger moeten zijn.

Geval VII. Willem van T., 42 jaar oud, zoetelaar van beroep. (Tabel VI).

Sinds eenige weken klaagt patient over toenemende vermoeidheid, krachteloosheid in zijn extremiteiten, en lichte aanvallen van syncope. De eetlust is tamelijk goed, wel is hij vaak misselijk, en heeft hij dikwijls een branderig en pijnlijk gevoel aan de tongranden. Sedert een dag of tien heeft hij diarrhoe. In den laatsten tijd is hij bleek geworden en geel gaan zien. Reeds drie maal heeft hij een aanval van dergelijke klachten gehad, waarbij in de kliniek de diagnose werd gesteld op pernicieuze anaemie.

Bij physisch onderzoek worden geen afwijkingen gevonden. De tong is atrophisch en vertoont aan de randen enkele kleine blaartjes. Boven alle hart-ostia worden systolische geruischen gehoord, het sterkst aan de punt. De milt is niet te voelen. De urine bevat zeer veel urobiline. Tijdens het verdere verblijf in de kliniek wordt geen enkele afwijking gevonden als oorzaak voor de zeer ernstige anaemie.

Op *8 Januari* is het *bloedbeeld* aldus:

Serum:	Bilirubinegehalte 1.35. Vertraagde reactie. Haematine: een spoor.	
Haemoglobine	33 % Sahli	Index ± 1.5.
Erythrocyten	1.100.000	
Leurocyten	4000.	
Praeparaat:	poikilo- en anisocytoce, basophile korreling, kernhoudende roode cellen. Spectroscopisch in de haemoglobine-oplossing geen afwijkingen.	

Patient bevindt zich dus in een *stadium van bloedafbraak.*

Specifieke zuurstofcapaciteit: 364.
Capacitair deficit: ± 9 %.

Patient, die behandeld wordt met arsenicuminjecties volgens VON ZIEMSSEN, gaat intusschen zeer snel vooruit. Zijn bleekgele gelaatskleur maakt langzamerhand plaats voor een meer roode tint; de lichaamstemperatuur die tijdens den aanval steeds licht verhoogd was, wordt normaal, en de man voelt zich uitstekend; het haemoglobinegehalte heeft zich intusschen verdubbeld, zoodat op 2 Febr. het bloedbeeld is als volgt:

Serum: Bilirubinegehalte 0.4.
Haematine negatief.

Haemoglobinegehalte 60 % sahli
Erythrocyten 3.015.000 } *kleurindex* ± 1.

Wij mogen dus aannemen, dat hij op dit oogenblik den aanval weer te boven was, en zich bevond in het regeneratie-tijdperk.

Het resultaat van het onderzoek was nu:

Specifieke zuurstofcapaciteit: 395.

De geringe afwijking van de theorethische waarde viel thans wel binnen de grenzen der waarnemingsfouten.

Geval VIII. ROMKE VAN DER V., 56 jaar, werkman. (Tabel VII, Curve I. [1])

Sinds 5 jaar heeft patient periodiek last van *diarrhoeën, vermoeidheid, oorsuizen, krachteloosheid,* en *gebrek aan eetlust.* In die aanvallen ziet hij *zeer bleek* en *geelbruin.* Soms heeft hij *een rauw en pijnlijk gevoel aan de tong en in de keel,* en een *vol gevoel op de maag.* Hij is niet merkbaar vermagerd. Tusschen de aanvallen voelt hij zich ongeveer 4 maanden vrij goed. Hij maakt thans zijn 4^{den} aanval door.

Bij onderzoek worden geen physische afwijkingen gevonden. Huid en slijmvliezen zijn zeer bleek, licht icterisch, met bruine bijtint. Zeer sterke urobilinurie. Evenals bij de vorige aanvallen wordt ook thans geen enkele oorzaak voor de sterke anaemie gevonden.

Bij opname in de kliniek (20 Aug. 1920) is het bloedbeeld:

Serum: Bilirubinegehalte 2.0, vertraagde reactie.
Haematine sterk positief.

Haemoglobine 50 %
Erythrocyten 2.170.000 } *Kleurindex* = 1.2.
Leucocyten 4300.

Praeparaat: sterke anisocytose, poikilocytose, megalocyten. Geen kernhoudende roode cellen gezien.

[1]) Curve I na pag. 112.

Bij dezen patient met pernicieuze anaemie werd in den loop van 6 maanden 5 maal de specifieke zuurstofcapaciteit onderzocht.

Op het oogenblik van de *eerste waarneming* (11 Sept. 1920) zijn zijn klachten nog onverminderd blijven bestaan. De bloedveranderingen zijn eer toe- dan afgenomen: het bilirubinegehalte van het serum bedraagt 2.15, en dit laatste bevat *zeer veel haematine*.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 382.
Capacitair deficit = ± 5 %.

Een *tweede onderzoek*, ongeveer 3 weken later (4 October 1920), gaf een vrijwel overeenkomstig resultaat.

Klinisch was de toestand ongeveer dezelfde gebleven; het haemoglobinegehalte bleef op dezelfde hoogte, het serum bevatte veel bilirubine (2.9!) en haematine (misschien iets minder dan bij de eerste waarneming, voor zoover men op grond van herinnering mocht oordeelen).

Thans **specifieke zuurstofcapaciteit = 377.**
Capacitair deficit = 6 %.

De laatste dagen was patient begonnen zich subjectief beter te gevoelen. Het verdere verloop ontwikkelde zich snel in gunstigen zin; de toestand werd zóóveel beter, dat reeds den 15^{en} October het haemoglobinegehalte was gestegen tot 70 %; de bloedafbraak was, te oordeelen naar het dalende bilirubinegehalte (1.8) en de afwezigheid van haematine in het serum, sterk verminderd. Bij zijn ontslag uit de kliniek (21 October) maakt patient het uitstekend; hij heeft in het geheel geen klachten meer, en zijn gelaatskleur is sedert zijn binnenkomst veel veranderd. Het haemoglobinegehalte is gestegen tot 80 %, het bilirubinegehalte daalt snel (bedraagt thans 1.3), terwijl geen spoor haematine meer in het serum is aan te toonen.

Op dit oogenblik bedraagt de **specifieke zuurstofcapaciteit 396**, heeft dus een normale waarde; althans het verschil met het theoretische getal 401 valt binnen de grenzen der waarnemingsfouten.

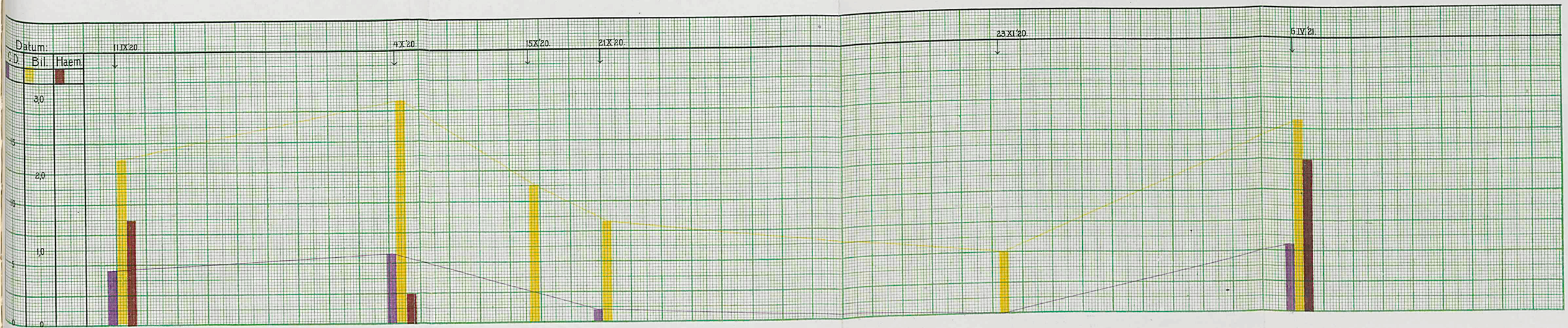
Een *vierde* onderzoek werd ingesteld tijdens het interval, toen patient zich niet in de kliniek bevond; zijn toestand was uitstekend, en zonder bezwaar kon hij zijn zwaren arbeid verrichten. Resultaat:

TABEL VII.

Pernicieuze anaemiecën.

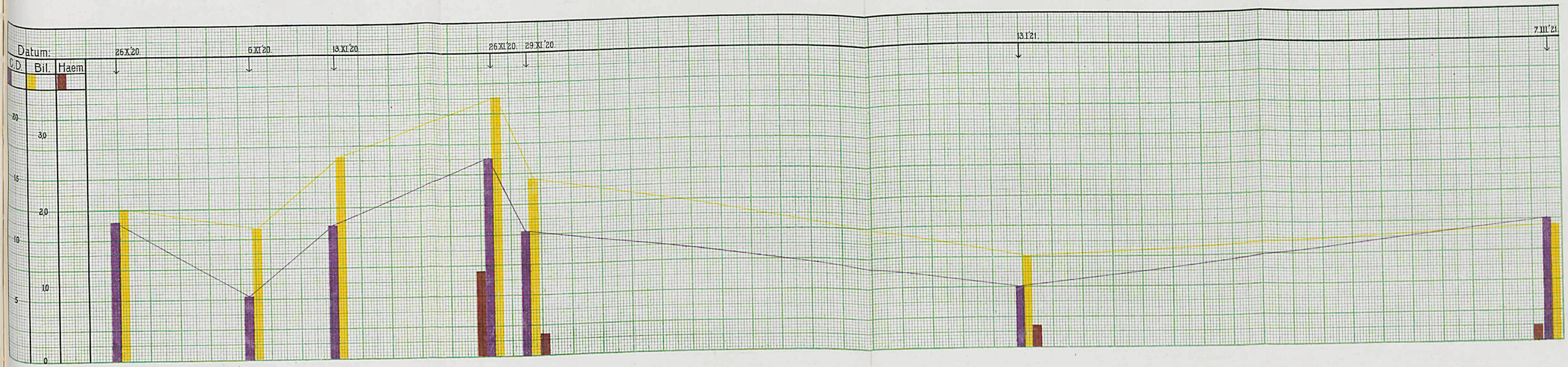
Naam.	Bloedbeeld.	Resp. cap.	IJzergehalte.	Sepc. O_2-cap.	Cap. deficit.
VIII. Romke v. d. V. *1e waarneming a.* Haemolyse; 11 Sept.	Bilirubine 2.15 Haematine + + +	85.1 84.3 82.8 83.2 84.1 84.8 83.5 84.3 84.0	0.2198 0.2206 0.2202	**382**	± 5%
2e waarneming b. 4 Oct.	Bilirubine 2.9 Haematine + +	121.0 121.3 120.0 120.7 119.1 119.7 120.2	0.3197 0.3183 0.3190	**377**	± 6%
3e waarneming c. (21 Oct.) Hyperbilirubinaemie is bezig te verdwijnen; haemolyse heeft waarschijnlijk opgehouden.	Bilirubine 1.3 Haematine negatief	145.4 144.6 146.0 144.8 143.9 146.2 145.2	0.3656 0.3673 0.36645	**396**	± **0** (1¼%)
4e waarneming d. (23 Nov.) Interval.	Bilirubine 0.8 Haematine negatief	178.6 178.6 179.0 179.4 180.9 180.8 179.6	0.4460 0.4450 0.4455	**403**	**0**
5e waarneming e. (6 April '21) Nieuwe aanval Haemolyse.	Bilirubine 2.5 Haematine + + +	82.7 82.7 83.9 84.1 81.4 82.5 83.3 81.8 82.8	0.2194 0.2189 0.21915	**378**	± 6%

Curve I Romke v. d. V.



OPMERKING: De haematinewaarden zijn slechts ruwe schattingen en werden daarom niet door lijnen verbonden.
Overigens werd er reeds in den tekst opgewezen dat de dunne verbindingslijnen tusschen de bilirubinewaarden en capacitaire deficet elke **werkelijke** beteekenis missen.

Curve II Willem H.



OPMERKING: Zie Curve I.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 403, heeft dus een normale waarde. Het serum blijkt ook thans geen haematine te bevatten en een ongeveer normale hoeveelheid bilirubine (0.8).

Eenige maanden later echter kwam patient opnieuw in de kliniek, in een even treurigen toestand als bij de vorige opname; zijn 5e aanval was begonnen. Hij voelde zich weer even ziek als vroeger en was daarbij zeer gedeprimeerd; het haemoglobinegehalte was weer gedaald tot 50 %, het serum bevatte naast veel bilirubine (2.5 eenheden) weer veel haematine. In dit stadium van haemolyse was ook het zuurstofbindend vermogen weer gedaald:

Specifieke zuurstofcapaciteit = 378.

Capacitair deficit = ± 6 %.

Wij zien uit deze waarnemingen, dat de specifieke zuurstofcapaciteit in dit geval op verschillende oogenblikken van de ziekte niet dezelfde was; overeenkomstige wisselingen werden waargenomen bij den volgenden patient met pernicieuze anaemie.

Geval IX. Willem H., 41 jaar, winkelier. (Tabel VIII, Curve II) [1]).

Tot voor een jaar was patient altijd gezond. Hij begon toen te klagen over koude handen en voeten, een doof gevoel in de ledematen, en krachteloosheid. Hij werd spoedig vermoeid, en voelde zijn krachten zeer snel afnemen. Vaak heeft hij buikpijn, gepaard gaande met dunne, stinkende ontlasting. Deze diarrhoeën worden afgewisseld met tijden van verstopping. Perioden van beterschap wisselen af met die van erger ziek zijn; zoo is patient op het oogenblik lang niet zoo ziek als 14 dagen geleden, hij voelt dat er een „aanval" juist is afgeloopen.

Bij onderzoek vallen op in de eerste plaats de enorme bleekheid van huid en slijmvliezen, alsmede een icterische tint van huid en sclerae. De pols is 100, week, en uitgesproken celer. De tong is niet zeer atrophisch, vertoont geen aphthae; patient klaagt ook niet over pijn in den mond. Het borstbeen is zeer pijnlijk bij druk. Bij physisch onderzoek worden geen afwijkingen gevonden. De urine bevat een enorme hoeveelheid urobiline. Bij herhaald onderzoek worden in de ontlasting geen bloedsporen, geen eieren van parasieten

[1]) Curve II na pag. 112.

gevonden. De reactie van WASSERMANN is negatief. Er wordt verder geen enkele oorzaak gevonden voor de aanwezige anaemie.

Bij binnenkomst is het bloedbeeld:

Serum: Bilirubinegehalte 2.0. Vertraagde reactie. Geen haematine.
Haemoglobine 25 % Sahli.
Erythrocyten 760.000. *Kleurindex* = 2.0.
Rood bloedbeeld: vrij talrijke megaloblasten, geen normoblasten, vrij veel basophile korreling, polychromasie, aniso- en poikilocytose.
Leucocyten 2100, waarvan 50 % eenkernigen.
Bloedplaatjes 57.600.

In dit stadium van levendige bloedafbraak wordt de *eerste waarneming* verricht (26 Oct. 1920):

Specifieke zuurstofcapaciteit = 356.
Capacitair deficit = ± 11 %.

Gedurende de eerste dagen van zijn verblijf in de kliniek scheen het of de toestand een gunstige wending zou nemen. Althans subjectief begon patient zich beter te voelen, hij werd minder lusteloos, zijn stem werd krachtiger en ook zijn eetlust nam toe. Een hernieuwd bloedonderzoek op 6 November gaf het volgende resultaat:

Serum: Bilirubine 1.75. Vertraagde reactie. Geen haematine.

Haemoglobine en *erythrocyten* waren ongeveer hetzelfde gebleven, misschien nog een weinig afgenomen.

Tweede waarneming (6 November 1920):

Specifieke zuurstofcapaciteit = 379.
Capacitair deficit ± 5½ %.

Het bleek echter al dadelijk dat van een remissie geen sprake zou zijn; 8 November begon patient zich weer veel zieker te gevoelen, twee dagen later begon hij te braken en weer dunne, stinkende ontlasting te krijgen (de arsenicum-toediening was reeds een week te voren wegens lichte paraesthesieën gestaakt). De volgende dagen ontwikkelde zich weer een veel sterkere icterus van huid en slijmvliezen, en dat er een intensieve bloedafbraak plaats greep, bleek uit het *onderzoek op 13 November:*

Serum Bilirubinegehalte 2.65 vertraagde reactie. Haematine een spoor.
Haemoglobine 18 %.

Erythrocyten 450.000 (gemiddelde van 3 tellingen: resp. 450.000, 470.000, 440.000).
Kleurindex = 2.5.

Derde waarneming (13 November):

Specifieke zuurstofcapaciteit = 355.
Capacitair deficit = 11½ %.

Bijna zonder onderbreking ging thans de toestand achteruit. Wel is waar voelde patient zich eenige dagen weer wat beter, maar den 23sten November stortte hij opnieuw in; de lichaamstemperatuur steeg tot 39°, en hij voelde zich allerellendigst. Den 25sten November ontwikkelde zich een zeer merkwaardige psychische toestand: hij werd licht apathisch, maar blijkens zijn antwoorden was hij bij bewustzijn; de zonderlinge psychische indruk dien hij maakte deed op het eerste gezicht vermoeden dat hij „in de war" was, wat niet het geval bleek. Naarmate de toestand slechter werd, ontwikkelde zich een vrij sterke mate van euphorie. Daarbij een toenemende kortademigheid, een angstig gevoel van beklemming op de borst. De icterus was de laatste 3 dagen hand over hand toegenomen. Dat de toestand er somber uitzag, moge blijken uit het resultaat van het bloedonderzoek, verricht op 26 November, eenige uren vóór de transfusie:

Serum: Bilirubinegehalte 3.4!! Vertraagde reactie. Haematine duidelijk positief.
Haemoglobine 10 % Sahli
Erythrocyten 220.000! (gemiddelde van 3 tellingen).

Specifieke zuurstofcapaciteit = 337.
Capacitair deficit = 16½ %.

Het was duidelijk dat bij verder afwachten het ergste stond te vreezen, te meer daar de gewone arsenicum-therapie volkomen machteloos was gebleken. Dat hier aan miltexstirpatie geen oogenblik kon worden gedacht, behoeft niet gezegd. Als laatste — zij het in dit geval geringe — kans bleef over de bloedtransfusie, waartoe dan ook door Prof. HIJMANS VAN DEN BERGH werd besloten. Het resultaat van deze behandeling was verrassend. Vanaf dit oogenblik begon de aanval een gunstig verloop te nemen. De verschijnselen van bloedafbraak verminderden meer en meer, de regeneratie nam toe, zooals het bloedonderzoek respectievelijk op 29 November en 13 Januari 1921 deed zien:

TABEL VIII.

Pernicieuze anaemieën.

Naam.	Bloedbeeld.	Respir. Capaciteit.	IJzergehalte.	Spec. O_2-cap.	Cap. Deficit.
IX. Willem Hoogt.	Bilirubine 2.0	55.4 54.6	0.1568	**356**	±**11** %
1e waarneming a.	Haematine nega-	56.2 55.5	0.1559		
(26 Oct.)	tief	55.7 56.9	0.15635		
	Kleurindex 2.0	54.8 56.4			
		55.7			
Dezelfde.	Bilirubine 1.75	43.9 42.3	0.1148	**379**	± **5½** %
2e waarneming b.	Haematine nega-	43.4 44.3	0.1124		
(6 Nov.)	tief	41.7 42.6	0.1136		
		43.0			
Dezelfde.	Bilirubine 2.65	39.2 41.3	0.1142	**355**	±**11½** %
3e waarneming c.	Haematine: spoor	39.8 40.5	0.1119		
(13 Nov.)		41.0 39.5	0.1130		
		40.2			
Dezelfde.	Bilirubine 3.4	32.5 31.7	0.0979	**337**	**16½** %
4e waarneming d.	Haematine + +	33.7 33.3	0.0961		
(25 Nov.)		33.4 32.9	0.0970		
vóór transfusie		31.2 33.0			
		32.7			
Dezelfde.	Bilirubine 2.3	30.7 29.8	0.0857	**359**	**10½** %
5e waarneming e.	Haematine: spoor	29.2 31.1	0.0843		
(29 Nov.)		29.9 30.9	0.0850		
na transfusie.		31.4 31.0			
		30.5			
Dezelfde.	Bilirubine 1.2	95.2 94.6	0.2505	**380**	± **5** %
6e waarneming f.	Haematine: spoor	96.1 95.9	0.2529		
(13 Jan.)		96.0 95.1	0.2517		
		95.5			
Dezelfde.	Bilirubine 1.55	76.7 77.8	0.2143	**358**	**10½** %
7e waarneming g.	Haematine: spoor	76.4 77.1	0.2156		
(7 Maart)		78.3 76.0	0.2150		
		77.0			

29 November. *Serum*: Bilirubine 2.3. Vertraagde reactie.
Haematine: een spoor.
Haemoglobine 20 %,
Erythrocyten 520.000.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 359.
Capacitair deficit = 10½ %.

Daarna ging patient snel vooruit. De lichaamstemperatuur werd normaal, de icterus nam steeds af, en huid en slijmvliezen kregen weer een eenigszins roode kleur.

13 Januari. *Serum*: Bilirubine 1.2. Vertraagde reactie.
Haematine: een spoor.
Haemoglobine 40 %.
Erythocyten 1.400.000.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 380.
Capacitair deficit = ± 5 %.

Het succes bleek echter slechts van tijdelijken aard. Eenigen tijd later begon reeds weer de icterus een weinig toe te nemen, en het bloedonderzoek op 7 Maart deed vermoeden dat reeds weer een nieuwe aanval bezig was zich te ontwikkelen, althans het bilirubine gehalte was weer stijgende:

7 Maart. *Serum*: Bilirubine 1.55.
Haematine: een spoor.
Haemoglobine 50 %.
Erythocyten 1.950.000.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 358.
Capacitair deficit = 10½ %.

Kort daarna is patient ontslagen, en heb ik hem verder uit het oog verloren.

De verschillende gegevens, betreffende de gevallen van pernicieuze anaemie, zijn samengevat in de tabellen V—VIII en de curven I en II. [1])

Alvorens tot een kritische bespreking over te gaan wil ik nog een drietal andere ziektegevallen meedeelen, die eveneens gepaard gingen met bloedafbraak. (Tabel X.)

[1]) In de beide curven zijn aangegeven:
a. het capacitaire deficit (violet) in %.
b. het bilirubine-gehalte (geel) in eenheden.
c. de aanwezigheid van haematine (bruin), dit laatste niet quantitatief.

TABEL IX.

Eenige andere gevallen van bloedafbraak.

Naam en diagnose.	Bloedbeeld.	Resp. cap.	IJzergehalte.	Spec. O_2. cap.	Cap. Def.
I. Neeltje van d. H.—P. Haemolytische fam. Icterus *1e waarneming.* (16 Oct.)	Bilirubine 2.7 Haematin negatief	165.5 165.3 163.9 164.8 165.9 164.0 164.9	0.4289 0.4275 0.4282	**385**	**4 %**
Dezelfde. *2e waarneming.* (14 April '21)	Bilirubine 4.05 Haematine + (een spoor)	124.3 124.4 125.7 126.4 127.0 125.8 124.9 125.0 125.4	0.32859 0.32880 0.3287	**382**	**4¾ %**
II. Jacob v. d. G. Aanval van tropische malaria	Bilirubine 2.6 Haematine + (een spoor)	158.5 158.7 159.9 159.7 159.2 159.4 159.2	0.4239 0.4249 0.4243	**375**	**6½ %**
III. Gijsbert v. V. Malaria tertiana Aanval	Bilirubine 0.5 Haematine +	199.1 195.6 200.1 195.9 199.8 200.2 200.0 201.9 199.1	0.5210 0.5228 0.5219	**381**	**5 %**

ENIGE ANDERE GEVALLEN VAN BLOEDAFBRAAK.

Geval I. Mej. N. v. d. H.

Diagnose: Chronische haemolytische icterus.

Bij de *eerste bepaling* (16 October) werd in het serum geen haematine gevonden, daarentegen veel bilirubine (2.7 eenheden, vertraagde reactie.)

Specifieke zuurstofcapaciteit = 385.

Capacitair deficit = 4%.

Bij de *tweede waarneming* (28 October) werd in het serum haematine gevonden en een bilirubinegehalte van 4.05 eenheden (vertraagde reactie).

Specifieke zuurstofcapaciteit = 382.

Capacitair deficit = 4 3/4 %.

Bij de miltexstirpatie, verricht door prof. LAMÉRIS, waren wij in de gelegenheid, het bloed van de art. en v. lienalis te vergelijken. *Het bleek, dat het bilirubinegehalte van het serum in de art. lienalis bedroeg 4.2, dat in de v. lienalis 5.6 eenheden, (beide vertraagde reactie) d.i. 33% meer in de vena dan in de arterie.* De hoeveelheden bloed waren te gering om van beide porties de specifieke zuurstofcapaciteit te bepalen. Tien dagen na de operatie was het bilirubinegehalte van het periphere bloed gedaald op 0.8 eenheden; het had dus een normale waarde gekregen. Om verschillende redenen was ik niet in de gelegenheid thans het onderzoek naar de specifieke O_2-capaciteit bij deze patiente te herhalen.

Geval II betrof een *aanval van tropische malaria.*

Het serum bevatte 2.6 eenheden bilirubine (vertraagde reactie) en duidelijk haematine.

Specifieke zuurstofcapaciteit = 375.

Capacitair deficit = 6.5%.

Geval III was een *aanval van malaria tertiana.* Op het hoogtepunt van de koorts bevatte het serum 0.5 eenheden bilirubine, daarnaast haematine,

Specifieke zuurstofcapaciteit = 381.

Capacitair deficit = 5%.

De gegevens van deze drie gevallen vindt men in Tabel IX.

De in dit hoofdstuk medegedeelde onderzoekingen voeren tot de volgende *conclusies*.

In overeenstemming met de waarnemingen van SCHUMM werd door mij bij de chloro-anaemieën in het serum nimmer haematine aangetroffen[1]); bij haemolytische anaemieën werd daarentegen *zeer dikwijls* een positief resultaat verkregen. In dit geval blijkt de haematinaemie in hooge mate afhankelijk van het stadium der ziekte; bij de pernicieuze anaemie neemt dit verschijnsel in het algemeen toe in perioden van bloedafbraak om bij afname van de haemolyse te verminderen of zelfs geheel te verdwijnen. In het algemeen genomen gaan hier dus de haematinaemie en hyperbilirubinaemie samen. Geheel evenwijdig loopen deze twee verschijnselen echter niet. Hun onderlinge quantitatieve verhouding is aan belangrijke schommelingen onderhevig, niet alleen bij verschillende personen, maar ook bij den zelfden patient op verschillende tijdstippen. Zoo bedroeg b.v. bij patient JOH. M. (Geval I, Tabel V) op het oogenblik der O_2-bepalingen het bilirubinegehalte 1.0 eenheid, terwijl het serum bij deze geringe hyperbilirubinaemie een groote hoeveelheid haematine bevatte; na eenigen tijd was er slechts weinig haematine aantoonbaar, doch was het bilirubinegehalte gestegen tot 1.9 eenheden. Bij vergelijking van sera van verschillende patienten met pernicieuze anaemie vindt men analoge verschillen; terwijl men in het eene geval naast zeer hooge bilirubinewaarden slechts sporen haematine vindt, wordt in een ander naast een veel minder uitgesproken hyperbilirubinaemie een hooger haematinegehalte aangetroffen. Voor een deel vinden deze feiten misschien een verklaring in de volgende overwegingen. Zoowel de hyperbilirubinaemie als de hamatinaemie zijn waarschijnlijk, behalve van de intensiteit van de bloedafbraak, afhankelijk van tal van andere factoren, die bij beide niet dezelfde zijn; Zoo is b.v. het eerstgenoemde verschijnsel niet alleen afhankelijk van de *vorming* van galkleurstoffen, maar ook van haar *uitscheiding*

---

[1]) Bedoeld zijn hier niet alleen de 7 meegedeelde gevallen van chloro-anaemie, maar ook een groot aantal andere (kwaadaardige gezwellen, enz.)

uit de bloedbaan. Niet onwaarschijnlijk is verder dat de haematinaemie in hooge mate in verband staat met de snelheid waarmee het haemoglobine wordt afgebroken tot bilirubine; hoe sneller dit proces zich afspeelt, des te minder kans bestaat er dat men een tusschenproduct als haematine te zien krijgt. Eindelijk moet men denken aan de mogelijkheid, dat niet steeds alle haematine in bilirubinebehoeft te worden omgezet; en evenmin staat het vast, dat in alle gevallen van anhepatische bilirubine-vorming noodzakelijk het stadium der haematine moet worden doorloopen.

Hoewel dus de haematinaemie en de hyperbilirubinaemie bij de pernicieuze anaemie quantitatief niet streng evenwijdig loopen, mag men toch besluiten, dat beide een belangrijk kenteeken zijn van bloedafbraak.

Uit de medegedeelde onderzoekingen blijkt verder dat de *specifieke zuurstofcapaciteit van de bloedkleurstof* bij de pernicieuze anaemie niet steeds haar normale waarde behoudt, maar in perioden van haemolyse daalt, om na afloop van de bloedafbraak weer te stijgen. Duidelijk blijkt dit uit de tegenstelling tusschen de gevallen I, II en III eenerzijds, en IV, V en VI anderzijds (tabel V), maar vooral door de reeksen waarnemingen bij de gevallen VII (tabel VI), VIII (tabel VII, curve I), en IX (tabel VIII, curve II). In de curven I en II bewegen zich de lijnen, die de toppen van het capacitaire deficit verbinden, in dezelfde richting als die welke de bilirubinespiegels in beeld brengen. Men vatte overigens deze curven niet op in dien zin, dat bilirubinegehalte en capacitair deficit bij hun veranderingen precies de aangegeven lijnen zouden volgen. Integendeel, zoo goed als zeker is dit niet het geval. De verbindingslijnen zijn alleen getrokken om aan te geven hoe men zich waarschijnlijk het verband tusschen bilirubinespiegel en capacitair deficit bij de pernicieuze anaemie heeft te denken; het zijn kunstmatig aangebrachte verbindingen tusschen een klein aantal momentopnamen.

Behalve bij de pernicieuze anaemie werd in een drietal andere gevallen van bloedafbraak (tabel IX) een daling der specifieke zuurstofcapaciteit waargenomen, naar mijn meening

te groot om haar verklaring te vinden in waarnemingsfouten.

De vraag rijst, waaraan die daling der specifieke O_2-capaciteit, het capacitaire deficit, is toe te schrijven. Dat methodische fouten hier een belangrijke rol zouden spelen, is hoogst onwaarschijnlijk. Bij zware anaemieën — met een laag haemoglobinegehalte — worden de waarnemingsfouten weliswaar grooter, maar zeker niet in die mate, dat hieruit afwijkingen van 10 % en meer kunnen worden verklaard. Bovendien heb ik bij gevallen van zware anaemie steeds een grootere hoeveelheid der haemoglobine-oplossing verascht dan bij de normale personen. Op deze wijze zou het ook in het geheel niet duidelijk zijn, waarom eventueel waargenomen veranderingen steeds in een daling zouden bestaan, en niet ook veel te hooge waarden zouden worden gezien. Verder zou men dan analoge afwijkingen moeten vaststellen bij gevallen van zware chloroanaemieën.

De eenige wijze waarop deze afname der specifieke zuurstofcapaciteit zich ongedwongen laat verklaren, schijnt mij deze, dat zich in de bloedlichaampjes een haemoglobinederivaat bevindt, dat bij behoud van het ijzer het O_2-bindend vermogen heeft verloren. Het is weliswaar niet gelukt, dit spectroscopisch aan te toonen; men bedenke evenwel, dat methaemoglobine en sulfhaemoglobine in belangrijke concentratie aanwezig moeten zijn om aldus te worden herkend; en dat haematine in lakkleurig bloed zelfs bij groote concentratie van die stof in het geheel niet is waar te nemen. Tijdens de haemolyse vinden wij in het serum steeds afbraakproducten, hetzij een grootere hoeveelheid bilirubine hetzij haematine of alle beide. De gevolgtrekking ligt dus voor de hand, dat de hier bedoelde daling der specifieke O_2-capaciteit is toe te schrijven aan intraglobulaire haemoglobineveranderingen. Nader onderzoek zal moeten uitmaken waarin die omzettingen bestaan; het meest waarschijnlijk lijkt mij een intraglobulaire haematinaemie.

De door mij verkregen resultaten zijn dus in strijd met de thans vrij algemeen gangbare meening, dat de specifieke zuurstofcapaciteit bij allerlei anaemieën van den meest uit-

eenloopenden aard haar normale waarde zou behouden, welke opvatting in hoofdzaak steunt op de onderzoekingen van BUTTERFIELD en die van MASING en SIEBECK.

BUTTERFIELD vergeleek bij eenige ziektegevallen de lichtextinctie, het CO-bindend vermogen en het ijzergehalte van het haemoglobine, waarbij hij konstante verhoudingen kreeg. Naar analogie besloot hij eveneens tot een konstante specifieke zuurstofcapaciteit. Dit moge juist zijn voor de personen, door hem onderzocht (1 gezond persoon, 1 vitium cordis, 1 hemiplegie, 4 polycythaemieën, 1 pernicieuze anaemie, 2 chlorosen, 1 skorbut, 1 pseudoleukaemie), het aantal waarnemingen laat echter een zóó ver gaande gevolgtrekking, als BUTTERFIELD maakt, niet toe. Zoo berust b.v. zijn conclusie, dat ook bij de pernicieuze anaemie de onderlinge verhouding van lichtabsorptie, ijzergehalte en O_2-bindend vermogen dezelfde zou blijven, op één waarneming bij één ziektegeval. Nu blijkt uit het voorgaande dat in het regeneratie-stadium bij deze ziekte normale waarden kunnen worden gevonden, en het is dus zeer wel mogelijk — in BUTTERFIELD's werk ontbreken klinische gegevens — dat deze door hem onderzochte patient zich in een zoodanigen toestand bevond. Het is overigens niet moeilijk aan te toonen, dat ook in het tegenovergestelde geval door BUTTERFIELD een normale waarde zou zijn verkregen. Gesteld, dat in een pathologisch geval 25 % van de aanwezige bloedkleurstof ware omgezet in *methaemoglobine*. Bij de door PETERS en mij gevolgde techniek vindt men dan — afgezien van waarnemingsfouten — een specifieke zuurstofcapaciteit van 300, of wel een capacitair deficit van 25 %. BUTTERFIELD *zou echter, met de door hem gevolgde methode, een normale specifieke zuurstofcapaciteit van 400 vinden;* immers, bij hem vindt de CO-absorptie plaats **na reductie door hydrazine,** dus nadat het methaemoglobine is omgezet in gereduceerd haemoglobine, en aldus het CO-absorbeerend vermogen, dat het in het stroomende bloed niet had, kunstmatig heeft verkregen. Hetzelfde is van toepassing op de aanwezigheid van *haematine:* terwijl uit haematine noch met de ferricyaankalimethode noch met de kwikpomp O_2 wordt uitgedreven, wordt

deze kleurstof bij de door BUTTERFIELD gevolgde methode eerst gereduceerd tot haemochromogeen, waarna het — blijkens de onderzoekingen van HÜFNER en KÜSTER [1]), en die van PREGL [2]) — juist evenveel CO opneemt als een hoeveelheid haemoglobine van overeenkomstig ijzergehalte. Hieruit volgt dus zonder meer, dat zelfs in gevallen van uitgesproken haematinaemie en methaemoglobinaemie het bloed na reductie een normaal CO-absorbeerend vermogen moet vertoonen. Alleen bij sulfhaemoglobinaemie zou men ook bij reductie en daarop volgende CO-absorptie een daling der specifieke zuurstofcapaciteit vinden, daar deze kleurstof door hydrazine niet wordt gereduceerd.

Bij deze overwegingen is dus aangenomen met HÜFNER en BUTTERFIELD, dat hydrazine, in ongeveer moleculaire hoeveelheid toegevoegd aan een oplossing van oxyhaemoglobine, deze alleen reduceert. Wanneer echter — zooals LETSCHE [3]) meent — de werking van hydrazine ook in deze concentratie veel verder gaat dan reductie, en daarbij geen haemochromogeen maar een heel ander, niet nader bekend product wordt gevormd — dan zou de methode, door HÜFNER en door BUTTERFIELD gevolgd, veel te lage waarden hebben moeten geven; waarschijnlijk moeten we dan ook aannemen dat deze beide onderzoekers gewerkt hebben onder voorwaarden die alleen of zoo goed als alleen de reduceerende, niet de destructieve werking van het hydrazine tot haar recht hebben doen komen.

Ten slotte nog een enkel woord over de onderzoekingen van MASING en SIEBECK [2]), die eveneens een konstante specifieke zuurstofcapaciteit bij de anaemieën meenen te moeten aannemen. Deze onderzoekers verkrijgen hun eindresultaat aldus. Van een groot aantal bepalingen van het ijzergehalte pro gram haemoglobine, zoowel bij physiologische als pathologische toestanden, wordt het gemiddelde genomen; dit wordt

---

[1]) HÜFNER en KÜSTER, Archiv für (Anat. u.) Physiologie, 1904 Supplement.

[2]) PREGL, Zeitschr. f. phvsiol. Chemie, Bd. 44, 1905.

[3]) MASING en SIEBECK, Deutsches Archiv für klin. Med. Bd. 99, 1910.

vergeleken met een gemiddelde uit een aantal O_2-bepalingen (eveneens pro gram haemoglobine, spectrophotometrisch bepaald), hetgeen voor de specifieke zuurstofcapaciteit als waarde geeft ± 397. Niet *van iedere bloedportie* worden dus het O_2-bindend vermogen en het ijzergehalte vergeleken, maar het eindcijfer wordt verkregen uit twee gemiddelden, die bovendien *van verschillende herkomst zijn*. Afwijkingen in individueele gevallen zijn dus moeilijk aan te geven. Dat deze afwijkingen vrij groot zouden kunnen zijn, moge blijken uit het feit, dat hun ijzerwaarden varieeren van 0.27—0.30 % [1]) (verschil 10 % der totale waarde), de zuurstofwaarden tusschen 113 c.c. en 120 c.c. [1]) per 100 gram haemoglobine [2]) (verschil 6 %). Ook uit de waarnemingen van MASING en SIEBECK mag men dus niet besluiten tot een konstante verhouding van het ijzergehalte en het zuurstofbindend vermogen bij ziekteprocessen. Veeleer doen de door mij medegedeelde onderzoekingen ernstigen twijfel rijzen aan de juistheid van de opvatting, dat de specifieke zuurstofcapaciteit bij anaemieën van den meest uiteenloopenden aard steeds haar normale waarde zou behouden.

EENIGE ACUTE INFECTIE-PROCESSEN.

Ten slotte moge hier vermelding vinden het resultaat van het bloedonderzoek bij eenige acute infectieziekten. (Tabel X). Het bloed van JOH. CORN. V. (geval I), ontnomen tijdens het hoogtestadium der febris typhoidea, vertoonde een normale specifieke zuurstofcapaciteit. Uit het bloed werden terzelfder

---

[1]) De gemiddelden voor Fe en O_2 zijn te laag; de schrijvers stellen dit op rekening van de absorptieverhouding van den spectrophotometer, waarvoor zij het oude cijfer van HÜFNER hebben genomen; overigens wordt deze fout bij het eindcijfer uitgeschakeld, daar zij zich bij de O_2 en het Fe gelijkelijk en in dezelfde richting openbaart.

[2]) Wanneer men met de schrijvers de 3 uiterste waarden 112, 112 en 123 aan fouten toeschrijft en weglaat, en eveneens afziet van het merkwaardige geval van pernicieuze anaemie, waar zij een veel te *hooge* O_2-capaciteit vinden, die zij toeschrijven aan het serum.

TABEL X. **Eenige acute infectieziekten.**

Naam en diagnose.	Resp. capaciteit.	IJzergehalte.	S. O. C.	Cap. def.
I. Joh. Corn. V. Febris typhoidea. Stad. der continue koorts.	178.1 176.9 176.2 175.9 177.6 176.4 177.0	0.4463 0.4453 0.4458	**397**	± **0** (**1** %)
II. Alida de V. Paratyphus B? Koortsstadium.	174.2 173.5 173.5 173.4 174.1 172.8 173.6	0.4312 0.4301 0.4307	**403**	**0**
III. Klaas E. Alg. Streptokokkensepsis (Reeds vermeld bij de sec. anaemieën).	138.0 137.9 137.8 138.5 138.3 137.4 138.0	0.3425 0.3449 0.3437	**401.5**	**0**
IV. van B. Croupeuze pneumonie. Koortsstadium.	202.1 208.4 200.9 205.7 209.7 209.4 205.6 206.0 206.0	0.5166 0.5147 0.5156	**399.5**	**0**
V. God. Croupeuze pneumonie. Koortsstadium.	221.5 225.1 225.5 220.9 221.3 221.5 222.6	0.5840 0.5847 0.5844	**381**	**5** %
VI. Joh. v. d. V. Croupeuze pneumonie. Koortsstadium.	181.2 180.4 180.4 181.9 181.2 179.8 181.9 180.8 181.0	0.4666 0.4630 0.4648	**389**	**3** % (op de grens der waarnemingsfouten.)
VII, Wess. Croupeuze pneumonie. Koortsstadium.	177.5 177.3 175.3 175.7 176.7 175.3 176.3	0.4739 0.4722 0.4730	**373**	**7** %

tijd typhusbacillen gekweekt. Ook bij KLAAS E. (III), lijdende aan een algemeene streptokokkensepsis [1]), had de S.O.C. tijdens de koorts een normale waarde. Bij patient ALIDA DE V. (II) stond de diagnose niet vast; gedacht werd, op grond van agglutinatieproeven, aan paratyphus B; ook hier werden 400 c.c. O_2 gebonden op 1 gram ijzer. Daarnaast werden 4 gevallen van *croupeuze pneumonie* onderzocht. In één geval (van B, IV) was de S.O.C. normaal, bij patient JOH. V. D. V. (VI) lag de waarde op de grens der waarnemingsfouten (S.O.C=389), terwijl het bloed van patient G. (V) en vooral dat van WESS. (VII) resultaten gaven die wijzen op een intraglobulaire haemoglobine verandering. In geval IV en VII werden in het bloed pneumokokken gevonden, bij de beide andere patienten niet. Alle 4 gevallen verliepen gunstig; patient WESS. was zeer ziek, had een dubbelzijdige pneumonie met intensieve cyanose. Bij alle 4 patienten werd het bloed ontnomen in het koortsstadium.

De lichte dalingen der specifieke O_2-capaciteit in de gevallen V en VII zijn in overeenstemming met feiten, door sommige Amerikaansche onderzoekers beschreven. PEABODY [2]) had waargenomen, dat in sommige gevallen van lobaire pneumonie het O_2-bindend vermogen was gedaald in verhouding tot het haemoglobinegehalte, bepaald volgens SAHLI. Nadat gebleken was, dat ook de gewasschen bloedlichaampjes dit verschijnsel vertoonden en dus een eventueel reduceerend vermogen van het serum geen rol kon spelen, meende hij te moeten aannemen dat er een omzetting had plaats gegrepen van een deel der bloedkleurstof zoodanig, dat deze geen O_2 los kon binden. Ook caviae en konijnen, met pneumokokken geinfecteerd, bleken die daling der O_2-capiciteit te vertoonen. BUTTERFIELD en PEABODY [3]) brachten gewasschen bloedlichaampjes van een konijn samen met bouillonculturen van pneumokokken en

---

[1]) Na 24 uur was de bouilloncultuur uit het bloed positief, blijkens een mij door Mej. Dr. KOOY verstrekte mededeeling.

[2]) PEABODY, Journal of experimental medicine, Vol. XVII, 1913.

[3]) BUTTERFIELD en PEABODY, Journ. of experim. medicine, Vol. VXI, 1913.

plaatsten deze emulsie gedurende 18 uur bij 37°; bij vergelijking van lichtabsorptie en O_2-capaciteit bleek deze laatste te zijn gedaald, in vergelijking met eenzelfde hoeveelheid bloedlichaampjes waaraan Na Cl was toegevoegd inplaats van de cultuur. Langs spectrophotometrischen weg kwamen de schrijvers tot de slotsom dat er een gedeeltelijke omzetting had plaats gegrepen in methaemoglobine (of een ander derivaat met dezelfde optische konstanten voor drie spectraalgebieden [1]). Ook GILBERT en FOURNIER [2]) en GRÜTER [3]) hadden een methaemoglobinevorming door pneumokokken in vitro reeds waargenomen. Bij de pneumokokkensepsis van het konijn zag PEABODY in enkele gevallen spectroscopisch den voor methaemoglobinaemie typischen band in het rood, niet bij de lobaire pneumonie van den mensch. Ook HARROP [4]) zag bij de lobaire pneumonie in verschillende gevallen een daling der O_2-capaciteit. Daarentegen kon STADIE [5]) in 31 gevallen slechts éénmaal een duidelijke daling waarnemen.

In gunstig verloopende gevallen nam PEABODY zelden die verandering waar. De kleurstofbepaling geschiedde echter met de weinig nauwkeurige methode van SAHLI. Wanneer het geoorloofd zou zijn uit de boven meegedeelde 4 gevallen eenige conclusie te trekken, dan zou men moeten aannemen dat soms ook bij gunstig verloopende pneumonieën een daling

---

[1]) Volgens BUTTERFIELD en PEABODY hebben autolysaten van de cultures hetzelfde effect op bloed als de groeiende pneumococcus. Ook GRÜTER zag methaemoglobinevorming door doode cultures, filtraten en centrifugaten. Volgens RIEKE [6]) daarentegen was de meth. vorming gebonden aan de aanwezigheid van de levende pneumococcus; COLE [7]) meent dat niet alleen de levende pneumokokken, maar ook sommige deelen van de voedingsbodem (vooral sporen koolhydraten) noodig zijn voor de methaemoglobinevorming.

[2]) GILBERT en TOURNIER, Comptes rendus de la Soc. de biologie, 1896.

[3]) GRÜTER, Centr. Bl. für Bakteriologie, 1e Abt., 1909, I.

[4]) HARROP, geciteerd volgens STADIE.

[5]) STADIE, Journ. of exp. Medicine, vol. XXX 1919, XXXI 1920, en XXXIII, 1921.

[6]) RIEKE, Centr. Bl. f. Bakt., 1e Abt., 1904.

[7]) COLE, Journ. of exp. med., Vol. XIX, 1914.

der S.O.C. kan worden waargenomen, die wel niet anders is op te vatten dan als een intraglobulaire haemoglobineverandering. In de gevallen waar bacteriaemie bestond heb ik mij op de vroeger aangegeven wijze overtuigd dat tijdens de analyse een O_2-absorptie door bacterieën niet in merkbare mate plaats greep.

Gedurende deze onderzoekingen kwamen geen doodelijk verloopende pneumonieën ter waarneming, zoodat ik mij dan ook tot deze enkele gevallen moest bepalen; ik deel ze daarom slechts pro memorie mee; een conclusie laten ze nauwelijks toe.

Samenvatting.

1. Een onderzoek werd ingesteld naar de specifieke zuurstofcapaciteit bij eenige normale en zieke personen.

2. Voor de daling der specifieke zuurstofcapaciteit, uitgedrukt in procenten van het totale kleurstofgehalte, wordt de naam *capacitair deficit* voorgesteld.

3. Het bloed van eenige normale personen vertoonde een specifieke zuurstofcapaciteit, in overeenstemming met de opvatting, dat het normale onveranderde haemoglobine steeds 2 atomen zuurstof bindt op 1 atoom ijzer.

4. Bij een zeker aantal oogenschijnlijk gezonde dieren werd reeds bij eenvoudig spectroscopisch onderzoek intraglobulair sulfhaemoglobine gevonden, als omzettingsproduct van het bloedpigment; in één geval werd de specifieke zuurstofcapaciteit nagegaan, die belangrijk bleek gedaald. Deze bevinding is in strijd met Hüfner's meening, volgens welke de bloedkleurstoffen van een reeks hoogere dieren onder physiologische verhoudingen steeds dezelfde CO- en O_2-capaciteit zouden bezitten.

5. Bij eenige personen met intraglobulaire sulfhaemoglobinaemie werden dalingen der specifieke zuurstofcapaciteit gezien tot 22 % der totale waarde.

6. Bij eenige niet-haemolytische anaemieën had de specifieke O_2-capaciteit haar normale waarde. Te hooge resultaten werden — afgezien van geringe afwijkingen binnen de grenzen der waarnemingsfouten — daarbij nimmer gezien.

7. Onjuist is de meening van Butterfield dat ook bij allerlei andere vormen van anaemie (in het bijzonder ook de pernicieuze anaemie) de specifieke zuurstofcapaciteit haar normale waarde zou behouden. Integendeel blijkt, dat bij deze ziekte in perioden van bloedafbraak de specifieke

O_2-capaciteit in alle door mij onderzochte gevallen was gedaald. Deze daling moet waarschijnlijk worden toegeschreven aan een intraglobulaire haemoglobineverandering, die weliswaar spectrocsopisch niet kon worden aangetoond. In overeenstemming daarmee werd in die gevallen in het serum haematinaemie of hyperbilirubinaemie of beide verschijnselen te zamen aangetroffen. Bij intredende intermissies zagen wij het capacitaire deficit gedeeltelijk of geheel verdwijnen en dus — zoover de laatstbedoelde gevallen betreft — de specifieke O_2-capaciteit haar normale waarde herkrijgen.

8. Ook bij eenige andere gevallen van bloedafbraak (malaria tropica, malaria tertiana, haemolytische icterus) werden — lichte — dalingen der specifieke O_2-capaciteit waargenomen.

9. Bij twee patienten met croupeuze pneumonie bleek de specifieke zuurstofcapaciteit eveneens afgenomen. Het geringe aantal gevallen wettigt evenwel geen oordeel over de door Amerikaansche onderzoekers bij de croupeuze pneumonie beschreven methaemoglobinaemie.

STELLINGEN.

1.

Pernicieuze anaemie vormt geen aanwijzing voor miltexstirpatie.

2.

Het vroeg opstaan na de baring ter voorkoming van longembolieën verdient geen aanbeveling.

3.

Seropurulente empyemen of longabscessen, ontstaan in het verloop van griep, opereere men niet dan nadat een afwachtende, interne behandeling vruchteloos is gebleken.

4.

De opvatting van BOLTEN, dat de oorzaak der epilepsie zou schuilen in een stoornis in de interne secretie, geeft voor vele vragen, de epilepsie betreffende, geen voldoende oplossing, en is derhalve, zonder meer, niet te aanvaarden.

5.

De gaswisseling in de long wordt door physische diffusie alleen niet afdoende verklaard.

6.

De oorspronkelijke strenge voorschriften van ALLEN dienen als algemeene behandelingsmethode van suikerzieken, te worden afgekeurd.

VERBETERINGEN.

1. Op bladz. 61, voetnoot, staat:

[7]) HÜFNER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7.

[8]) OTTO, Zeitschr. f. physiol. Chemie.

lees:

[7]) OTTO, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883, en PFLÜGER's Archiv, Bd. 31, 1883.

[8]) MARSHALL, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, 1883.

2. Op bladz. 68, regel 5 van onderen staat:
een specifieke zuurstofcapaciteit zagen

lees:
een wisselende specifieke zuurstofcapaciteit zagen