Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Bijdrage tot de kennis van het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij gezonden en zieken

https://hdl.handle.net/1874/293060

Acqu. 192. 1929

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET EIWITSPLITSEND VERMOGEN VAN HET BLOED BIJ GEZONDEN EN ZIEKEN

W. VAN GULDEN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET EIWITSPLITSEND VERMOGEN VAN HET BLOED BIJ GEZONDEN EN ZIEKEN

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT
1411 1151

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET EIWITSPLITSEND VERMOGEN VAN HET BLOED BIJ GEZONDEN EN ZIEKEN

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. H. TH. OBBINK, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GODGELEERDHEID,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 9 JULI 1929,
DES NAMIDDAGS TE VIER UUR, DOOR

WILLEM VAN GULDEN, ARTS
GEBOREN TE 's-GRAVENHAGE

H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN — 1929

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan mijne Ouders

Bij de voltooiïng van mijn proefschrift is het mij een zeer aangename taak U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en overige Docenten der Medische en Philosophische Faculteiten van de Utrechtsche Hoogeschool en U, Zeergeleerde REMYNSE, voor den tijd, dien ik in Rotterdam werkzaam was, mijn welgemeenden dank te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U mocht genieten.

Hooggeleerde RINGER, hooggeachte Promotor, U mijn dank onder woorden te brengen, niet alleen voor de wijze, waarop gij mij in de gelegenheid hebt gesteld dit proefschrift te bewerken en mij met raad en daad hebt bijgestaan, maar ook voor den moreelen steun, dien ik tijdens mijn studietijd van U in zoo'n bijzondere mate heb ondervonden, is mij niet wel mogelijk. Geloof mij, dat dit mij steeds levendig voor oogen zal blijven.

Hooggeleerde LAMÉRIS, Hooggeleerde HYMANS VAN DEN BERGH, Hooggeleerde DE SNOO, ook U geldt in het bijzonder mijn dank, voor de vriendelijke welwillendheid, waarmee gij het mij hebt mogelijk gemaakt, materiaal uit Uw klinieken te ontvangen; dat ik tevens Uw assistenten, die mij zoo behulpzaam waren, in het bijzonder U, collega LENSHOEK, dankbaar ben, spreekt vanzelf.

Grooten dank ben ik ook U, Zeergeleerde MARTENS, verschuldigd, wien het geen moeite te veel was, ondanks Uw drukke praktijk in Middelburg, mij in zoo ruime mate van materiaal te voorzien.

Dat mijn aanstaande vrouw mij bij het doen van mijn bepalingen zoo energiek terzijde heeft gestaan en mij veel werk uit handen heeft genomen, zal de herinnering aan het moment, waarop ik met dit proefschrift mijn studietijd voleindigd heb en met haar een nieuw leven tegemoet ga, des te mooier maken.

Mejuffrouw STRIKKERS ben ik zeer erkentelijk voor haar hulpvaardigheid bij het persklaar maken van mijn werk.

Het personeel van het Laboratorium voor Physiologische-Chemie dank ik ook overigens voor zijn bereidwillige medewerking.

INHOUD

Blz.

Inleiding 1

HOOFDSTUK I

Overzicht van de tot op heden door anderen gedane onderzoekingen over het eiwitsplitsend vermogen van het bloed 28

HOOFDSTUK II

Besprekingen en beschouwingen over het antitrypsine-vraagstuk 57

HOOFDSTUK III

Eigen onderzoekingen:

a. Bespreking van de gevolgde werkwijzen 82

b. De verkregen uitkomsten 104

HOOFDSTUK IV

Beschouwingen over de verkregen uitkomsten:

a. Bij gezonden 112

b. Bij zieken 121

HOOFDSTUK V

Samenvatting van de uitkomsten 131

INLEIDING

Reeds eeuwen geleden had men, wanneer de gelegenheid zich daartoe voordeed, reeds opgemerkt, dat voedingsmiddelen, zooals vleesch en brood, na het opnemen in de maag al zeer spoedig ingrijpende veranderingen ondergaan, opgelost in vloeibaren toestand overgaan. Om deze verschijnselen te verklaren, nam bv. PARACELSUS nog aan, dat in de maag een zeer hooge temperatuur zou heerschen, onder den invloed, waarvan deze omzettingen tot stand zouden komen.

De eerste, die betere inzichten in deze omzettingen verkondigde, was, voor zoover wij kunnen nagaan, JOHANNES BAPTIST VAN HELMONT, die van 1577 tot 1644 leefde en die zeker naast PARACELSUS als een van de grondleggers van de Physiologische Chemie kan worden beschouwd.

VAN HELMONT verwerpt geheel het denkbeeld van de hooge temperatuur in het lichaam en vergelijkt de omzettingen in de maag met die bij de gisting van den wijn. De omzettingen in de maag zouden, evenals die bij de vergisting, tot stand komen onder den invloed van een bepaalde stof.

Bij de gistingsprocessen ontstaat gas, de vloeistof schuimt en borrelt en daarom sprak men van fermentaties van het Latijnsche „ferveo", hetwelk bruisen of koken beteekent. VAN HELMONT noemt de werkzame stof een ferment en hij merkt reeds zeer juist op, dat het niet het zuur is van den maaginhoud, hetwelk de omzettingen tot stand brengt, maar dat het het ferment is en dat het zuur slechts bevorderend werkt. Hij zegt, dat wanneer het zuur het ferment zou zijn, een zuur, bv. wijnazijn in staat zou moeten zijn brood en andere voedingsmiddelen op te lossen en om te zetten, terwijl dit niet het geval blijkt te zijn.

Na VAN HELMONT bleef het onderzoek naar deze fermenten langen tijd liggen.

In de negentiende eeuw heeft L. PASTEUR zich er weer mee bezig gehouden en hij meende, dat de fermentatieve processen in de levende cellen tot stand zouden komen en aan de levensprocessen gebonden zouden zijn.

Het zouden dus de gistcellen zijn, die bij hun levensprocessen de omzetting van de suiker tot stand brengen, fermenten zouden dus levende microörganismen zijn. Ook bacteriën zouden op deze wijze allerlei omzettingen tot stand brengen. Zoo zijn bacteriën bekend die ureum onder opneming van water kunnen omzetten in ammoniumcarbonaat en deze bacteriën zou men dus ureum-ferment kunnen noemen.

Inderdaad toonde SHERIDAN LEA, dat alle ureum-omzettend vermogen verloren gaat, wanneer de bacteriën worden afgefiltreerd. Maar LEA vond nog iets anders, nl. dat, wanneer de bacteriën eerst gedood werden door alcohol en de vloeistof dan werd gefiltreerd en van de doode bacteriën bevrijd, in het filtraat ureumferment in aanzienlijke mate aanwezig was. Hieruit kon worden afgeleid, dat het ureumferment toch niet wordt gevormd door de levende microörganismen, maar eerder dat in de levende microörganismen een stof voorkomt, die de omzetting van ureum tot ammoniumcarbonaat tot stand brengt. Na het afsterven der bacteriën wordt deze stof los gelaten en gaat in het filtraat over.

Met deze belangrijke waarnemingen van SHERIDAN LEA zijn de uitkomsten van de bekende onderzoekingen van E. BUCHNER (1897) geheel in overeenstemming. Het perssap van de gistcellen, dat toch geen levende microörganismen meer bevat, bezit nog in sterke mate het vermogen, suiker te vergisten evenals de levende gistcellen.

Tegenwoordig neemt men dan ook wel algemeen aan, dat de zgn. fermentatieve processen tot stand komen onder den invloed van bijzondere stoffen, die als het ware nog als brokstukken van de levende stof kunnen worden beschouwd.

Op voorstel van W. KÜHNE worden deze stoffen enzymen genoemd van het Grieksche „ζύμη" en hij onderscheidde deze enzymen, het was in 1876, en dus lang voor het bekend worden van de onderzoekingen van SHERIDAN LEA en BUCHNER, van de fermenten. Deze laatste zouden dus steeds microörganismen zijn. Daar nu echter sinds dien wel ge-

bleken is, dat deze zgn. fermenten hunne werking tot stand brengen door middel van enzymen, schijnt het beter, voortaan slechts alleen van enzymen te spreken.

Men heeft uit spijsverteringsappen en uit dierlijke of plantaardige weefsels tal van stoffen kunnen bereiden, die enzymwerkingen bezitten, die in staat zijn onder gunstige omstandigheden, bv. wat betreft de temperatuur en de reactie van de oplossing, eiwitstoffen, vetten, koolhydraten en tal van andere stoffen te ontleden.

Deze stoffen zijn nu eens meer, dan eens minder zuiver, d.w.z. zij werken nu eens sterker, dan eens minder sterk, want wij kunnen de aanwezigheid van een enzym slechts aan zijne werking beoordeelen.

Geheel zuiver heeft men enzymen nooit kunnen bereiden en omtrent den aard van deze geheimzinnige stoffen weten wij dan ook nog altijd niets. Wanneer men de enzymen meer en meer tracht te zuiveren, glippen zij, zooals men dat wel uitdrukt, ten slotte den onderzoekers uit de handen. Het is wel waar, dat in den allerlaatsten tijd, mededeelingen zijn verschenen omtrent het tot kristallisatie brengen van enzymen. Zoo verscheen in 1926 een mededeeling van JAMES B. SUMNER uit de Cornell University Medical College, Ithaca [1]), waarin beschreven wordt, op welke wijze het enzym, dat ureum onder opneming van water omzet in ammoniumcarbonaat en dat wij tegenwoordig urease noemen, in kristallijnen toestand uit ,,jack bean meal'' kan worden verkregen. Maar het blijft toch nog zeer de vraag, of dit kristallijnen product het enzym zelf is.

De chemische geaardheid van de zgn. anorganische fermenten, zooals G. BREDIG die heeft gemaakt en beschreven, is zeker geheel bekend. Het zijn immers door electrische verstuiving bereide colloïdale oplossingen van metalen, zooals platina en goud.

Deze colloïdale metaaloplossingen doen in hare werking inderdaad in sommige opzichten aan enzymoplossingen denken en zij zijn, evenals deze laatste zeer gevoelig voor temperatuurveranderingen en ook hangt de werking zeer af van de

[1]) JAMES B. SUMNER, The Journal of Biological Chemistry, deel 69, 1926, blz. 435; JAMES B. SUMNER en DAVID B. HAND, ibidem, deel 76, 1928, blz. 149.

reactie van de oplossing, zooals wij dat bij enzymoplossingen ook zien. Maar deze anorganische fermenten van BREDIG kunnen wij toch wel niet op één lijn stellen met de echte enzymen, al vertoonen zij dan in sommige opzichten overeenkomst daarmede. De werking van deze colloïdale metalen berust waarschijnlijk wel op verdichting aan de oppervlakte, waardoor het chemisch proces in zeer sterke mate kan worden versneld.

Ook het door C. A. PEKELHARING zoo zuiver bereide pepsine, dat zoo uiterst krachtig werkzaam is, kan toch nog wel niet als het geheel zuivere enzym worden beschouwd en hetzelfde geldt voor de krachtig werkzame enzympreparaten, zooals die in den laatsten tijd door adsorptie en daarna elueeren in naar het schijnt zoo zuiveren toestand door R. WILLSTÄTTER en zijne leerlingen zijn verkregen.

Omtrent den chemischen aard van de enzymen weten wij dus op het oogenblik nog even weinig als wij weten van het wezen der levensprocessen. Weten wij iets omtrent de wijze waarop zij hunne werking tot stand brengen?

Wat den onderzoekers, die zich met de studie van de enzymwerkingen bezighielden, steeds heeft getroffen, is, dat zoo uiterst kleine hoeveelheden van de enzymen reeds werkzaam zijn en naar het schijnt haast onbepaald groote hoeveelheden van de stof, waarop zij werken, het substraat, kunnen omzetten. Zoo kan bv. 0,001 mgr. van het pepsine van PEKELHARING reeds aanmerkelijke hoeveelheden fibrine tot oplossing brengen en dat zonder daarbij zelf onwerkzaam te worden. Dat zijn verschijnselen, die zeer doen denken aan die van de catalyse, zooals die door J. J. BERZELIUS reeds zijn beschreven. Vooral de onderzoekingen van WILHELM OSTWALD hebben de aandacht op deze catalyse weder gevestigd.

Volgens de klassieke definitie van een catalysator zou deze een stof zijn, die de snelheid van een chemische reactie vergroot, zonder zelf aan de reactie deel te nemen. De catalysator blijft dan ook gedurende zijne werking onveranderd aanwezig en kan dus steeds weder nieuwe hoeveelheden stof omzetten.

In dit opzicht schijnen enzymen zich werkelijk als cata-

lysatoren te gedragen, met dien verstande evenwel, dat de werkzaamheid van elk enzym steeds achteruitgaat, al naar omstandigheden nu eens sneller, dan eens minder snel. Hooge temperaturen zijn in dit opzicht zeer nadeelig, zure en vooral alcalische reacties meestal eveneens. De versch uit de levende cellen verkregen enzymen vertoonen de krachtigste werking en naarmate zij ouder worden gaat hunne werkzaamheid meer en meer te loor. In drogen toestand en bij niet te hooge temperatuur behoeft de achteruitgang in werkzaamheid echter niet groot te zijn.

Volgens de nieuwere inzichten maakt de catalysator, dat de evenwichtstoestand van de chemische reactie sneller wordt bereikt dan zonder dezen. Op welke wijze de catalysator deze versnelling tot stand brengt, is ook alweer moeilijk te zeggen.

In dit opzicht kunnen de catalysatoren hunne werking zeker op zeer verschillende wijze ontvouwen. Nu eens kan, zooals bij de anorganische fermenten, adsorptie in het spel zijn, in andere gevallen kan de catalysator tijdelijk verbindingen aangaan met één of meer van de reageerende stoffen. Dan voldoet de catalysator dus niet meer aan de definitie, dat hij werkt zonder zelf aan de reactie deel te nemen. Trouwens aan deze strenge definitie zullen wel weinig catalysatoren voldoen.

Wanneer door de aanwezigheid van den catalysator het evenwicht van de chemische reactie sneller bereikt wordt, zonder dat dit evenwicht veranderd wordt, dan moet de catalysator dus de verschillende processen, die bij het tot stand komen van het evenwicht in het spel zijn in gelijke mate versnellen. Laten wij een voorbeeld nemen en wel de synthese van water uit waterstof en zuurstof in tegenwoordigheid van den catalysator, colloïdaal platina. Wanneer deze catalysator den evenwichtstoestand sneller doet bereiken, zonder het evenwicht van aard te veranderen, dan moet hij niet alleen de synthese van water uit waterstof en zuurstof sneller tot stand brengen, maar aan den anderen kant in dezelfde mate de ontleding van water. In het algemeen zal dus een catalysator, die een synthese tot stand kan brengen, beter gezegd, kan versnellen, ook de bijbehoorende ontleding ver-

snellen, evenals een catalysator, die een ontleding snel tot stand brengt, ook de bijbehoorende synthese moet kunnen versnellen.

Wij zagen boven, dat de werkingen van enzymen aan die van catalysatoren zeer doen denken en vele onderzoekers stellen dan ook de enzymwerkingen en de werking van catalysatoren op één lijn. Deze enzymwerkingen zijn ongetwijfeld van zeer verschillenden aard. Hoewel wij omtrent de chemische natuur van de enzymen nog weinig of niets weten, moeten wij toch wel aannemen, dat zij bestaan en dat zij van stoffelijken aard zijn. Wij kunnen ons voorstellen, dat in sommige gevallen door adsorptie aan de colloïdale enzymdeeltjes de versnelling van het chemisch proces tot stand komt, dat in andere gevallen tijdelijke verbindingen van de enzymdeeltjes met de reageerende stoffen tot stand komen. De specificiteit van de enzymwerking, bv. ook de werking op bepaalde stereoisomeren, kan men op deze wijze ook eenigermate begrijpen. De enzymdeeltjes toch hebben evenals de levende stof, naar het schijnt in het algemeen, veelal een asymmetrische configuratie en adsorbeeren wellicht slechts een bepaald optisch-isomeer, evenals zij zich ook wellicht met een bepaald optisch-isomeer verbinden. De sleutel en het slot van EMIL FISCHER.

Hoe dit alles zij, dit is zeker, dat enzymen zoowel ontledend als opbouwend kunnen werken.

De eerste die een synthese door een ferment tot stand bracht, is geweest A. CROFT HILL. [1]) Hij liet maltase uit gist maanden lang bij 30° werken in oplossingen van druivensuiker van 40 % en nam waar, dat veranderingen intraden in het vermogen om het polarisatievlak te draaien en verder in reduceerend vermogen. CROFT HILL meende, dat maltose zou zijn gevormd, maar EMMERLING [2]) toonde aan, dat isomaltose ontstaan was, maar in ieder geval was er een synthese van een biose tot stand gekomen onder den invloed van een enzym, dat aan den anderen kant ontledend op maltose werkt.

---

[1]) A. CROFT HILL, Journal of the chemical Society, deel 73, 1898, blz. 634.

[2]) EMMERLING, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, deel 34, 1901, blz. 600 en 2206.

Door W. BIEDERMANN [1]) is op grond van zijne onderzoekingen de meening verdedigd, dat het wezen van de koolhydraat-splitsende enzymen niets anders dan anorganische zouten zou zijn, daarnaast zou voorkomen een organische grondstof, die echter slechts de rol van een coferment of complement zou spelen. Deze opvatting van BIEDERMANN is echter bestreden door K. KAZUJI-TAKANE [2]) en N. MALYSCHEV [3]). Deze onderzoekers konden niet de geringste hydrolyse van zetmeel door anorganische zouten waarnemen en zij komen er dan ook toe, de uitkomsten van W. BIEDERMANN toe te schrijven aan verontreiniging met kleine hoeveelheden diastase of aan bacteriën.

Als wij de meening van BIEDERMANN goed begrijpen, stelt deze zich voor, dat de anorganische zouten eigenlijk het enzym zijn, maar dat de werking van deze zouten door een eigenaardige organische grondstof in zeer sterke mate kan worden versneld. Deze meening is dus een omkeering van de meestal gehuldigde, namelijk dat een eigenaardige organische stof het enzym is en dat de werking daarvan door anorganische zouten wordt te voorschijn geroepen en versterkt. Volgens BIEDERMANN is er dus altijd nog een bijzondere organische grondstof in het spel, omtrent de samenstelling waarvan hij zich niet uitlaat.

Nog verder gaat E. HERZFELD [4]), die onderzoekingen heeft gedaan, nu niet over de splitsing van zetmeel, maar nu over de splitsing van veel ingewikkelder gebouwde stoffen, namelijk eiwitstoffen.

Deze onderzoeker komt er toe, het bestaan van de eiwitsplitsende enzymen als zeer bijzondere stoffen geheel te ontkennen. Deze geheel revolutionaire gedachte grondt hij op de uitkomsten, die hij bij zijn onderzoekingen verkreeg. Hij kwam op het denkbeeld, doordat hij waarnam, dat die eiwitsplitsende enzymen, die bij dialyse in de sterkste mate stof-

---

[1]) W. BIEDERMANN, Biochemische Zeitschrift, deel 135, 1923, blz. 282; ibidem, deel 137, 1923, blz. 35; Fermentforschung, deel 1, 1916, blz. 397; ibidem, deel 1, blz. 401; ibidem deel 4, blz. 9, 14 en 16; ibidem deel 5, blz. 56.

[2]) K. KAZUJI TAKANE, Biochemische Zeitschrift, bnd. 175, 1926, blz. 241.

[3]) N. MALYSCHEV, Biochemische Zeitschrift, deel 206, 1929, blz. 401.

[4]) E. HERZFELD, Biochemische Zeitschrift, deel 64, 1914, blz. 103; ibidem deel 68, 1915, blz. 402.

fen afgeven, die de ninhydrine-reactie geven, de sterkst werkende zijn. Zouden het dan niet de stoffen zijn, die deze reactie geven, die het zgn. enzym uitmaken? Deze stoffen, die de ninhydrine-reactie zoo duidelijk geven, zijn ontledingsproducten van eiwitstoffen, zooals aminozuren en verbindingen van aminozuren, dus peptiden.

Bij dialyse van pepsine bleek het dialysaat de biureetreactie te geven, de werkzame stof pepsine zou dus eigenlijk uit peptonen bestaan.

Bij dialyse van trypsine geeft het dialysaat de biureetreactie niet, het werkzame bestanddeel van trypsine zou dus door aminozuren worden uitgemaakt.

Hij komt dan tot de volgende opvatting: Ontledingsproducten van eiwitstoffen hebben het vermogen, eiwitstoffen zelf te ontleden tot in den toestand, waarin deze ontledingsproducten zelf verkeeren. Zoo ontleden peptonen (volgens HERZFELD dus pepsine) eiwit tot in peptonen, aminozuren (volgens HERZFELD dus trypsine) ontleden het eiwit tot in aminozuren.

Deze ontledingsproducten van eiwitstoffen werken nu alleen ontledend op eiwit, wanneer de „physisch-chemische omstandigheden" zooals de temperatuur, aanwezigheid van bepaalde zouten, gunstig zijn. Verder zegt hij, dat deze ontledingsproducten van eiwit ook eenigermate thermo-labiel zijn althans onder sommige omstandigheden, welke thermolabiliteit bij zich zoo voorstelt, dat mogelijke verbindingen met de anorganische zouten veranderingen ondergaan. Aan den anderen kant vindt hij, dat bij verwarming van de eiwitsplitsende enzymen ook herhaaldelijk slechts een gedeeltelijke inactiveering plaats vindt.

E. HERZFELD doet nu talrijke proefreeksen, waarbij hij dan naar zijne meening aantoont, dat verschillende eiwitstoffen door kleine hoeveelheden pepton of aminozuren ontleding ondergaan, welke ontleding hij vaststelt langs optischen weg met den spectrofotometer. De duur van zijn proeven is lang, hij spreekt van 500 en 1000 uren, als desinfectans gebruikt hij toluol. Men zou de vraag kunnen stellen, of bij dezen langen duur der proeven steeds kiemvrijheid is gewaarborgd geweest. Ook verder zou men de vraag willen stellen, of hier

bij het spectrofotometrisch onderzoek wel werkelijk een eiwitsplitsing is aangetoond, een eiwitsplitsing, zooals die door pepsine en trypsine in zoo korten tijd tot stand komt en zoo gemakkelijk met zekerheid kan worden aangetoond. De mededeelingen van E. HERZFELD, die reeds van 1914 dateeren, schijnen in zoover weinig de aandacht te hebben getrokken als men verder daarover in de literatuur geen verhandelingen meer vindt; de meeningen van HERZFELD zijn dus noch bevestigd, noch bestreden door anderen. Voorloopig schijnt het ons echter hoogst onwaarschijnlijk dat aminozuren en verbindingen van aminozuren eiwitstoffen zouden hydrolyseeren op dezelfde wijze, als pepsine en trypsine dit vermogen. Voorloopig schijnt het ons toe, dat er nog geen enkele reden is, om aan het bestaan van de enzymen te twijfelen, in den zin dus van stoffen van nog geheel onbekende samenstelling en die het vermogen hebben, eiwitstoffen, vetten en koolhydraten en tal van andere stoffen snel en krachtig te ontleden, of omgekeerd uit hun ontledingsproducten te vormen; stoffen dus van zeer sterk catalytisch vermogen.

Boven zagen wij, dat door A. CROFT HILL voor het eerst een synthese door een enzym is aangetoond. Sinds dien tijd, 1898, zijn tallooze synthesen door enzymen beschreven, niet alleen van koolhydraten, maar ook van allerlei andere stoffen, zooals vetten, glucosiden en andere verbindingen.

Wat de synthesen van vetten betreft, willen wij hier nog even herinneren aan het onderzoek van C. A. PEKELHARING [1]), die vond dat de pancreaslipase onder daartoe gunstige omstandigheden vet opbouwt uit vetzuur en glycerine en dat deze synthetiseerende werking door galzure zouten wordt versterkt, evenals deze zouten ook de lipolyse door hetzelfde enzym versnellen.

Wat de synthese van eiwitstoffen door enzymen betreft, verschillende onderzoekers hebben gemeend deze te vinden, maar hier hebben wij met zoo ingewikkeld gebouwde stoffen te doen en de synthese kan in zoo velerlei richting verloopen, dat men daaromtrent toch nog geen volkomen zekere opgaven bezit.

---

[1]) C. A. PEKELHARING, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 81, 1912, blz. 355.

In het lichaam van mensch en dier vinden ontledingen en synthesen steeds op groote schaal plaats. In het spijsverteringskanaal worden, zooals wij thans weten, de voedingsstoffen tot op hun laagste ontledingsproducten ontleed en het schijnt, dat slechts deze laagste ontledingsproducten kunnen worden opgeslorpt. De opgeslorpte ontledingsproducten worden dan, het zij verder ontleed en verbrand en door het lichaam als bron van het arbeidsvermogen gebruikt, of ook worden deze ontledingsproducten gebruikt voor syntheses. Een treffend en bekend voorbeeld van een synthese en wel een zeer spoedige na de opslorping, vindt men in de synthese van vetdruppeltjes in het darmslijmvlies. Hierin toch treft men na rijkelijke voeding met vet tallooze vetdruppeltjes aan, waarin men aanvankelijk het bewijs zocht, dat de vetten niet gesplitst zouden worden voor de opslorping. Het verdere lot van deze vetdruppeltjes schijnt eigenaardig te zijn, zij worden voor verreweg het grootste gedeelte aan de lymphe afgestaan en komen langs den ductus thoracicus in het bloed. Voordat het vet opgeslorpt kan worden, moet het worden ontleed, zou het vet nu uit het bloed zonder ontleding in de weefsels kunnen overgaan? Men zou meenen, dat dit ook bezwaarlijk gaat en men wordt in die meening versterkt, door het voorkomen in het bloed van vetsplitsend enzym [1]). Peter Rona en Leonor Michaelis toonden dit voorkomen in 1911 aan.

Er werd bovendien gevonden, dat het gehalte van het bloedserum aan lipase na rijkelijke voeding met vet grooter wordt. Men komt dus tot de veronderstelling, dat aan het overgaan van het vet in de weefsels weer een ontleding voorafgaat. In de weefsels, waarin de zeepen en de glycerine overgaan, vindt dan weer synthese tot vet plaats en in verband hiermede is het zeker belangwekkend, dat men in vetweefsel, waarin vetsynthese op groote schaal plaats vindt, veel lipase heeft gevonden. Deze lipase kan het vet, wanneer het zal moeten worden gebruikt, ook weder ontleden.

Wij zullen ons nu verder bepalen tot de eiwitsplitsende enzymen, omdat ik mij met deze heb bezig gehouden, nl. met

[1]) Peter Rona en Léonor Michaelis, Biochemische Zeitschrift, deel 31, 1911, blz. 345.

het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in het bloed.

In het spijsverteringskanaal worden de eiwitstoffen ontleed met behulp van pepsine, trypsine en erepsine.

Het enzym pepsine wordt, zooals men weet in maagsap aangetroffen, en boven is reeds vermeld, hoe men de ingrijpende veranderingen, die de voedingsmiddelen, zooals vleesch in de maag ondergaan, aanvankelijk toeschreef aan bv. zeer hooge temperaturen in de maag, maar ook hoe een onderzoeker als VAN HELMONT reeds een veel beter inzicht in de werking van het maagsap had. Proefondervindelijk onderzoek naar de werking van de spijsverteringsappen dateert ook volstrekt niet van den allerlaatsten tijd. Zoo vinden wij bv. opgegeven [1]), dat reeds RÉAUMUR, die leefde van 1683 tot 1754, valken kleine metalen buisjes, van talrijke gaatjes voorzien en gevuld met voedingsmiddelen, liet inslikken en na verloop van eenigen tijd vaststelde, dat de inhoud van de buisjes, geheel was verteerd, hoewel hier van een fijnwrijven door de maagwanden geen sprake had kunnen zijn. Bij de werking van de maag moest dus méér in het spel zijn, dan eenvoudig een vermalen. Ongeveer ter zelfder tijd werden ook waarnemingen gedaan door SPALLANZANI [2]). Om maagsap te krijgen, liet hij een adelaar een sponsje, aan een touwtje bevestigd, opslokken. Na eenigen tijd trok hij dan het sponsje terug en door dit uit te persen, kon hij maagsap verzamelen. Het aldus verkregen maagsap bleek in het laboratorium vleesch te kunnen oplossen. Echter deze waarnemingen van RÉAUMUR en SPALLANZANI werden al evenmin als die van VAN HELMONT op hun juiste waarde geschat en het zou nog geruimen tijd duren, voor het onderzoek op stelselmatige wijze weer zou worden opgevat.

Eerst omstreeks 1820 vond dit plaats en konden de waarnemingen van RÉAUMUR en SPALLANZANI bevestigd worden door TIEDMANN en E. GMELEN [3]). Verder deden LEURET en LASSAIGNE de proeven van RÉAUMUR en SPALLANZANI na en konden de uitkomsten ook al weder bevestigen.

---

[1]) CHARLES RICHET, Dictionnaire de Physiologie, deel 4.

[2]) SPALLANZANI, Expériences sur la digestion, 1784.

[3]) TIEDMANN en E. GMELEN, Recherches expérimentelles physiques et chimiques sur la digestion 1827.

Sedert het werk van deze laatst genoemde onderzoekers begon men dan ook algemeen aan te nemen dat in de maag niet alleen maar speeksel zou voorkomen, hetwelk een verzuring zou hebben ondergaan, maar dat bij de spijsvertering maagsap wordt afgescheiden door kliertjes, in den wand van de maag aanwezig.

In 1834 deed de geneeskundige BEAUMONT zijne zoo bekend geworden waarnemingen bij den Canadeeschen jager, bij welken door een ongelukkig schot een blijvende maagfistel was ontstaan. Ongeveer terzelfder tijd werd ook voor het eerst een kunstmatig maagsap bereid en wel door ÉBERLÉ [1]), die maagslijmvlies in een zeer verdunde zoutzuur oplossing zich zelf liet verteren.

THÉODOR SCHWANN [2]) heeft het eerst aan het werkzame bestanddeel van het maagsap den naam pepsine gegeven.

De werking van pepsine is sinds dien door zeer vele onderzoekers nagegaan. Het bleek, dat het vele onoplosbare eiwitstoffen, zooals bv. fibrine kan aantasten en tot oplossing brengen en dat het het opgeloste eiwit dan tot zekere hoogte ontleedt onder vorming achtereenvolgens van verschillende groepen ontledingsproducten, die men noemt acid-albumines, albumoses en peptones. Deze laatste groep van de peptones bestaat nog steeds uit zeer ingewikkeld gebouwde ontledingsproducten van eiwit, die men zelf nog als eiwitstoffen tot zekere hoogte kan beschouwen. Merkwaardigerwijze gaat de werking van pepsine echter niet verder dan tot peptones. Weliswaar hebben sommige onderzoekers vermeld, dat bij zeer lange werking van pepsine zeer kleine hoeveelheden van sommige aminozuren, zooals tryptophaan zouden vrijkomen, maar in alle geval zijn dit slechts uiterst kleine hoeveelheden, die practisch nauwelijks in aanmerking komen.

Ook reeds in den aanvang van het onderzoek werd gevonden, dat voor de werking van pepsine zuur aanwezig moet zijn, maar omtrent de gunstigste hoeveelheid van het zuur bestonden de meest tegenstrijdige opgaven. Eerst de baan-

---

[1]) ÉBERLÉ, Physiologie der Verdauung, 1834, Würzburg.

[2]) THÉODOR SCHWANN, Ueber das Wesen der Verdauungsprozessus, Müller's Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin, 1836, blz. 90.

brekende onderzoekingen van S. P. L. Sörensen [1]) hebben een helder inzicht gegeven in den invloed van alkaliën en zuren op enzymen. Sörensen stelde in het licht, dat het niet de hoeveelheid zuur of alkalie is, die den doorslag geeft, maar de concentratie der waterstofionen of der hydroxylionen. Daardoor werd het ook op eenmaal duidelijk, waaraan de tegenstrijdigheden der vroegere opgaven te wijten waren.

Wat nu de werking van pepsine betreft, bleek het aan Sörensen en andere onderzoekers na hem, dat dit enzym het krachtigst eiwit ontleedt bij vrij sterk zure reactie en wel bij een P_h van ongeveer = 2. Voor verschillende eiwitstoffen ligt de meest gunstige reactie niet steeds bij dezelfde P_h. Zoo wordt bv. fibrine het snelst opgelost door pepsine bij een reactie met een P_h = 2.2, de krachtigste splitsing van de bloedserumeiwitstoffen werd gevonden bij een reactie met een P_h ongeveer = 1.8. De werking van het eiwitsplitsend enzym is zonder twijfel afhankelijk van den aard van het substraat, maar verder ook van den toestand, waarin zoowel substraat als enzym verkeeren. Deze toestand is ten zeerste afhankelijk van de reactie, die de oplossing bezit. De electrische lading toch en de daarvan weder afhankelijke zwellingstoestand van eiwitstoffen zijn afhankelijk van de reactie en deze lading en zwellingstoestand zijn voor de werking van het eiwitsplitsend enzym ongetwijfeld van veel beteekenis. Maar wij hebben allen grond om aan te nemen, dat ook de toestand, waarin het enzym verkeert, verschillend kan zijn en dat deze bv. ook van de reactie afhankelijk is en onder den invloed staat ook nog van andere dan H'- en OH'-ionen en andere in de oplossing zich bevindende stoffen. De ligging van de gunstigste reactie voor de werking van pepsine op eiwit kan dus niet bij juist dezelfde P_h verwacht worden. En inderdaad heeft men dan ook gevonden, dat deze ligging voor verschillende zuren ook bij hetzelfde eiwit eenigszins uiteen loopt. De verschillende anionen van de verschillende zuren hebben in het algemeen ongelijken invloed op den toestand van enzym en substraat. Voorts is het duidelijk, dat de ligging van de optimale reactie en trouwens ook de wer-

[1]) S. P. L. Sörensen, Biochemische Zeitschrift, dl. 21, 1909, blz. 131.

king van het enzym in het algemeen gewijzigd kan worden door aanwezigheid van verschillende zouten en andere stoffen.

Het tweede enzym, waarmede de eiwitstoffen in het spijsverteringskanaal in aanraking komen, is trypsine, dat door het pancreas wordt gevormd en in het pancreassap voorkomt.

Wij zeiden boven, dat proefondervindelijk onderzoek naar de werking der spijsverteringsappen geenszins van den allerlaatsten tijd dateert. Geldt dit, zooals wij zagen, voor het onderzoek naar de werking van maagsap, in niet mindere mate geldt genoemde uitspraak voor het onderzoek naar de werking van pancreassap.

Een student onder FRANCISCUS DE LE BOE SYLVIUS, van 23 jaar, maakte reeds in 1664 een pancreasfistel, al is dat dan ook op primitieve wijze en deze leerling van SYLVIUS, die niemand minder was dan REINIER DE GRAAF, die ook overigens wel bekend is, kan dus als voorganger van J. P. PAWLOW en anderen worden beschouwd. Het is zeker wel merkwaardig, dat reeds in dien tijd in het „Laboratorium" van SYLVIUS zulke proefnemingen werden gedaan en wij zien dus, dat ook in deze richting de Leidsche Universiteit in dien tijd vooraan stond.

De werking van het pancreassap werd bij het onderzoek nog niet duidelijk, wat ook nog niet te verwachten was.

De eerste stelselmatige onderzoekingen naar de werking van het pancreassap zijn uit den aard der zaak van veel lateren tijd. Het is CLAUDE BERNARD [1]) geweest, die deze eer toekomt en die ook op betere wijze pancreasfistels leerde aanleggen, welke door LUDWIG en vooral door J. P. PAWLOW zoo zeer verbeterd werd. CLAUDE BERNARD nam ook reeds de eiwitsplitsende werking van pancreassap waar en deze waarnemingen werden later bevestigd door den lijfarts van NAPOLEON III, nl. CORVISART [2]). Deze gaf den naam pancreatine aan de eiwitsplitsende stof van het pancreassap.

DANILEWSKY [3]) is de eerste geweest, die reeds in 1862 drieërlei werking van het pancreassap vaststelde, nl. een

---

[1]) CLAUDE BERNARD, Leçons de Physiologie expérimentale, Paris, 1856.
[2]) CORVISART, Gazette hebdomadaire, 15, 16 en 19, 1857.
[3]) DANILEWSKY, Archiv für Pathologie und Anatomie, 1862, blz. 279.

zetmeelsplitsende, een eiwitsplitsend en een, in staat vetten te emulsionneeren en te verzeepen.

In 1867 deed W. KÜHNE [1]) een gewichtige mededeeling; voor zoover ik kan nagaan, is hij nl. de eerste geweest, die toen in het licht stelde, dat de wijze, waarop pancreassap eiwit splitst, wel moet worden onderscheiden van de wijze, waarop pepsine dit doet. Hij vond namelijk bij de werking van pancreassap vrije aminozuren, tyrosine en leucine, die door hun moeilijke oplosbaarheid gemakkelijk in het oog vallen, terwijl bij de werking van maagsap deze ontledingsproducten nimmer waren gevonden. De werkzame stof, die CORVISART pancreatine noemde, gaf W. KÜHNE een anderen naam, den naam, dien wij nog steeds daaraan geven, nl. trypsine van het Grieksche „θρύπτω" hetwelk verbrijzelen beteekent.

De verschillende onderzoekers, die zich met de bestudeering van pancreassap bezighielden, hadden herhaaldelijk een bijzonderheid gevonden wat betreft de werking op eiwit, namelijk deze bijzonderheid, dat versch pancreassap meestal niet, of nauwelijks op eiwit werkt. J. P. PAWLOW nam dit verschijnsel bij zijn uitgebreide onderzoekingen over de werking van spijsverteringsappen eveneens waar, maar deed nog een verdere waarneming. Zooals wij boven reeds zeiden, is de techniek voor het aanleggen van pancreasfistels door J. P. PAWLOW verbeterd.

PAWLOW verplaatste den ductus pancreaticus, met een stuk van het darmslijmvlies bij de uitvloeiopening, in de huid. Alleen op deze wijze bleken permanente pancreasfistels te kunnen worden aangelegd en bij deze fistels komt het uitvloeiende pancreassap dus steeds in aanraking met het darmslijmvlies. Het aldus verkregen pancreassap nu bleek steeds werkzaam te zijn op eiwit, in tegenstelling met dat, hetwelk uit een canule uit den ductus pancreaticus werd opgevangen. Zoo kwam PAWLOW er toe, te veronderstellen, dat het pancreassap niet het werkzame eiwitsplitsende enzym bevat, maar een moederstof daarvan, en deze moederstof noemde hij trypsinogeen.

---

[1]) W. KÜHNE, Virchows Archiv, 1875, blz. 558.

Dit trypsinogeen zou geactiveerd worden door aanraking met darmslijmvlies en het darmslijmvlies zou dus een activeerende stof bevatten en leveren, een kinase, die door PAWLOW enterokinase werd genoemd.

In den laatsten tijd evenwel zijn uit de school van R. WILLSTÄTTER mededeelingen verschenen, die, wanneer zij bevestigd worden een nieuw inzicht in deze zaken geven. WILLSTÄTTER [1]) en zijn leerlingen, en wij moeten hier vooral E. WALDSCHMIDT—LEITZ noemen, hebben zich den laatsten tijd met het onderzoek naar den aard en de werking van enzymen zeer veel bezig gehouden. Zij streven er natuurlijk daarbij naar om de enzymen zooveel mogelijk te zuiveren, want alleen door deze stoffen in zuiverder toestand dan tot dusver te bereiden, zou het mogelijk zijn, een beter inzicht in hunnen aard en hunne werking te krijgen. Voor deze zuivering hebben zij vooral van adsorpties gebruik gemaakt, in de hoop daarbij adsorbeerende stoffen te vinden, die uit de onzuivere oplossing de werkzame stof, en dan ook zooveel mogelijk alleen deze, zouden adsorbeeren. Na de adsorptie kan dan de werkzame stof weder van de adsorbeerende worden los gemaakt en zooals men dat noemt, worden geëlueerd door toevoeging van bepaalde stoffen.

WILLSTÄTTER en zijn leerlingen hebben ongetwijfeld daarbij belangrijke uitkomsten gekregen.

Wat nu trypsinogeen en trypsine betreft, deelen E. WALDSCHMIDT—LEITZ en ANNA HARTENECK mee, dat zij uit pancreasextract het trypsinogeen door adsorptie in veel zuiverder toestand dan dit vroeger ooit gelukt was, hebben afgezonderd. Dit trypsinogeen bleek niet onwerkzaam te zijn op eiwit, d.w.z. natieve eiwitstoffen worden er weliswaar niet door aangegrepen, maar albumoses en peptones, ontledingsproducten dus van eiwitstoffen, worden er wel door ontleed. Een activeering van het trypsinogeen vinden ook WALDSCHMIDT—LEITZ en ANNA HARTENECK en deze activeering openbaart zich dan hierin, dat na deze het gevormde trypsine ook natieve eiwitstoffen kan aantasten en ontleden.

---

[1]) R. WILLSTÄTTER en E. WALDSCHMIDT—LEITZ, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 125, 1922, blz. 132; ibidem deel 126, 1922, blz. 143.

Omtrent den aard en het voorkomen van de activeerende stof verschilt de meening van WALDSCHMIDT—LEITZ en ANNA HARTENECK aanzienlijk van die van PAWLOW. WALDSCHMIDT-LEITZ en zijn medewerkster meenen, dat in het pancreassap zelf een moederstof van de activeerende stof voorkomt, een praekinase dus. Deze praekinase gaat dan langzamerhand in de kinase over en omtrent de wijze, waarop deze overgang geschiedt en welke stoffen daarbij in het spel zijn, hebben WALDSCHMIDT—LEITZ en zijn medewerkster nog slechts veronderstellingen. Zij vermoeden, dat daarbij het erepsine een rol zou spelen.

In 1901 ontdekte OTTO COHNHEIM [1]) in het darmsap een eigenaardig eiwitsplitsend enzym, hetwelk evenwel natieve eiwitstoffen niet zou aantasten, maar wel ontledingsproducten, zooals albumoses en peptones. Wat de natieve eiwitstoffen betreft, zou alleen caseine door dit enzym worden aangegrepen. COHNHEIM noemde dit enzym erepsine naar het Grieksche „ἐρέπω", hetwelk doen instorten beteekent. De ontdekking van dit erepsine door COHNHEIM heeft een algeheele omwenteling in het inzicht van de eiwitvertering in het spijsverteringskanaal te voorschijn geroepen. Sedert dien tijd moest men er wel toe komen, om aan te nemen, dat de eiwitstoffen in het spijsverteringskanaal niet maar oppervlakkig, maar diepgaand ontleed worden en dat dus het lichaam in staat zou zijn, om de synthese van zoo ingewikkeld gebouwde stoffen als eiwitstoffen zijn, uit lage ontledingsproducten tot stand te brengen, wat men vóór dien tijd meende niet te kunnen aannemen.

Intusschen hebben WALDSCHMIDT—LEITZ en ANNA HARTENECK ook onderzoekingen gedaan omtrent het erepsine en zoowel omtrent den aard van zijne werking als omtrent zijn voorkomen geheel revolutionaire meeningen verkondigd. Zij zijn op grond van hun onderzoekingen tot het besluit gekomen, dat erepsine in het pancreassap voorkomt en dat het erepsine, dat in het darmsap voorkomt oorspronkelijk van het pancreas afkomstig is.

Het erepsine, zooals dat in het darmsap voorkomt en ook

---

[1]) OTTO COHNHEIM, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 33, 1901, blz. 451.

uit het darmslijmvlies kan worden verkregen, zou van het pancreas afkomstig zijn. Zij hebben namelijk gevonden, dat ook in het pancreassap erepsine voorkomt en dat dit geheel identisch is met dat uit den darm. Het schijnt hun nu onwaarschijnlijk, dat hetzelfde enzym, zoowel door het pancreas, als door de darmslijmvlies-kliertjes zou worden gevormd en wat de kinase betreft, geldt hetzelfde, alleen zou deze dan door het pancreas in den vorm van een moederstof, door het darmslijmvlies als kinase zelf worden gevormd. Daarom achten WALDSCHMIDT—LEITZ en ANNA HARTENECK het veel waarschijnlijker, dat, toen in den loop der ontwikkeling het pancreasweefsel zich van het darmslijmvlies had afgezonderd, dit pancreasweefsel toen ook de vorming van de enzymen van het darmslijmvlies heeft overgenomen en „Dasz der Befund von Erepsin wie von Enterokinase in dem Sekrete der Schleimhaut auf einer sekundären Anhäufung dieser Stoffe in ihren Drüsenzellen beruht. Man gewinnt eine Vorstellung von dem Vorgang der Trypsinaktivierung in tierischen Organismus und eine Erklärung für die Anwesenheit der Enterokinase und des Erepsins in dem Darmsekrete, wenn man annimmt, dasz die Pankreasdrüse, die ja das Trypsin zum Schutze gegen die Selbstauflösung in nicht aktivierter Form ausbildet mit diesem zugleich die gesamte, zu seiner Aktivierung nötige Menge der Enterokinase in unfertigem Zustand an das Sekret abgibt. Die Umwandlung der Aktivatorstufe in das fertige Product würde sich dann unter Mitwirkung des ereptischen Enzyms nach adsorptiver Aufnahme beider in den Zellen der Darmschleimhaut vollziehen und die beide Stoffe, Erepsin und Enterokinase, die sich in der Schleimhaut angehäuft finden, könnten sie wiederum als Sekretionsprodukt verlassen, wenngleich sie ihre eigentliche Entstehung der Pankreasdrüse verdankten.

WALDSCHMIDT en ANNA HARTENECK vinden een verderen grond voor hunne opvatting daarin, dat de vorming van erepsine en kinase in het darmslijmvlies ophoudt, wanneer geen pancreassap meer in den darm wordt uitgestort.

Zooals wij zien, meenen zij, dat bij de omzetting van de praekinase in de kinase, erepsine een rol zou spelen. Wat dit enzym betreft, zijn zij ook overigens tot geheel andere op-

vattingen gekomen dan de tot dusver heerschende. Sinds de onderzoekingen toch van Otto Cohnheim werd algemeen aangenomen, dat erepsine geen natieve eiwitstoffen, behalve dan caseine zou aantasten, maar albumoses en peptones. Ernst Waldschmidt—Leitz en Anna Harteneck meenen, dat deze opvatting op verontreinigen van het erepsine met andere enzymen en dan wel met trypsinogeen berust. Het door hunne adsorptie-werkwijze gezuiverde erepsine tast niet alleen geen natieve eiwitstoffen, maar evenmin albumoses en peptones aan, het brengt slechts di- of hoogstens tri-peptides tot ontleding en het zou de werking van trypsinogeen en ook van trypsine dus op zeer doelmatige wijze aanvulen.

Wij zagen boven, dat reeds W. Kühne duidelijk in het licht stelde, dat de wijze van werking van trypsine geheel verschilt met die van pepsine, het eiwit wordt er veel dieper door gesplitst, er komen aminozuren vrij. Ook de omstandigheden, waarbij trypsine op het eiwit het krachtigst werkt zijn geheel andere, dan die waarbij pepsine het beste werkt. Pepsine werkt het best bij tamelijk sterk zure reactie, trypsine bij alcalische reactie. Het is te verwachten, dat ook bij dit enzym de voor de werking optimale reactie voor verschillende eiwitstoffen en bij aanwezigheid van verschillende anorganische of organische stoffen, eenigermate verschillen vertoont.

Omtrent de voor de werking van trypsine meest gunstige reactie zijn reeds indertijd door S. P. L. Sörensen [1]) onderzoekingen gedaan, ook zijn door Waldschmidt—Leitz en zijn medewerkster daarover proeven genomen en ten slotte zijn ook in het Utrechtsche Laboratorium voor Physiologische Chemie vrij uitvoerige waarnemingen daaromtrent gedaan.

In het Utrechtsche Laboratorium is men tot deze uitkomst gekomen, dat de ontleding van het eiwit door alcalische reactie begunstigd werd en dat de optimale reactie voor de werking van trypsine bij betrekkelijk zeer sterke alcalische reactie zou liggen, ware het niet, dat bij toenemenden graad van alcaliteit trypsine meer en meer vernield wordt [2]).

---

[1]) S. P. L. Sörensen, Biochemische Zeitschrift, deel 21, 1909, blz. 131.

[2]) W. E. Ringer, Hoppe Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 116, 1921, blz. 107; ibidem deel 124, 1922, blz. 171.

Bij langen duur der proeven krijgt deze schadelijke werking van de OH-ionen meer en meer invloed en er werd dan ook gevonden, dat naar mate de duur van de proeven korter is, de optimale reactie meer naar den alcalischen kant ligt. Voor de oplossing van fibrine, waarbij de proeven in enkele minuten konden zijn afgeloopen, lag de optimale reactie voor de werking van trypsine bij ongeveer eene reactie P_h gelijk 11,2. Voor de splitsing van bloedserumeiwit, waarbij de proeven langer moesten duren, werd de meest gunstige reactie bij iets minderen alcalisteitsgraad gevonden, P_h gelijk 10 tot $10\frac{1}{2}$.

De invloed van de reactie op de werking van erepsine is nog niet zoo nauwkeurig bestudeerd, trouwens het zou dan ook eigenlijk pas in den laatsten tijd gelukt zijn, dit enzym, dat dus slechts di- en tripepsides zou splitsen, weer zuiver te verkrijgen. Dit schijnt echter wel zeker, dat ook dit enzym het beste werkt bij alcalische reactie. Oudere waarnemingen hierover, zooals van PETER RONA en F. ARNHEIM [1]), hebben weinig waarde, aangezien deze onderzoekers met onzuiver erepsine hebben gewerkt, dat dus waarschijnlijk verontreinigd was met trypsinogeen en dat dus evenals het erepsine van COHNHEIM albumoses en peptones splitst, althans wanneer de beschouwingen van E. WALDSCHMIDT—LEITZ juist zijn.

PETER RONA en F. ARNHEIM vonden een optimale werking van erepsine op het substraat pepton-WITTE, dat hoofdzakelijk uit albumoses bestaat, bij een reactie P_h gelijk ongeveer 8.

De reacties, waarbij de eiwitsplitsende enzymen, die in het spijsverteringskanaal werkzaam zijn, het beste werken, liggen dus zeer ver uiteen. Er zijn nog andere eiwitsplitsende enzymen bekend, die weer bij andere reacties het sterkst werken, dan pepsine en trypsine. Zoo komt bv. in het melksap van Carica Papaya een eiwitsplitsend enzym voor, dat het best het eiwit splitst bij een reactie P_h gelijk 3,8. De werking van dit melksap op eiwit is wel zeer eigenaardig, want het splitst niet alleen eiwit bij een reactie, P_h gelijk 3,8, maar het lost ook krachtig fibrine op en wel bij dezelfde

---

[1]) PETER RONA en F. ARNHEIM, Biochemische Zeitschrift, deel 57, 1913, blz. 84.

reacties, waarbij pepsine en trypsine dit het best doen, terwijl het verder fibrine ook zeer krachtig oplost bij een neutrale reactie, wanneer zouten aanwezig zijn. Men kan veronderstellen, dat in dit melksap een aantal eiwitsplitsende enzymen aanwezig zijn, met zeer uiteenloopende reactie-optima. Wanneer men echter ziet, dat het melksap bij aanwezigheid van zouten fibrine bij neutrale reactie krachtig oplost, zou men ook het vermoeden kunnen krijgen, dat men eigenlijk met één enzym te doen heeft, hetwelk al naar de bijmengselen en al naar den aard van het substraat bij zeer verschillende reactie het best eiwit oplost en splitst [1]).

Tot een dergelijk vermoeden zou men ook komen, wanneer men ziet, dat de in de organen aanwezige eiwitsplitsende enzymen het beste schijnen te werken bij zwakzure reactie, hoewel voor de reacties, waarbij de eiwitsplitsende enzymen der organen werken, zeer uiteenloopende waarden worden opgegeven. H. C. Bradley [2]) vermeldt bv., dat in lever en nier een „ereptic type of enzyme" voorkomt, hetwelk albumoses en peptones ontleedt bij reacties P_h 3 tot 8. Daarnevens zou een enzymcomplex voorkomen, dat eiwitstoffen splitst bij reacties P_h 3 tot 7. Vele onderzoekers vermelden, dat de autolyse het best voortschrijdt bij zwakzure reactie. Zouden er nu in de weefsels weder geheel andere eiwitsplitsende enzymen voorkomen dan in het spijsverteringskanaal, of zouden in de weefsels dezelfde enzymen voorkomen, die evenwel ten gevolge van de aanwezigheid van allerlei bijmengselen bij andere reacties het best werken? Het is zeker verleidelijk te veronderstellen, dat er eigenlijk maar één eiwitsplitsend enzym bestaat, hetwelk onder invloed van verschillende bijmengselen zich op verschillende wijze kan gedragen en verschillende reactie-optima kan bezitten en het eiwit op verschillende wijze splitsen. Voorloopig is dit evenwel niets anders dan een stoute hypothese.

Wij spraken over de enzymen van het spijsverteringskanaal en over de onwaarschijnlijkheid, dat deze enzymen

---

[1]) W. E. Ringer en B.W. Grutterink, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 156, 1926, blz. 275; ibidem, deel 164, 1927, blz. 112; W. E. Ringer, Archivio di Farmakologia sperimentale et scienze affini, deel 47, 1929, Volume giubilare in onoro del Prof. Domenico Lo Monaco.

[2]) H. C. Bradley, Journal of Biological Chemistry, deel 52, 1922, blz. 467.

geheel andere zouden zijn dan die in de weefsels, die de opgeslorpte bestanddeelen van het voedsel weder ten deele opbouwen tot weefseleiwit, lipoïdestoffen enz. Van verschillende zijden zijn er mededeelingen verschenen, waaruit zou volgen, dat de sterkte der enzymwerken in het bloed en in de weefsels kan wisselen en wanneer dit noodig is, kan toenemen. In het bloed komt een vetsplitsend enzym voor [1]) en de hoeveelheid van dit vetsplitsend enzym schijnt bij rijkelijke voeding met vet toe te nemen. Men heeft dan ook wel vermoed, dat de enzymen uit het spijsverteringskanaal zouden kunnen worden opgeslorpt en naar de weefsels gevoerd om daar aan de verdere omzettingen van de opgeslorpte bestanddeelen behulpzaam te zijn. Men is ook naar aanleiding van de belangwekkende waarnemingen van W. Boldyreff [2]) wel tot dit vermoeden gekomen.

W. Boldyreff vond namelijk bij zijne onderzoekingen bij honden waarbij eenige fistels van het spijsverteringskanaal waren aangelegd, dat, wanneer het opgenomen voedsel in het spijsverteringskanaal grootendeels of geheel verwerkt was, de spijsverteringstoestel nog niet tot rust komt. Hij deed de zeer belangwekkende waarnemingen, die later en ook nog zeer onlangs bevestigd zijn, dat met regelmatige tusschenpoozen het spierstelsel van de maag, van de galblaas en van den darm in werking komt, alsof er weer voedsel aanwezig was.

Tegelijkertijd wordt in de maag een weinig van een alcalisch reageerende vloeistof afgescheiden, die dus geenszins als gewoon maagsap kan worden beschouwd. Door pancreas evenwel, wordt krachtig werkzaam pancreassap afgescheiden, evenals het darmslijmvlies darmsap afscheidt. Men heeft zich afgevraagd wat de beteekenis van deze zoo ongeveer om de twee uren gedurende 15 à 20 minuten plaats vindende werkzaamheid van de spijsverteringstoestel zou kunnen dienen. En daarbij is dan ook het vermoeden geopperd, dat de enzymen van het pancreassap en het darmsap daarbij voor een grooter of kleiner gedeelte zouden worden opgeslorpt,

---

[1]) Léonor Michaelis en Peter Rona, Biochemische Zeitschrift, deel 31, 1911, blz. 345.

[2]) W. Boldyreff, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 50, 1906, blz. 400.

waarbij de spierbewegingen dan behulpzaam zouden kunnen zijn. De opgeslorpte enzymen zouden dan naar de weefsels kunnen worden gevoerd en daar, zooals gezegd, voor de verdere verwerking, en dan daarbij ook synthesen, van veel beteekenis zijn.

Nu heeft men in de organen bij de bestudeering van de zgn. autolyse weliswaar geen enzymen van de eigenschappen van pepsine en trypsine gevonden, wat men dan eigenlijk alleen daaruit afleidt, dat de reactie-optima van de autolytische eiwitsplitsende enzymen niet met die van trypsine en vooral van pepsine overeenstemmen. Zooals reeds boven is uiteengezet, is hieraan misschien niet te veel beteekenis te hechten.

Men heeft ook wel de vraag gesteld, of de autolytische enzymwerkingen kunnen worden vergeleken of op één lijn te stellen zijn met de omzettingen, die in de levende organen plaats vinden. Er is evenwel alle grond, om deze vraag bevestigend te beantwoorden. Zeer pleit, bv. naar onze meening voor deze opvatting, dat in alle omstandigheden, waarbij de stofwisselingprocessen in het levende lichaam versterkt zijn en sterker dan normaal, ook de autolytische processen in de organen eveneens versterkt zijn gebleken.

Het vraagstuk van de autolytische enzymen houdt ten nauwste verband met het vraagstuk, waarmede ik mij heb bezig gehouden, nl. het voorkomen en den aard van de eiwitsplitsende enzymen in het bloed. Daarom mogen hier nog enkele woorden aan de autolytische enzymen gewijd worden.

Reeds zeer kort na de ontdekking van de autolyse door E. Salkowsky [1]) deed C. Biondi [2]) waarnemingen omtrent de autolyse van de lever en geeft op, dat deze door toevoeging van kleine hoeveelheden zoutzuur wordt bevorderd.

Enkele jaren later, in 1901, deelden S. G. Hedin en S. Rowland [3]) mede, dat organische zuren de autolyse van bijna alle organen versterken. Zij hebben dit o.a. kunnen nagaan, aan runder-, paarden-, schaaps-, en varkensmilt, die

[1]) E. Salkowsky, Zeitschrift für klinische Medizin, 1890, Schwiening Virchows Archiv, deel 136, 1894, blz. 444.

[2]) C. Biondi, Virchows Archiv, deel 144, 1896, blz. 373.

[3]) S. G. Hedin en S. Rowland, Zeitschrift für Physiol. Chemie, deel 32, 1901, blz. 341 en 531.

zij met zand gemend fijnwreven tot een brijachtige massa en daarop met infusoriënaarde vermengden en in een hydraulische pers uitpersten. Het sterk zuur reageerende perssap vertoonde eiwitsplitsend vermogen, dat zoowel aan de in het perssap aanwezige, als aan daaraan toegevoegde eiwitstoffen kon worden waargenomen. Bij toevoeging van $^1/_4$ % azijnzuur, $^1/_4$ % melkzuur of 0,1 % zoutzuur, nam dit eiwitsplitsend vermogen nog toe, werd daarentegen bij neutralisatie zwakker, en bij alcalische reactie verdween het geheel of bijna geheel. Werd het perssap verhit, dan verloor het dit eiwitsplitsend vermogen. Het miltenzym, dat deze werking tot stand brengt, is volgens hen blijkbaar van trypsine te onderscheiden, omdat het bij zure reactie het sterkst werkzaam is. Ook in de lymphklieren en nieren van het kalf, in de nieren van paard en hond en in de lever van rund en hond konden zij met deze zelfde methode krachtig werkzame eiwitsplitsende enzymen vinden, die ook weer het beste in zure oplossing werkten, terwijl alcali deze werking verzwakte. In het spierperssap is slechts een zeer zwak enzym voorhanden, waarop volgens hen de reactie geen duidelijken invloed had.

Hedin en verdere medewerkers van hem, hebben dan verder een onderzoek ingesteld naar den aard van de eiwitsplitsing, zooals die door de enzymen van de organen wordt teweeg gebracht. Zij onderzochten daartoe de splitsingsproducten van de eiwitstoffen van de orgaanperssappen zelf, of ook van de daaraan toegevoegde eiwitstoffen, zooals die bij de autolyse ontstaan. Zij vonden daarbij, dat deze splitsingsproducten ongeveer overeenkomen met die, welke in het spijsverteringskanaal uit de eiwitstoffen worden gevormd [1]).

Dergelijke onderzoekingen naar den aard der eiwitsplitsingsproducten, die bij de autolyse ontstaan, zijn ook gedaan door P. A. Levene en W. Jones [2]). Deze onderzoekers vonden nog daarenboven dat bij de autolyse niet alleen eiwitsplitsende enzymen, maar ook vet- en koolhydraatsplitsende in het spel zijn. Zij wijzen er verder op, dat niet alleen ont-

[1]) Leathes, Journal of Physiology, deel 28, 1902, blz. 360; Dakin, ibidem deel 30, 1904, blz. 84; S. G. Hedin, ibidem deel 30, 1904, blz. 155; E. P. Cathcart, ibidem, deel 32, 1905, blz. 299.

[2]) P. A. Levene en W. Jones, American Journal of Physiology, deel 10, 11 en 12, 1904; W. Jones, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 42, 1904, blz. 35.

ledingen, maar ook synthesen bij de „autolyse" soms kunnen worden waargenomen.

Verschillende onderzoekers, die zich met de studie van de autolyse bezig hielden, hebben zich, zooals wij boven trouwens ook reeds opmerkten, de vraag gesteld, of de processen, zooals zij die waarnamen bij de autolyse in vitro, ook eenigermate in vivo zouden plaats vinden. Wij zagen boven, dat er alle grond is, om deze vraag bevestigend te beantwoorden. Men moet zich wel voorstellen, dat in de organen voortdurend opbouw en ontleding plaats vinden. Bij jonge groeiende individuën overweegt de opbouw, bij volwassen gezonde individuën houden beide processen elkaar in evenwicht, bij ziekten kan de ontleding gaan overwegen, en na den dood overweegt de ontleding steeds, hoewel toch, zooals LEVENE en JONES opmerkten, eenige synthesen somtijds plaats vinden. Dat de autolyse ook in het levende gezonde lichaam wel degelijk aanwezig is, kan men ook daaruit afleiden, dat bij onthouding van eiwit het gehalte van het bloed aan aminozuren niet of nauwelijks kleiner wordt.

Hierbij kunnen gedeelten van weefsels in min of meer sterke mate insmelten, ook onder overigens gezonde omstandigheden. Dit insmelten van weefsels ziet men ook bij de zalmen, wanneer deze dieren de rivieren opzwemmen en dan geruimen tijd geen voedsel opnemen. De dieren leven dan ten koste van hun eigen organen, waarvan een aanmerkelijk gedeelte kan worden verbruikt, en waarbij ongetwijfeld ook weer de autolyse in vivo in het spel is. Daarbij ontwikkelen zich dan ook de eieren, alles ten koste van eigen lichaamsubstantie.

Onder pathologische omstandigheden kan dit oplossen van organen nog in veel sterkere mate plaats vinden. M. JACOBY[1]) maakt er bv. opmerkzaam op, dat bij acute gele leveratrophie en bij acute phosphorusvergiftiging eiwitstoffen van het lichaam tot ontleding komen, wat hij daaruit afleidt, dat daarbij eiwitsplitsingsproducten in de urine voorkomen. De naam „Autolyse" is eigenlijk van M. JACOBY afkomstig.

Het is overigens ook bekend, dat deelen van organen,

---

[1]) M. JACOBY, Zeitschrift für Physiol. Chemie, deel 30, 1900, blz. 174.

waarin de circulatie gestoord is, voor een kleiner of grooter deel tot oplossing en opslorping kunnen komen, hoewel men dit niet als een eigenlijken grond kan aanmerken voor de veronderstelling, dat in levende normale weefsels en onder normale omstandigheden autolyse steeds aanwezig is.

S. G. HEDIN deelt geruimen tijd later, in 1922 [1]), weder uitkomsten mede van nieuwe omvangrijke onderzoekingen over autolyse. De voor ons belangrijkste uitkomsten van dit onderzoek zijn, dat naar zijne meening in de milt een drietal eiwitsplitsende enzymen zouden voorkomen en hij onderscheidt een α-protease, een β-protease en een erepsineachtig enzym. De reactie-optima voor de werking van deze drie enzymen zouden zijn, voor het eerste een reactie-optimum bij P_h gelijk 8.8, voor het tweede één bij P_h gelijk 5.4 en voor het erepsineachtige enzym een bij P_h van 7.5 tot 8.5. Tot soortgelijke uitkomsten als HEDIN verkreeg, is ook een Russische onderzoeker, nl. L. UTKIN—LJUBOWZOW [2]) gekomen bij haar onderzoekingen over de autolyse van de lever.

Zij trachtte de enzymen uit de lever gescheiden van elkaar te bereiden. De lever werd in fijnverdeelden toestand in water gesuspendeerd en wanneer dan aan de suspensie een bepaalde reactie werd gegeven, nl. één met P_h gelijk ongeveer 5, dan blijft bij deze reactie verreweg het grootste gedeelte van het eiwit onopgelost, terwijl de enzymen zich verdeelen over dit onopgelost gedeelte en de vloeistof. In de vloeistof komen wellicht twee eiwitsplitsende enzymen voor, althans L. UTKIN—LJUBOWZOW vond bij de werking van deze vloeistof op caseine twee maxima van werking, één bij een reactie P_h gelijk 5.2 tot 5.4, een tweede bij een reactie P_h gelijk 3 tot 3,4. Uit het neerslag kon met behulp van aceton een derde enzym worden verkregen, welk enzym caseine het sterkst bleek te splitsen bij een reactie P_h gelijk 7.5 tot 7.6, dus bij zwak alcalische reactie. Zooals wij zien, komt dus ook deze schrijver tot de veronderstelling, dat in de lever een drietal eiwitsplitsende enzymen aanwezig zijn, althans, wanneer men dit

---

[1]) S. G. HEDIN, Journal of biological Chemistry, deel 54, 1922, blz. 177. Zeitschrift für Physiol. Chemie, deel 122, 1922, blz. 307.

[2]) L. UTKIN-LJUBOWZOW, Biochemische Zeitschrift, deel 158, 192, blz. 50.

mag veronderstellen op grond van het bestaan van drie reactie-optima.

Boven zagen wij reeds, dat niet alleen in het spijsverteringskanaal en in de organen, maar ook in het bloed enzymen voorkomen en althans een vetsplitsend enzym. Maar wij kunnen wel met zekerheid vermoeden, dat ook eiwit- en koolhydraatsplitsende enzymen in het bloed voorkomen. Immers het is te verwachten, dat in de vormelementen en met name in de witte bloedlichaampjes evengoed als in de organen enzymen aanwezig zijn, in staat eiwitstoffen, vetten en koolhydraten te splitsen. Voor de roode bloedlichaampjes kan men dit niet zoo te voren met zekerheid vermoeden, omdat deze althans bij den mensch en de zoogdieren in het algemeen, geen kernen bevatten en dus niet als volledige cellen kunnen worden aangemerkt.

In het volgende hoofdstuk I zullen wij bespreken, wat op het oogenblik bekend is omtrent het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in het bloed.

HOOFDSTUK I

OVERZICHT VAN DE TOT OP HEDEN DOOR ANDEREN GEDANE ONDERZOEKINGEN OVER HET EIWITSPLITSEND VERMOGEN VAN HET BLOED

Reeds voordat E. SALKOWSKY [1]) zijne eerste mededeelingen over de autolyse deed, en lang voor de onderzoekingen van W. BOLDYREFF [2]) was reeds waargenomen, dat in de witte bloedlichaampjes eiwitsplitsende enzymen voorkomen. Het was trouwens ook te verwachten.

Reeds in 1875 deelt NAUNYN mede, eiwitoplossend vermogen bij etter te hebben waargenomen.

OLOF HAMMERSTEN [3]) beschrijft in 1883, dat witte bloedlichaampjes, die in het fibrine veelal voorkomen, dit tot zwelling en oplossing kunnen brengen.

Dergelijke onderzoekingen als HAMMERSTEN in 1883 deed, zijn door anderen herhaald, zoo bv. door ESCHERICH in 1885[4]), door FRIEDRICH MÜLLER in 1887 [5]), die verder ook waarnemingen deed over de zelfvertering van het pneumonisch exsudaat in het stadium van de grijze hepatisatie. Voorts door ACHALMÉ in 1889 [6]).

De eerste, die uitdrukkelijk vermeld schijnt te hebben, dat in witte bloedlichaampjes eiwitsplitsend enzym voorkomt, is LEBER [7]).

---

[1]) E. SALKOWSKY, Zeitschrift für Klinische Medizin, 1890, SCHWIENING, Virchows Archiv, deel 136, 1894, blz. 444.

[2]) W. BOLDYREFF, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 50, 1906, blz. 400.

[3]) OLOF HAMMERTSEN, Pflügers Archiv, deel 30, 1883, blz. 447.

[4]) ESCHERICH, Deutsche Archiv für klinische Medizin, deel 37, 1855, blz. 196.

[5]) FRIEDRICH MÜLLER, geciteerd uit het proefschrift van H. KOSSEL, Berlijn, 1887.

[6]) ACHALMÉ, Comptes rendus de la Société de Biologie, dl. 51, 1899.

[7]) LEBER, die Entstehung der Entzündung, Leipzig, 1891.

Vooral toen men de eiwitsplitsende enzymen in de weefsels bij de onderzoekingen over de autolyse had leeren kennen, lag het voor de hand, te onderzoeken, of deze enzymen ook in het bloed aanwezig zouden zijn. Het was, zooals boven reeds gezegd, van te voren reeds te verwachten, dat dit het geval zou zijn. Immers althans de witte bloedlichaampjes kunnen als volledige cellen beschouwd worden en het was dus te verwachten, dat hierin even goed als in de weefsels, eiwitsplitsende enzymen aanwezig zouden zijn.

In de inleiding is reeds het onderzoek vermeld van S. G. HEDIN en S. ROWLAND [1]), waarbij de eiwitsplitsende enzymen van verschillende organen, zooals milt, de lymphklieren, de nieren en de lever, op hunne werking werden onderzocht. Deze schrijvers onderzochten dan ook het bloed op eiwitsplitsend vermogen en zeggen daaromtrent het volgende: „Schliesslich sei noch erwähnt, dasz wir auch versucht haben, zu eruiren, ob das Blut möglicherWeise ein proteolytisch Enzym enthalte. Im Blutplasma von Pferd und Rind haben wir mit der angewandten Methode keine Spur von einem derartigen Enzym finden können, aber im Preszsaft, bereitet von gequetschten Blutkörperchen, findet sich möglicherWeise ein sehr schwaches Enzym. Ob dieses von den weiszen oder von den rothen Blutkörperchen herrührt, steht noch dahin."

Deze schrijvers vinden dus in het bloedplasma geen spoor van eiwitsplitsend vermogen, althans bij het paard en het rund, maar in de bloedlichaampjes zou dus wellicht een eiwitsplitsend enzym kunnen voorkomen.

Zooals wij boven zagen, heeft waarschijnlijk LEBER het eerst het voorkomen van een eiwitsplitsend enzym in witte bloedlichaampjes herkend. Elf jaar nadat LEBER zijn monographie geschreven had, deelt FRANZ ERBEN [2]) mede, dat hij uit bloedplasma en uit witte bloedlichaampjes, afkomstig van lijders aan leukaemie alcoholneerslagen bereidde, waarvan het glycerine-extract, zoowel peptische als tryptische werking vertoonde, op fibrine. Hij vermoedde, dat de neu-

---

[1]) S. G. HEDIN en S. ROWLAND, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 32, 1901, blz. 531.

[2]) FRANZ ERBEN, Wiener klinische Wochenschrift, deel 15, 1902, blz. 276.

trophile leucocyten de dragers van de eiwitsplitsende enzymen zouden zijn.

Eveneens in 1902 verscheen de mededeeling van Ascoli en Mareschi [1]), welke waarnemingen deden omtrent de autolyse in een exsudaat, hetwelk bij honden te voorschijn was geroepen door inspuiting in de buikholte van gesteriliseerd aleuronaat. Als antisepticum gebruikten zij bij hun proeven chloroform en zij deden naast hun eigenlijke proeven nog proeven ter vergelijking, waarbij het exsudaat drie uur lang op zestig graden was verwarmd. Het bleek, dat de zelfvertering, beoordeeld aan de hoeveelheid niet door tannine neer te slaan stikstof, in het niet verwarmde exsudaat tot 33 % grooter was dan in het verwarmde exsudaat. Men had hier dus met enzymwerking te doen.

In hetzelfde jaar verscheen nog een mededeeling van E. Petry [2]), die in geheel bloed van lijders aan kanker niet de geringste zelfvertering kon vinden.

In het volgende jaar deelt H. Rulot [3]) mede, dat dan alleen fibrine zich oplost, dus de zgn. fibrinolyse intreedt, wanneer bij de fibrine witte bloedlichaampjes aanwezig zijn, een bevestiging dus van de oudere waarnemingen van Olof Hammersten.

In 1905 vinden wij weder een mededeeling over de autolyse in bloed van lijders aan myelogene leucaemie [4]) van Otto Schumm. In verschillende gevallen van genoemde ziekte vond hij eiwitsplitsend enzym in het bloed; in aan het lijk ontnomen bloed kon de ontleding van albumose in den tijd van drie weken duidelijk worden vastgesteld.

In hetzelfde jaar heeft E. L. Opie [5]) de uitkomsten van onderzoekingen medegedeeld omtrent de autolyse van exsudaat en omtrent de in het exsudaat voorkomende eiwitsplitsende enzymen door het exsudaat te laten werken op gelatine en fibrine. Op grond van zijn uitkomsten komt hij tot de veronderstelling, dat de in het exsudaat aanwezige

---

[1]) Ascoli en Mareschi, Giorno della R. Accad. di Torino, deel 65, 1902, blz. 251.
[2]) E. Petry, Hofmeisters Beiträge, deel 2, 1902, blz. 98.
[3]) H. Rulot, Mémoires par l'Académie royale, Belgique, deel 63, 1903.
[4]) Otto Schumm, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1905, blz. 1831.
[5]) E. L. Opie, Journal of experimental Medicine, deel 7, 1905, blz. 316, ibidem deel 8, 1906, blz. 410.

groote mononucleaire cellen, (de macrophagen van METCHNIKOFF) een enzym zouden bevatten, dat het best bij zure reactie eiwitsplitsend werkt. Dit enzym noemt hij lymphoprotease. De neutrophile leucocyten, afkomstig van het beenmerg, zouden een enzym bevatten, hetwelk het best bij alcalische reactie werkt, de leucoprotease.

Wij moeten zeker hier verder de onderzoekingen vermelden van E. MÜLLER en G. JOCHMANN [1]), die zich bezig hielden met het onderzoek naar de eiwitsplitsende werking van het bloed van lijders aan leucaemie, van beenmerg van lijders aan myelogene leucaemie en verder brij van lymphklieren van lijders aan lymphatische leucaemie. Zij onderzochten de eiwitsplitsende werking op deze wijze, dat zij een druppel bv. van het bloed van een lijder aan myelogene of lymphatische leucaemie op een LÖFFLER's serumplaat brachten, dan bij 50° gedurende zekeren tijd lieten werken, waarna de sterkte van de inwerking op de plaat werd nagegaan. Een werking op de plaat werd alleen waargenomen door bloed van lijders aan myelogene leucaemie en door brij van beenmerg van dezelfde lijders en de werking zou volgens de schrijvers vrijwel evenredig zijn met het aantal leucocyten.

Wanneer MÜLLER en JOCHMANN de proeven met bv. bloed bij 37° deden, vonden zij geen werking. Om werking bij deze temperatuur te zien te krijgen, was voorbehandeling van het bloed bij omstreeks 55° noodzakelijk. Zij meenen, dat bij deze voorbehandeling, waarbij de temperatuur natuurlijk ook niet te hoog mag worden, daar dan de enzymwerking verloren gaat, de enzymen uit de witte bloedlichaampjes treden en dus kunnen werken, òf dat remmende stoffen worden vernield. MÜLLER en JOCHMANN deden vervolgens ook proeven met verschillende soorten van etter en zij meenen, dat de polynucleaire leucocyten ook van normaal bloed eiwitsplitsend enzym bevatten. Versche etter heeft dan ook wel degelijk werking op de plaat, echter zou etter van koude tuberculeuse abcessen geen enzymwerking bezitten. Zelfs door eenvoudige verwarming van de verschillende ettersoorten op 50° zou volgens hen aan de autolyse, dus de vervloeiing, de aard van

[1]) E. MULLER en G. JOCHMANN, Müchner Medizinische Wochenschrift, deel 53, 1906, blz. 1393; ibidem deel 53, 1906, blz. 1507.

den etter te zien zijn, de genoemde etter van de koude abcessen bij tuberculose vervloeit echter niet.

In hun tweede mededeeling zeggen de schrijvers dat de leucocyten van normaal bloed zoowel als van bloed van lijders aan de verschillende vormen van leucaemie en ook die van verschen etter en uit het beenmerg ook bij 50° geen duidelijke eiwitsplitsende werking meer vertoonen, wanneer kleine hoeveelheden bloedserum worden toegevoegd. De roode bloedlichaampjes zouden geen remmende werking op de eiwitsplitsing oefenen. Wat de invloed van de reactie betreft, meenen zij dat een zwakke alcalische reactie of hoogsten neutrale reactie de beste is en het eiwitsplitsend enzym zou dus van trypsineachtigen aard zijn.

Het volgende onderzoek, hetwelk hier vermelding verdient, is afkomstig van FRANZ ERBEN [1]), die, zooals wij zagen reeds in 1902 onderzoekingen had gedaan, waaruit zou volgen, dat zoowel uit witte bloedlichaampjes als uit bloedplasma van lijders aan myelogene leucaemie tweeërlei enzymen zouden kunnen worden verkregen, nl. één dat bij zure, en één dat bij alcalische reactie het best zou werken. In zijn latere mededeeling nu blijkt het, dat hij bij de voortzetting van zijn onderzoekingen gebruik heeft gemaakt van de door E. MÜLLER en G. JOCHMANN toegepaste wijze van onderzoek met LÖFFLER'S serumplaten. Hij vindt, dat de eiwitvertering door de witte bloedlichaampjes veel beter aan den dag treedt, wanneer men in plaats van de eigenlijk LÖFFLER'S serumplaat, bereid dus met runderserum en druivensuikerbouillon, gebruik maakt van platen, bereid uit runderbloedserum, verdund met physiologische zoutoplossing.

Hieruit zou volgen, dat, aangezien met de aldus bereide serumplaten vertering werd verkregen bij 37° zonder voorbehandeling bij 55°, de remming, zooals die door MÜLLER en JOCHMANN bij hun proeven was gevonden, te danken is aan het substraat zelf.

F. ERBEN verzamelt de witte bloedlichaampjes steeds door centrifugeeren en heeft dus bij zijn verschillende proeven zeker wel steeds ongeveer even veel witte bloedlichaampjes

---

[1]) FRANZ ERBEN, Münchener klinische Wochenschrift, deel 53, 1906, blz. 2567.

gebruikt, wat natuurlijk niet het geval zou zijn, wanneer hij met druppels bloed zou gewerkt hebben. Hij vindt nu met leucocyten van verschillende herkomst verschillende werking en wel vond hij, dat leucocyten, afkomstig van lijders aan leucaemie spoediger en krachtiger werkten, dan leucocyten uit bloed van gezonden. F. ERBEN deed verder nog onderzoekingen omtrent de autolyse van bloed. Zijn eerste pogingen, waarbij het bloed gedurende 70 uur op 36° werd verwarmd, gaven geen uitkomsten en daarop verhoogde hij de temperatuur tot 37,6° en verlengde den tijd tot op 25 dagen, zelfs werd ook een proef gedaan bij 50°, maar daarbij werd dan slechts drie dagen verteerd. Het onderzoek naar de vertering werd gedaan door de massa met ammoniumsulfaat te behandelen. Het bleek, dat eiwitontledingsproducten, die door ammoniumsulfaat niet worden neergeslagen en die men dus peptones noemt, niet waren gevormd, maar wel minder diepe ontledingsproducten, nl. albumoses, die bij zure reactie althans bij ammoniumsulfaat nog volledig worden uitgezouten.

Hieruit blijkt, dat onder deze omstandigheden dus wel vertering heeft plaats gevonden, en verder, dat de vertering het sterkst was bij leucocyten van lijders aan leucaemie. Uit denzelfden tijd vinden wij nog een mededeeling van TH. PFEIFFER [1]). Zijn wijze van werken was deze, dat hij bloed zelf, met oxalaat voor stolling gevrijwaard, in de broedstoof langen tijd, tot 73 dagen toe, onder toevoeging van toluol als antisepticum, aan de autolyse onderwierp. Op de volgende wijze werd de graad van autolyse nu nagegaan. Vóór en na de autolyse werd de hoeveelheid reststikstof in het bloed onderzocht en wel door de eiwitstoffen van het bloed neer te slaan met behulp van zinksulfaat en zwavelzuur. Het filtraat werd volgens KJELDAHL onderzocht.

Zijn uitkomsten leeren, dat, de graad van autolyse afhankelijk is, van het aantal leucocyten en dat de aard van de leucocyten er niet toe doet, of de polymorphkernige of multinucleaire leucocyten afkomstig zijn van gezonden of van lijders aan leucaemie, of dat men leucocyten neemt van lijders

---

[1]) TH. PFEIFFER, Wiener klinische Wochenschrift, 1906, blz. 1249.

aan besmettelijke ziekten, de autolytische werking schijnt steeds dezelfde te zijn. Hij vat zijn besluiten dan ook aldus samen: „Die Autolyse ist somit keine karakteristische Eigenschaft leukaemischen Blutes. Vielmehr enthalten wenigsten die neutrophilen, polymorphkernigen Leukozyten regelmäszig ein eiweiszspaltendes (nicht nur spezifisch autolytisches) Ferment; je gröszer ihre Zahl in der Volumeinheit Blut ist, desto ausgiebiger verläuft die Bildung „inkoagulablen" Stickstoffes. Nur deshalb ist sie in leukaemischen Blute am grösztеn, geringer im leukozytotischen, am kleinsten im normalen Blute; doch wird sie auch in letzterem bei genügend langer Versuchsdauer deutlich." Na de boven besproken verhandelingen zijn nog tal van nieuwere onderzoekingen medegedeeld. Zoo vinden wij in 1907 en 1908 mededeelingen van EMIL ABDERHALDEN en medewerkers [1]). ABDERHALDEN en zijn medewerkers [2]) waren met dergelijke onderzoekingen reeds veel eerder begonnen, waarbij zij met orgaanperssappen en later ook met bloedplasma en bloedlichaampjes werkten. Als substraat gebruikten ABDERHALDEN en zijn medewerkers di- of tri-peptides en de splitsing daarvan werd onderzocht door, na verwijdering van de eiwitstoffen uit de vloeistof, de hoeveelheden der vrijgekomen aminozuren na te gaan, waarvoor zij de door EMIL FISCHER en EMIL ABDERHALDEN uitgewerkte werkwijzen gebruikten, zooals die ook waren toegepast bij het onderzoek naar de samenstelling van eiwitstoffen.

E. ABDERHALDEN en H. DEETJEN toonden aan, dat in de weefsels van het dierlijke organisme enzymen voorhanden zijn, die polypeptides afbreken. De schrijvers vestigen er de aandacht op, dat het darmsap met zijn enzymen als erepsine

---

[1]) EMIL ABDERHALDEN en H. DEETJEN, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 51, 1907, blz. 334; EMIL ABDERHALDEN en W. H. MANWARING, ibidem deel 55, 1908, blz. 377.

[2]) EMIL ABDERHALDEN en A. HUNTER, Weitere Beiträge zur Kenntnis des proteolytischen Fermente der Tierischen Organe, ibidem deel 48, 1906, blz. 537.

EMIL ABDERHALDEN en YUTAKA TERUUCHI, das Verhalten einiger Peptide gegen Organextrakte; ibidem deel 47, 1906, blz. 466.

EMIL ABDERHALDEN en YUTAKA TERUUCHI, Studien über die proteolytische Wirkung des Preszsaftes einiger tierischen Organe sowie des Darmsaftes, ibidem deel 49, 1906, blz. 1. EMIL ABDERHALDEN en PETER RONA, das Verhalten von Leucyl-phenyl-alanine, Leucyl-glycyl-glycin en van Alanine-glycyl-glycin gegen Preszsaft der Leber von Rinde ibidem, deel 49, 1906, blz. 31.

in zijn werking die van de weefselenzymen nabij komt, in zooverre, als ook darmsap op vele polytpeptides inwerkt, terwijl bv. pancreassap hierop geen uitwerking heeft. Zij vermoeden, dat men niet het recht heeft, over proteolytische enzymen alleen te spreken, maar vinden het waarschijnlijk, dat er voor de lagere afbraakproducten van eiwitstoffen ook andere enzymen bestaan, zoodat men naast proteolytische ook peptolytische enzymen zou moeten aannemen.

De waarnemingen van E. ABDERHALDEN bij zijn vroegere proeven met YUTAKA TERUUCHI [1]), dat bloedserum in staat is glycyl-tyrosine te splitsen, evenwel niet altijd, brachten de schrijvers op het denkbeeld, dat behalve het bloedserum nog andere elementen in het bloed hiervoor aansprakelijk konden zijn en wel de roode en witte bloedlichaampjes en bloedplaatjes. Immers was destijds misschien niet voldoende aandacht aan de bereiding van het bloedserum besteed, dat nu eens door kunstmatig defibrineeren van het bloed, dan weer door natuurlijke stolling gewonnen was.

Zij gebruikten nu voor hun proeven hierover versch, met ammonium-oxalaat onstolbaar gemaakt paardebloed. Om zooveel mogelijk plasma te verwijderen centrifugeerden zij 15 minuten bij 3000 toeren, daarna waschten zij met physiologische zoutoplossing en centrifugeerden opnieuw eenige keeren. Zoo verkregen zij een mengsel van roode en witte bloedlichaampjes, want een volledige scheiding tusschen roode en witte gelukte door centrifugeeren niet. Zij trachtten nu de hoofdmassa van leucocyten en bloedplaatjes, door afscheppen van de bovenste lagen, te isoleeren. De onderste lagen toonden onder het microscoop een zeer klein aantal witte bloedcellen, maar verder overwegend roode bloedlichaampjes, schrijvers gebruikten nu voor hun proeven deze onderste laag, tegelijkertijd werd ook het plasma op zijn werking ten opzichte van polypeptides onderzocht. Zij lieten nu 10 cm van de brij van roode bloedlichaampjes werken op een bepaalde hoeveelheid dipeptide na toevoeging van toluol, gedurende drie dagen bij een temperatuur van 37°, en gingen dan na de hoeveelheid ontstaan aminozuur. Inderdaad wer-

[1]) E. ABDERHALDEN en YUTAKA TERUUCHI, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 49, 1906, blz. 1.

den de di-peptides gesplitst. In de proeven met plasma daarentegen kon geen spoor van splitsing gevonden worden.

Hoewel niet alle witte bloedcellen en bloedplaatjes uit de brij van roode bloedlichaampjes geweerd konden worden, meenen de schrijvers toch op grond van deze proeven te mogen besluiten, dat ook in de roode bloedlichaampjes een peptolytisch enzym aanwezig is.

Verdere onderzoekingen deden EMIL ABDERHALDEN en W. H. MANWARING [1]), waarbij zij uitgingen van runderbloed en waarbij het hun er om te doen was na te gaan of ook de roode bloedlichaampjes en bloedplaatjes van runderbloed het vermogen bezitten polypeptides te splitsen.

De erythrocyten werden ook nu weer door centrifugeeren en wasschen met physiologische zoutoplossing van plasma bevrijd en ten slotte drie maal door een 25 cm hooge wattenlaag afgefiltreerd. De aldus behandelde erythrocyten werden nu nog eens drie maal met physiologische zoutoplossing gecentrifugeerd. De bloedplaatjes konden zij door gefractionneerd centrifugeeren afzonderen.

En ook nu weer werden de polypeptides door de roode bloedlichaampjes gesplitst, maar ook de bloedplaatjes bewerkten een hydrolyse, maar niet regelmatig; de schrijvers achten het nu mogelijk, dat door al de manipulaties de bloedplaatjes in die gevallen, waarin geen duidelijke splitsing van de polypeptides kon worden aangetoond, aan werkzaamheid hadden ingeboet.

Wij zagen boven reeds, dat bij de onderzoekingen van bv. E. MÜLLER en G. JOCHMANN [2]) een duidelijk verschil in eigenschappen van leucocyten en lymphocyten aan het licht was gekomen bij de proeven, die zij namen met leucocyten, afkomstig van lijders aan myelogene leucaemie en lymphocyten, afkomstig van lijders aan lymphatische leucaemie, waarbij zij konden aantoonen, dat leucocyten op LÖFFLER's serumplaten wel, lymphocyten, hierop echter geen verterende werking uitoefenden. In aansluiting aan deze proeven mogen

---

[1]) E. ABDERHALDEN en W. MANWARING, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 55, 1908, blz. 377.

[2]) E. MÜLLER en G. JOCHMANN, Münchener medizinische Wochenschrift, deel 53, 1906, blz. 1507.

de waarnemingen van HERTZ [1]) welke vermeld worden; hij toonde aan, dat ook leucocyten van kunstmatig opgewekte steriele etter eiwitsplitsend vermogen op de LÖFFLER's serumplaten uitoefende. Hij richtte zijn proeven hiervoor zoo in, dat hij aan verschillende honden inspuitingen onder de huid resp. van sterielen terpentijn, creoline, zilvernitraat en kwik toediende. Hij onderzocht den door deze inspuitingen opgewekten etter op zijn eiwitsplitsend vermogen door middel van LÖFFLER'S serumplaten en hij deelt mede, dat de etter uit een terpentijn-absces, die microscopisch, zooals reeds door W. JANOSWKI [2]) was aangetoond, bijna uitsluitend uit lymphocyten bestaat, het eiwit van de serumplaten niet aangreep, terwijl de drie andere ettersoorten duidelijke putjes vormden. Etter, opgewekt door inspuiting onder de huid van een 5-procentige zilvernitraatoplossing riep zelfs nog in de verdunning van 1 op 150 duidelijke verteringsverschijnselen te voorschijn, echter was etter van parasitairen oorsprong nog in verdunningen van 1 op 2000 werkzaam. Het merkwaardige feit deed zich bij deze proeven voor, dat wanneer HERTZ bij éénzelfden hond in de nekstreek een terpentijnabsces opwekte en in de gluteaalstreek een kwikabsces, de etter uit dit kwikabsces geen eitwitsplitsend vermogen bezat en dan ook uit lymphocyten bleek te bestaan, terwijl de etter, afkomstig uit het terpentijnabsces van de nekstreek wel eiwitsplitsend vermogen bezat en dan ook grootendeels uit leucocyten bleek te bestaan.

G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN [3]) deelden mede, op welke wijze zij wat zij noemen leucocytenferment uit beenmerg, milt en etter hebben bereid. Zij onderwierpen de genoemde weefsels en den etter daartoe aan de autolyse. Na deze autolyse werden vetten en vetachtige stoffen door uitschudding met aether verwijderd en het overblijvende werd met glycerine uitgetrokken. Wanneer hij dit glycerine-uittreksel uitgoot in alcohol-aether, dan kwam er een wit neerslag, hetwelk bij drogen in een geel-bruin hygroscopisch poeder overging. Een

[1]) HERTZ, Münchener medizinische Wochenschrift, 1908, blz. 957.

[2]) W. JANOWSKI, Morphologie des Eiters verschiedenen Ursprungs, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie, band 36, 1895.

[3]) G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, deel 11, 1908, blz. 449.

oplossing van dit poeder in physiologische keukenzoutoplossing bleek zeer werkzaam te zijn op een mengsel van caseine en fibrine, hetwelk zich in Petri-schalen bevond.

Van deze bereidingswijze heeft voorts G. JOCHMANN [1]) gebruik gemaakt voor zijne onderzoekingen, waarvan hij de uitkomsten meedeelt onder den titel „Zur Bedeutung des proteolytischen Leucocytenfermentes für die pathologische Physiologie (Resorption, Autolyse, Fieber, Änderung der Gerinnungstendenz des Blutes)". Daar JOCHMANN in deze verhandeling niets nieuws meedeelt omtrent het gehalte aan eiwitsplitsend enzym van bloedlichaampjes, terwijl verder zijne beschouwingen, in deze verhandeling ontwikkeld, thans wel als geheel verouderd kunnen worden beschouwd, behoeven wij bij deze verhandeling niet langer stil te staan.

Zooals wij boven reeds zagen, is het E. SALKOWSKY [2]) geweest, die het eerst duidelijk het begrip van autolyse in het licht heeft gesteld. Trouwens reeds zeer lang geleden, in 1873, heeft deze onderzoeker al het vermoeden gehad, dat in de weefsels enzymen zich zouden bevinden, in staat eiwitstoffen te ontleden [3]). Na de mededeelingen van SALKOWSKY hebben velen zich met de autolyse bezig gehouden en er ontstond een strijd over de vraag, of dit verschijnsel der autolyse zich slechts in de afgestorven organen zou voordoen, dan wel of deze autolyse ook gedurende het leven in het spel zou zijn. Zooals wij in de inleiding reeds zagen, is tenslotte uit deze onderzoekingen wel gebleken, dat de autolyse volstrekt niet alleen een verschijnsel is, dat na den dood der weefsels intreedt, maar dat wel degelijk ook gedurende het leven de enzymen der autolyse werkzaam zijn.

Een leerling van SALKOWSKY, namelijk LUIGI PRETI [4]) deed in 1907 eveneens een onderzoek, waarvan de bedoeling voornamelijk was, om na te gaan, of gedurende het leven ook autolyse zou voorkomen. Daartoe onderzocht hij den invloed op de autolyse van alcalische reactie, verkregen door toevoeging van soda. Het bleek daarbij, dat deze alcalische reactie niet gunstig

---

[1]) G. JOCHMANN, Virchows Archiv, deel 194, 1908, blz. 342.
[2]) E. SALKOWSKY, Zeitschrift für klinische Medizin, 1890.
[3]) E. SALKOWSKY, Virchows Annalen, deel 58, 1873, blz. 3.
[4]) LUIGI PRETI, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel52, 1907, blz. 485.

was. In dien tijd had men omtrent de reactie van vloeistoffen en het bloed nog geenszins heldere voorstelling. Maar LUIGI PRETI ziet toch in het feit, dat de autolyse zonder toevoeging van soda evengoed en dikwijls zelfs beter tot stand komt dan na toevoeging van soda een grond voor de veronderstelling, dat ook gedurende het leven autolyse plaats vindt. Want zegt hij, het is geenszins zeker te achten, dat het bloed in het levende lichaam even alcalisch reageert als in het Laboratorium. Overigens zegt hij, dat toevoeging van het bloed aan de organen van weinig of geen invloed is op den gang der autolyse.

Ook van Nederlandsche zijde zijn onderzoekingen over het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in de vormelementen van het bloed verricht. In 1910 werd zulk een onderzoek gedaan door J. C. SCHIPPERS [1]). Deze deed zijn proeven met bloed van het paard en het kalf. Het bloed werd kiemvrij opgevangen en zoo versch mogelijk verwerkt en voor alle zekerheid werd nog toluol toegevoegd. Voor de proeven werd het bloed met gedestilleerd water verdund, om de zoogenaamde remmende werking van het bloedserum tegen te houden. Dan werd eenige dagen en soms zelfs een groot aantal dagen, zelfs tot 231 dagen toe, op lichaamstemperatuur verwarmd. Dan werd de vloeistof van eiwit bevrijd door coagulatie van het eiwit door verwarming en in het filtraat werd de hoeveelheid reststikstof bepaald. SCHIPPERS deed ook proeven met roode bloedlichaampjes, welke proeven op analoge wijze werden verricht.

Ten slotte werden ook nog proeven gedaan met bloedserum.

De uitkomsten, die SCHIPPERS verkreeg zijn de volgende:
In bloedserum vindt autolyse niet plaats.
In geheel bloed vindt daarentegen duidelijk autolyse plaats.
Ook de roode bloedlichaampjes autolyseeren en bevatten dus eiwitsplitsende enzymen.

Volgens SCHIPPERS zou het eiwitsplitsend enzym in de bloedlichaampjes tegen verwarming op 60° gedurende 1 uur

---

[1]) J. C. SCHIPPERS, Biochemische Zeitschrift, deel 28, 1910, blz. 418.

bestand zijn en zelfs nog verwarming op 90° gedurende korten tijd verdragen.

Zooals J. C. SCHIPPERS zelf opmerkt, zijn zijne uitkomsten, wat betreft de roode bloedlichaampjes in strijd met die van OKER-BLOM [1]), welke laatste onderzoeker in de roode bloedlichaampjes geen eiwitsplitsend enzym vond.

In strijd met de uitkomsten van J. C. SCHIPPERS, wat betreft eiwitsplitsend enzym in roode bloedlichaampjes zijn al evenzoo de uitkomsten van L. PINCUSSOHN en K. RÜDIGER VON ROQUES [2]). Deze laatst genoemde onderzoekers werkten met bloed van verschillende dieren en onderzochen zoowel het geheele bloed als de roode bloedlichaampjes in verschillende verbindingen met physiologische zout-oplossing en verder ook in gehaemolyseerden toestand.

Voorts onderzochten zij ook de witte bloedlichaampjes, zooals zij die verkregen door inspuiting van terpentijn. Tenslotte onderzochten zij ook de vloeistof van het door den terpentijn opgewekte absces.

Het onderzoek werd gedaan, door bij het bloed of de bloedlichaampjes stukjes van organen, zooveel mogelijk van hetzelfde dier, waarvan het bloed afkomstig was, te brengen. Het geheel werd dan in dialyseerhulzen gebracht en gedialyseerd tegen physiologische keukenzoutoplossing, of als het gehaemolyseerde bloedlichaampjes betrof, tegen gedestilleerd water.

Soms werd als substraat ook gecoaguleerd kippeneiwit gebruikt. De uitkomsten waren de volgende:

Een eiwitsplitsende werking, te beoordeelen met behulp van de ninhydrine-reactie in de den dialysator omgevende vloeistof, kon in de proeven met de roode bloedlichaampjes nimmer worden gevonden. Noch in de erythrocyten-suspensies van verschillende dichtheid, bv. ook zoo als in het bloed zelf aanwezig was, noch in de gehaemolyseerde erythrocyten bleek iets van een eiwitsplitsend enzym.

Verschijnselen van een autolyse werden bij de erythrocyten al evenmin gevonden.

---

[1]) OKER-BLOM, Skandinavisches Archiv für Physiologie, deel 14, blz. 48.

[2]) L. PINCUSSOHN en K. RÜDIGER VON ROQUES, Biochemische Zeitschrift, deel 64 1914, blz. 1.

In de witte bloedlichaampjes daarentegen werd wel degelijk eiwitsplitsend enzym gevonden, de gebruikten substraten werden er door ontleed. De vloeistof, waarin de leucocyten zich bevonden in het absces, bevatte geen eiwitsplitsend enzym.

L. PINCUSSOHN had reeds eerder in 1913 een verhandeling in het licht gegeven [1]) over de splitsende werking van bloedserum van honden op pepton, bereid uit hondenspier. Voorts deed hij ook proeven omtrent de werking van bloedserum van mensch, paard, hond, vos, kat en het Guineesche biggetje op pepton, bereid uit de eigen organen of ook uit organen van andere soorten. De uitkomsten, waartoe PINCUSSOHN daarbij was gekomen, luiden aldus:

Het bloedserum tast pepton, bereid uit organen van een dier van dezelfde soort, aan, bereid uit organen van een dier van een andere soort echter niet. Zoo tast bv. hondenbloedserum pepton, uit weefsels van den hond bereid, aan, maar pepton, bereid uit weefsels van de kat in het geheel niet. Soort-verwantschap speelt echter hierbij toch wel een rol, want het hondenbloedserum bleek wel pepton, bereid uit organen van den vos, aan te tasten. Het bloedserum van het Guineesche biggetje bleek werkzaam te zijn tegenover pepton, afkomstig van organen van alle onderzochte dieren. In het bloedserum dus van den mensch en van de onderzochte dieren behalve het Guineesche biggetje, zou een peptonsplitsend enzym voorkomen, specifiek ingesteld op pepton, bereid uit eiwitstoffen van dieren van dezelfde soort.

Naar aanleiding van het zoo juist beschreven onderzoek van L. PINCUSSOHN hebben EMIL ABDERHALDEN en G. EWALD[2]) een zeer uitgebreid onderzoek gedaan, waarbij zij de werking van bloedserum van gezonde dieren op peptones bestudeerden. Als peptones gebruikten zij zijdepepton, gelatinepepton, lever-, spier-, pancreas-, hersen- en nierpepton en steeds bleven de peptones onaangetast, wat de onderzoekers langs optischen weg vaststelden. Wanneer echter de dieren te vo-

---

[1]) L. PINCUSSOHN, Biochem. Zeitschrift, deel 51, 1913, blz. 107; ibidem deel 56, 1913, blz. 319.

[2]) EMIL ABDERHALDEN en G. EWALD, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 91, 1914, blz. 86.

ren waren behandeld door inspuiting onder de huid van een oplossing van een bepaald pepton, dan bleek na eenigen tijd het bloedserum van het dier het vermogen te hebben gekregen, het betreffende pepton te splitsen, er zou dan dus weer een specifiek peptolytisch enzym ontstaan zijn.

Zooals wij reeds in de inleiding mededeelden, was het HEDIN [1]) die in de milt een drietal eiwitsplitsende enzymen aannam nl. een α-protease, een β-protease en een erepsine-achtig enzym.

In een andere mededeeling van S. G. HEDIN [2]) zegt hij, dat de waarneming, dat de albuminefractie van ossenbloedserum antilichamen van de zgn. α-protease van de milt bevat, terwijl de globulinefractie de werking van dit enzym juist verhoogd, hem tot het vermoeden gebracht heeft, dat in ossenbloedserum, hoewel dit zonder meer niet eiwitsplitsend werkt, toch een eiwitsplitsend enzym voorhanden is en werkelijk kon hij aantoonen, dat het ossenserum een zwak eiwitsplitsend enzym bevat, hetwelk evenals de zgn. α-protease in alcalische oplossing werkt, maar door het antilichaam van de albuminefractie niet tot werking komt.

Overigens vertoont dit enzym ook overeenkomst met het miltenzym. Het wordt met het globuline uit het serum bij dialyseeren neergeslagen; bij toevoegen aan het verdunde bloedserum van azijnzuur of na een derde verzadiging met ammoniumsulfaat komt het eveneens tot neerslaan. Het splitst caseïne, gelatine en gecoaguleerd bloedserum, werkt echter niet op globuline zelf of op gecoaguleerd kippeneiwit. Bij verhitting gedurende $\frac{1}{2}$ uur op 55° in $\frac{1}{4}$ % Na_2CO_3-oplossing wordt het vernietigd.

Door caseïneneerslag wordt het, evenals de milt-protease, meegesleurd en het kan op deze manier op de eenvoudigste wijze uit het serum gewonnen worden. Men verdunt het serum op het drie tot viervoudig volumen met water, voegt van een verzadigde, bij 37° bereide oplossing van caseïne in $\frac{1}{4}$ % Na_2CO_3-oplossing, 10 ccm per 100 ccm bloedserum toe en slaat neer met 0,2 % azijnzuur.

De werking van het enzym wordt volgens HEDIN in bloed-

[1]) S. G. HEDIN, Journal of biological Chemistry, deel 54, 1922, blz. 107.
[1]) S. G. HEDIN, Journal of Physiology, deel 30, blz. 195.

serum door antilichamen, die in de albuminefractie aanwezig zijn, opgeheven.

Wat betreft de herkomst van dit enzym, neemt HEDIN in verband met zijn overeenkomst met de miltprotease aan, dat het uit de leucocyten door secretie of door te gronde gaan van deze witte bloedcellen in het serum overgaat.

Later deelde HEDIN nog mede, over proeven, die hij nam met paarden- en runderserum [1]), dat hij in dit serum het bestaan kon aantoonen van eiwitsplitsende enzymen en wel van door hem zoogenoemde primaire- en secundaire proteases. Primaire proteases zijn dan zulke, die slechts eiwitstoffen van ingewikkelde moleculaire bouw als caseïne aantasten, secundaire oefenen vooral op peptones een splitsende werking uit.

Hij kon deze proteasen scheiden door gefractionneerd neerslaan der bloedserum-eiwitstoffen; deze laatste adsorbeeren dan de enzymen, bij een derde verzadiging namelijk van het bloedserum met ammoniumsulfaat scheidt zich de globulinefractie af, die zoowel de primaire, als een deel van de secundaire protease door adsorptie meesleurt. De tusschen half en totale verzadiging neerslaande albuminefractie zou practisch slechts secundaire protease bevatten. Wanneer HEDIN de globulinefractie op 56° verhitte, dan werden de primaire proteases onwerkzaam gemaakt, terwijl de secundaire aanzienlijk verzwakt werden. De albuminefractie bevat, behalve de secundaire protease antiproteolytische stof, die zich hoofdzakelijk tegenover de primaire protease van de globulinefractie en ook tegenover pancreasenzym doet gelden.

In 1922 heeft M. SCHIERGE mededeeling gedaan over proeven betreffende de eiwitsplitsende werking van menschenbloedserum. Hij zegt daarin, dat, wanneer men het bloedserumeiwit met alcohol neerslaat, het enzym wordt medegesleurd en dat daarna aan een oplossing van het gedroogde eiwitneerslag in alle onderzochte gevallen een eiwitsplitsende werking op fibrine waargenomen kan worden. Hij meent, dat de, door het neerslaan met alcohol veroorzaakte, wateronttrek-

[1]) S. G. HEDIN, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 104, 1918, blz. 11.
[2]) M. SCHIERGE, Klinische Wochenschrift, deel 1, 1922, blz. 2427.

king niet omkeerbaar is, waardoor onder omstandigheden voor een proteasewerking gunstige verhoudingen optreden, die oorspronkelijk in het bloedserum niet aanwezig waren. (Dit in verband met de antitryptische werking van niet voorbehandeld bloedserum.)

Volgens SCHIERGE werken vele pathologische bloedsera op zichzelf reeds duidelijk eiwitsplisend. Zoo kon hij in sommige gevallen de splitsing van caseïne tot tryptophaan, leucine en tyrosine vervolgen.

De herkomst van de bloedserumprotease denkt hij zich van verschillende proteases velerlei lichaamscellen.

Later doet SCHIERGE nog mededeeling [1]) over een methode tot activeering van de in menschenbloedserum aanwezige protease door toevoeging van drie deelen alcohol op twee deelen goed gecentrifugeerd bloedserum. Dit mengsel liet hij één uur in de ijskast staan, filtreerde dan door een dubbelfilter en droogde het neerslag tot een fijnpoeder. Hij kon ook nu aantoonen, dat menschenbloedserum enzymen bevatten kan, die uit caseïne aminozuren, zooals trytophaan, tyrosine en leucine splitsen en een eiwitsplitsende werking op karmijnfibrine was steeds aanwezig.

Na deze proeven heeft M. SCHIERGE met medewerking van O. KÖSTER [2]) het neerslaan van eiwitsplitsende enzymen uit menschenbloedserum samen met bloedserumeiwit, door middel van alcohol, verder bestudeerd en zij komen dan tot de volgende gevolgtrekkingen:

De hoeveelheid protease, die met een bepaalde hoeveelheid serumeiwit uit een, door alcohol verkregen, serumeiwitneerslag weer in oplossing kan gebracht worden, heeft meestal veel sterker eiwitsplitsend vermogen dan de overeenkomende hoeveelheid in genuïnen toestand; bij een reactie, die ongeveer die van het bloedserum en van de weefselvloeistoffen nabij komt, wordt pepton-WITTE sneller gesplitst dan caseïne.

Volgens bovengenoemde schrijvers komt de sterke inwer-

---

[1]) M. SCHIERGE, Zeitschrift für die gesammte experimentelle Medizin, deel 32, blz. 142.

[2]) M. SCHIERGE en O. KOSTER, Zeitschrift für die gesammte experimentelle Medizin, deel 34, blz. 442.

king van de protease in het bloedserum op pepton overeen met de werking van de orgaanprotease, die, wanneer geen al te sterke afwijking van het neutrale punt naar den zuren kant bestaat, eveneens zoowel pepton als eiwit splitsen kan, volgens hen.

SCHIERGE en zijn medewerkers komen dus tot de slotsom, dat in menschenbloedserum wel degelijk een eiwitsplitsend enzym aanwezig is.

Ook van Japansche zijde is het bloedserumprotease-vraagstuk bestudeerd. Zoo deelt OKUBO [1]) o.a. mede, dat, wanneer hij bloedserum met gedestilleerd water verdunt, de proteasewerking beter aan den dag treedt; wanneer hij daarentegen met physiologische zoutoplossing verdunde, werd de eiwitsplitsende werking belangrijk gestoord. Hij stelt zich voor, dat deze werking van de zoutoplossing aangrijpt aan de „antiënzymatische kracht van het serum". Verder vond hij, dat met stijgende hoeveelheid substraat ook de werking van de serumprotease toeneemt. Wat verder de optimale reactie betreft, zegt hij, dat de serumproteases van mensch en verschillende dieren het best bij neutrale of liefst zelfs tegenover lakmoes, zwak alcalische oplossing werken. Hij kon verder vaststellen, dat de protease gevoeliger is voor zure dan voor alcalische reactie.

Wij zien dus, dat de verschillende meeningen der schrijvers over het al of niet voorkomen van proteolytisch, dan wel peptolytisch enzym in het bloedserum van mensch en dier nog al verdeeld zijn. Zoo heeft H. J. FUCHS [2]) nog eens een groote reeks proeven gedaan, om te trachten op dit punt meer licht te krijgen en wel ging hij na het gedrag van bloedserum tegenover soorteigen en soortvreemd fibrine, immers de gevolgde werkwijzen zijn niet altijd vergelijkbaar, daar de vele onderzoekers dikwijls verschillend substraat gebruikten. Hij geeft een nauwkeurige beschrijving van de, door hem bij zijn proeven gebruikte, dialyseervaten en van een bepaald toestel ter bepaling van de hoeveelheid stikstof volgens een wijziging van de micro-KJELDAHL methode van BANG, waardoor hij in

---

[1]) OKUBO, Berichte der gesammten Physiologie, deel 28, blz. 467.
[2]) H. J. FUCHS, Biochemische Zeitschrift, deel 170, 1926, blz. 76.

staat is zijn stikstofbepalingen uit te voeren, zonder kans op verlies van stikstof.

Fuchs meent op grond van zijn uitkomsten, dat de bloedsera van paard, rund en schaap een enzym bevatten, dat het fibrine, afkomstig van een andere soort van dier splitst, echter niet fibrine, afkomstig van een dier van dezelfde soort.

Om nu te maken dat de werking op fibrine niet spoedig tot stilstand komt, tracht Fuchs de eiwitontledingsproducten door dialyse te verwijderen, waarvoor hij dan de zooeven genoemde door hem beschreven dialyseervaten gebruikt. Het bleek hem, dat niet tegen gedestilleerd water moet worden gedialyseerd, maar tegen een zoutoplossing en wel zóó, dat het gehalte van het bloedserum aan electrolyten zooveel mogelijk standvastig blijft. Op deze wijze dialyseerende, gaat de werking van het enzym door, totdat het geheele substraat verbruikt is.

Door verwarming van het bloedserum gedurende één uur op 50°, zou het zijne werking op fibrine verloren hebben.

Ter nadere toetsing van de verkregen uitkomsten doet hij dan nog de volgende vergelijkingsproef. In plaats van bloedserum neemt hij nu een andere eiwitoplossing en brengt daar op de gewone wijze weder fibrine bij, dialyseert tegen een zoutoplossing, die ongeveer overeenkomt met de samenstelling van de anorganische bestanddeelen van het bloedsserum en neemt waar, dat ook nu aan de zoutoplossing stikstofhoudende eiwitontledingsproducten worden afgestaan, in veel mindere mate dan wanneer bloedserum gebruikt was. Overigens loste het fibrine in de eiwitoplossing ook niet merkbaar op.

In een volgende mededeeling komt H. J. Fuchs [1]) op grond van nieuw verkregen uitkomsten tot de volgende gevolgtrekking:

Bloedserum van gezonde menschen tast fibrine, verkregen uit het bloed van andere gezonde menschen niet aan, echter wel fibrine, verkregen uit het bloed van andere zieke menschen. Bloedserum van zieken tast fibrine, afkomstig uit het bloed van andere lijders aan dezelfde ziekte niet aan, daaren-

---

[1]) H. J. Fuchs, Biochemische Zeitschrift, deel 175, 1926, blz. 185.

tegen wel fibrine, verkregen uit bloed van lijders aan andere ziekten en evenzoo verkregen uit het bloed van gezonden.

Zoo vond hij bv., dat het bloedserum van lijders aan boosaardige gezwellen, zooals carcinoom, sarcoom en chondroom, en ook van lijders aan luës en roodvonk, fibrine, bereid uit bloed van lijders aan dezelfde ziekte, onaangetast laat, daarentegen wel aantast fibrine, afkomstig uit het bloed van lijders aan andere ziekten of afkomstig uit het bloed van gezonden. Bij het onderzoek van de werking van het bloedserum van lijders aan tuberculose op fibrine deed zich deze eigenaardige moeilijkheid voor, dat fibrine, verkregen uit het bloed van lijders aan tuberculose ook zonder aanwezigheid van een eiwitsplitsend enzym in een verdunde zoutoplossing min of meer gemakkelijk in oplossing gaat. Daarom gebruikte FUCHS bij het onderzoek van de werking van het bloedserum van deze lijders als substraat een uit alttuberculine verkregen onoplosbaar eiwitpreparaat, hetwelk zich overeenkomstig de normale fibrines gedroeg.

H. J. FUCHS zette zijn onderzoekingen verder voort en thans samen met M. VON FALKENHAUSEN [1]). Zij deden thans proeven met paardenbloed en het bleek, dat het bloedserum van paarden, die onvatbaar waren gemaakt voor tetanus en diphterie, fibrine, verkregen uit het bloed van tegen genoemde ziekten voorbehandelde paarden niet oplost. Dit zelfde fibrine bleek echter wel te worden opgelost door bloedserum van normale paarden of van paarden lijdende aan carcinoom of van paarden, die onvatbaar waren gemaakt tegenover een of andere ziekte.

Bij deze onderzoekingen van FUCHS en FALKENHAUSEN was tot hier toe sprake van de werking van bloedsera op fibrine, verkregen uit het bloed van paarden, voorbehandeld tegen tetanus en diphterie. Zij deden verder echter ook proeven met fibrine, verkregen uit het bloed van gezonde paarden of van paarden, lijdende aan carcinoom.

Het bleek, dat het bloedserum van de voor tetanus en diphterie onvatbare paarden deze fibrines niet ontleedt, er

---

[1]) H. J. FUCHS en M. VON FALKENHAUSEN, Biochemische Zeitschrift, deel 178, 1926, blz. 155.

kon geen grooter worden van de hoeveelheid reststikstof worden waargenomen.

Deze vondst van FUCHS en VON FALKENHAUSEN is in verband met hun andere opgaven wel eigenaardig, immers uit deze moet men toch opmaken, dat het bloedserum van een mensch of een dier, lijdende aan een bepaalde ziekte of ook voorbehandeld tegen een bepaalde ziekte, fibrine, afkomstig uit het bloed van een mensch of van een dier van dezelfde soort, lijdende aan dezelfde ziekte, of voorbehandeld tegen dezelfde ziekte, niet ontleedt. Wel daarentegen fibrine afkomstig van het bloed van een gezond mensch of van een gezond dier van dezelfde soort, of lijdende aan een andere ziekte splitst.

En nu deelen de schrijvers mede, dat fibrine, bereid uit bloed van een gezond dier of van een dier lijdende aan kanker niet wordt ontleed door het bloedserum van een dier van dezelfde soort, onvatbaar gemaakt tegen tetanus of diphterie.

Volgens mijne meening zijn deze uitkomsten niet geheel met elkaar overeen te brengen.

In het voorafgaande heb ik getracht, zooveel mogelijk in chronologische volgorde een overzicht te geven van de onderzoekingen, die gedaan zijn omtrent het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in het bloed. Er zijn verder ook nog onderzoekingen verricht over de vraag, of de sterkte van het eiwitsplitsend vermogen van het bloed aan wisseling onderworpen is en in hoeverre men daarop invloed kan oefenen.

Zoodanige onderzoekingen deden bv. EMIL ABDERHALDEN en L. PINCUSSOHN [1]). Deze gingen na, of het mogelijk is, door inspuiting van soortvreemd eiwit het gehalte van het bloedplasma aan eiwitsplitsend enzym te doen toenemen. Daartoe spoten zij bij konijnen of honden kippeneiwit of ook wel paardenbloedserum in. Het onderzoek geschiedde door het bloedplasma van de proefdieren te laten werken op zijdepepton. Het bleek, dat het bloedplasma van de voorbehandelde dieren krachtiger pepton splitste dan het bloedplasma van onbehandelde dieren. De onderzoekers zien in dit toenemen van het peptonsplitsend vermogen een verdedigings-

[1]) E. ABDERHALDEN en L. PINCUSSOHN, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 61, 1909, blz. 200.

middel van het organisme tegenover het ingespoten soortvreemde eiwit (Abderhalden's Abwehrferment).

Emil Abderhalden en W. Weichardt [1]) hebben deze onderzoekingen in 1909 voortgezet. Zij spoten bij konijnen en honden herhaaldelijk kippeneiwit en ontledingsproducten van eiwit, bv. ook zijdepepton in een ader en onderzochten dan daarna het peptolytisch vermogen van het bloedserum door middel van zijdepepton. Dit zijdepepton wordt door bloedserum van normale konijnen en honden niet, door bloedserum van voorbehandelde dieren echter wel gesplitst, welke splitsing genoemde onderzoekers langs optischen weg vaststelden. Door verwarming van het bloedserum van de voorbehandelde dieren op 60° bleek het peptolytisch vermogen verloren te gaan. Door de inspuiting dus van eiwit of pepton zou volgens de schrijvers peptolytisch enzym in het lichaam ontstaan, misschien ook wel aan het bloed worden afgestaan.

Bij inspuiting van verschillende peptones bleken in het bloedserum geen voor deze verschillende substraten specifieke enzymen te kunnen worden gevonden.

In een derde mededeeling, die E. Abderhalden met L. Pincussohn samen over dit onderwerp deed [2]), deelen zij mede, dat de verandering van peptolytische eigenschappen van het serum ook aan hondenbloed na inspuiting van gliadine vastgesteld kon worden. De splitsing werd weer langs optischen weg vervolgd. Zij zeggen, dat deze waarnemingen misschien uitzicht geven op klinische en therapeutische beteekenis.

In de inleiding hebben wij reeds vermeld hoe W. Boldyreff [3]) kon waarnemen, reeds in 1906, hoe het spierstelsel van maag, galblaas en darm met regelmatige tusschenpoozen in werking komt, wanneer het opgenomen voedsel in het spijsverteringskanaal reeds geheel of ten deele verwerkt is. In 1926 nu hebben W. Iwanow en I. Basilewitsch [4]) bij 10 studenten den invloed van de periodische werking van het

---

[1]) E. Abderhalden en W. Weichardt, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 62, 1909, blz. 120.

[2]) E. Abderhalden en L. Pincussohn, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 62, 1909, blz. 243.

[3]) W. Boldyreff, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 50, 1906, blz. 400.

[4]) W. Iwanow en I. Basilewitsch, Berichte der gesammten Physiologie, deel 38, 1926, blz. 88.

spijsverteringstoestel op het enzymgehalte van het bloed nagegaan. De motorische werkzaamheid van de maag werd als uitdrukking van de werking van het heele spijsverteringstoestel geregistreerd gedurende 5 tot 8 uur. Zij onderzochten nu telkens in het begin, in het midden en aan het eind van de werkzaamheid, zoowel als in de rustperiodes het door venepunctie verkregen bloed op het enzymgehalte. Hierbij vonden zij dat overeenkomstig de verteringswerkzaamheid het enzymgehalte wisselt en wel zou de enzymwerking het grootst zijn tegen het midden of eind van werkings- en rustperiodes.

Wij hebben nu met opgezet geen nadere melding gemaakt van wat in 1914 door E. Herzfeld geschreven werd onder den titel: „Beiträge zur Chemie der proteolytischen Fermente, vorläufige Mitteilung", welke „vorläufige Mitteilung" in het jaar 1915 gevolgd werd door een definitieve publicatie van denzelfden schrijver [1]). Wij hebben dezen schrijver daarom nog niet vermeld, omdat zijn ideeën zoo revolutionair zijn, dat zij niet wel onder die van de andere onderzoekers gerangschikt konden worden.

Later werd noch van de zijde van Herzfeld, noch uit eenig ander Laboratorium iets naders over deze merkwaardige beschouwingen gehoord, die dan hier mogen volgen.

Het was Herzfeld opgevallen, dat al die sera, die sterk splitsend vermogen bezitten, tegenover andere een grootere hoeveelheid dialyseerbare, met ninhydrine reageerende stoffen bevatten. Zoo kwam deze schrijver tot het vermoeden, dat bovengenoemde stoffen bij de eiwitsplitsing een rol konden spelen. Hij heeft nu verschillende pepsine- en trypsinepreparaten nader onderzocht om na te gaan, of ook bij de geïsoleerde enzymen tusschen werkzaamheid en hoeveelheid der dialyseerbare, met ninhydrine reageerende stoffen een dergelijke samenhang te vinden is. Het bleek hem, dat het meest werkzame preparaat het hoogste, het minderwaardigste, het laagste stikstofgehalte had. Verder bleek, dat het meest werkzame preparaat de grootste hoeveelheid van de met ninhydrine reageerende stoffen bevatte, daarentegen het

[1]) E. Herzfeld, Biochemische Zeitschrift, deel 64, 1914, blz. 103.
E. Herzfeld, ibidem, deel 68, 1915, blz. 402.

minderwaardigste, de kleinste hoeveelheid van deze verbindingen. Dit leidde tot het vermoeden, dat pepsine en trypsine *eiwitderivaten* konden zijn. Bij onderzoek gaven alle pepsinepreparaten de biureetreactie, terwijl deze reactie bij alle werkzame trypsines steeds negatief uitviel. Pepsine kon, wat betreft stikstofgehalte en hoeveelheid der dialyseerbare met ninhydrine reageerbare stoffen het best met peptones, trypsine met aminozuren vergeleken worden. HERZFELD kwam nu op grond van zijn proeven tot de volgende uitkomsten:

1. Bij dialyseeren van een bepaalde hoeveelheid van waterig pepsine, verkrijgt men een bepaalde hoeveelheid met ninhydrine reageerende stoffen, maar dezelfde hoeveelheid pepsine in zoutzure oplossing geeft bij dialyse minder van zulke verbindingen. Hetzelfde vindt men nu bij een analoog onderzoek met pepton. De splitsende werking van pepsine in waterige- en in zoutzure oplossing is bijna even sterk, maar ook een peptonoplossing splitste in water en in zoutzuur gelijke hoeveelheden eiwit, vooropgesteld, dat het pepton uit een homoloog eiwitlichaam stamt; zoo wordt albumine door een pepton uit albumine, maar niet door bv. zijdepepton gesplitst.

2. Een bepaalde hoeveelheid trypsine geeft, in water opgelost, bij dialyseeren een bepaalde hoeveelheid met ninhydrine reageerende stoffen, dezelfde hoeveelheid trypsine in 0,5 % $NaHCO_3$ of 0,5 % Na_2CO_3 gedialyseerd, geeft minder van bovengenoemde verbindingen. Trypsine kan reeds in water een aanmerkelijk deel van eiwit splitsen, in 0,5 % $NaHCO_3$ of 0,5 % Na_2CO_3 oplossing, meer. Aminozuren nu, werken in dezelfde verhouding op eiwit, maar HERZFELD kon tot nu toe voor de aminozuren niet een dergelijke specificiteit als voor de peptones aantoonen.

3. In de pepsines vormen hoofdzakelijk mengsels van peptones en in de trypsines mengsels van aminozuren de werkzame bestanddeelen. Daar nu pepsine een groot aantal eiwitlichamen kan splitsen, is aan te nemen, dat daarin ook de met deze eiwitlichamen overeenkomende peptones voorhanden zijn, zoodat uit hoofde hiervan pepsine geen specifiek splitsende werking ten opzichte van enkele eiwitlichamen kan toegeschreven worden. Met het trypsine zal het, zegt HERZFELD, wel precies zoo zijn.

4. Zelfs het enzymkarakter kan voor peptones en aminozuren door vergelijkende proeven bewezen worden, namelijk 1 mgr. pepsine of trypsine splitste uit 100 mgr. eiwit een bepaalde hoeveelheid af, een zelfde hoeveelheid echter kon ook 1 mgr. van het met het eiwit overeenkomende pepton of van de aminozuren, splitsen.

5. De eiwitsplitsende enzymen, pepsine en trypsine doen zich dus voor, als typische catalysatoren, die de langzaam verloopende eiwithydrolyse versnellen en tot dat stadium voeren, waarin zij zich zelf bevinden. Wanneer dus de veronderstelling, dat in de werkzame pepsine- en trypsinederivaten de eiwitsplitsende werking aan de peptones resp. aminozuren toekomt, gerechtigd is, dan is er geen reden meer, deze stoffen als enzymen te kenschetsen.

6. HERZFELD heeft redenen, dat in sommige koolhydraatsplitsende enzymen ook een correspondeerend splitsingsproduct het werkzame deel is. Indien dit ook van andere enzymen aantoonbaar zou zijn, dan zou men in het algemeen de enzymen als splitsingsproducten kunnen aanzien, die onder gunstige physische en chemische voorwaarden de splitsing der correspondeerende lichamen versnellen en tot dat stadium voeren, waarin zij zich zelf bevinden.

In zijn publicatie van 1915 meent HERZFELD o.a. het catalyseerend vermogen bij synthetisch leucylglycine en ook bij zuivere aminozuren, met name glycocoll, leucine, glutaminezuur en alanine, zwakker bij phenylalanine, niet bij asparaginezuur en tryptophaan aangetoond te hebben. De catalyseerende werking, reeds bij betrekkelijk kleine hoeveelheden duidelijk, stijgt met de hoeveelheid, maar slechts tot een zeker evenwicht, waarboven een synthetiseerende werking overweegt.

„Onder bepaalde voorwaarden" kon ook bij deze eenvoudige catalysatoren een thermolabiliteit aangetoond worden, anderzijds in een werkzaam trypsinepreparaat, een ook bij koken bestendig deel met eiwitsplitsend vermogen gevonden worden.

Men kan daarom, zegt HERZFELD, onder eiwitsplitsende enzymen afbraakproducten van eiwit verstaan, die onder gunstige physische en chemische voorwaarden (reactie

concentratie, aanwezigheid van zouten en colloïden, temperatuur, etc.) de splitsing van eiwitlichamen versnellen en tot die grens voeren, waarbij zij zich zelf bevinden en ten slotte veronderstelt hij, dat men een analoge definitie voor alle andere enzymen geven kan.

Tegen deze wat fantastisch-aandoende beschouwingen is wel het een en ander in het midden te brengen. Zoo moet er om te beginnen op gewezen worden, dat de zgn. ninhydrinereactie er niet een is, die zich het beste leenen laat tot het aantoonen van een eenigszins belangrijke eiwitsplitsing, immers, deze reactie is zoo gevoelig, dat men haar voor het doel, waartoe HERZFELD haar gebruikte niet wel vertrouwen kan. Dat bovendien in een sterk werkzaam enzympreparaat ook het hoogste gehalte aan dialyseerbare stikstofhoudende stoffen gevonden kan worden, behoeft ons niet te verwonderen, want al hoeft het werkzame bestanddeel van het enzym geen eiwit te zijn, het is toch mogelijk, dat in het preparaat eiwit aanwezig is en dus heel gemakkelijk in een sterk werkzaam preparaat ook de splitsingsproducten daarvan. Afgezien van de onbetrouwbare werkwijze, waarop de eiwitsplitsing vervolgd werd, is het heel wel mogelijk, dat de splitsingsproducten van eiwit, die HERZFELD in plaats van enzym bezigde met sporen pepsine of trypsine „verontreinigd" waren.

Bovendien kan bacteriënwerking hem, met zijn ninhydrinereactie, ook parten gespeeld hebben, te meer, daar zijn proeven zoo lang duurden, soms tot 1000 uren toe.

Maar zooals reeds gezegd, men heeft later niets naders, in het bijzonder van andere onderzoekers, vernomen.

Hieronder laten wij nu om een gemakkelijker overzicht te hebben nog eens in het kort een opsomming volgen van de onderzoekers, die wij in dit hoofdstuk besproken hebben, het materiaal, waarmede zij werken en hun uitkomsten.

Onderzoekers:	*Materiaal:*	*Uitkomsten:*
NAUNYN, 1875	etter	eiwitsplitsing
O. HAMMERSTEN, 1883	leucocyten op fibrine	zwelling en oplossing
ESCHERICH, 1885	leucocyten in sputum	vertering
F. MÜLLER, 1887	leucocyten, autolyse	vertering
	pneumonisch exsudaat	vertering
ACHALMÉ, 1899	leucocyten	vertering

Onderzoekers:	*Materiaal:*	*Uitkomsten:*
Leber, 1891	leucocyten	vertering
S. G. Hedin en S. Rowland, 1901	bloedplasma paard en rund	geen eiwitsplitsend enzym
F. Erben, 1902	plasma en leucocyten van leucaemie	peptische en tryptische werking
Ascoli en Mareschi 1902	aleuronaat exsudaat	vertering
E. Petri, 1902	geheel bloed carcinoom-patienten	geen autolyse
H. Rulot, 1903	leucocyten op fibrine	oplossing
O. Schumm, 1905	bloed leucaemie	eiwitsplitsend enzym
E. L. Opie, 1906	mononucleaire leucocyten	pepsine
	neutrophile leucocyten	trypsine
E. Müller en G. Jochmann, 1906	leuco- en lymphocyten van lijders aan myologene en lymphatische leucaemie op serumplaten	eiwitsplitsing bij myelogene leucaemie
F. Erben, 1906	geheel bloed en leucocyten op sermplaten	eiwitsplitsing
Th. Pfeiffer, 1906	geheel bloed	eiwitsplitsing
E. Abderhalden, 1907	orgaanperssap	eiwitsplitsing
	bloedplasma en bloedserum	erepsine
	bloedlichaampjes op polypeptides	ook peptolytisch enzym
	later bloedplasma	geen peptolyse
Hertz, 1908	leucocyten	eiwitsplitsing
G. Jochmann en G. Lockemann, 1908	leucocyten	eiwitsplitsing
L. Preti, 1907	geheel bloed	autolyse
J. C. Schippers, 1910	bloedserum van paard en kalf	geen autolyse
	roode bloedlichaampjes	wel autolyse
L. Pincussohn, 1913	geheel bloed	geen eiwitsplitsing
	roode en witte bloedlichaampjes	wel eiwitsplitsing
	bloedsera	specifiek peptolytisch enzym
E. Abderhalden, 1914	bloedserum van verschillende dieren op peptones	geen werking tenzij na voorbehandeling

Onderzoekers:	*Materiaal:*	*Uitkomsten:*
S. G. Hedin, 1918—1922	bloedserum van paard rund	primaire en secundaire proteasen.
M. Schierge, 1922	menschenbloedserum op fibrine, caseïne en karmijnfibrine	eiwitsplitsing
Okubo	bloedserum mensch en dier,	eiwitsplitsing
H. J. Fuchs, 1926	bloedserum op soorteigen en soortvreemd fibrine	specifieke eiwitsplitsing
E. Abderhalden, 1909	bloedplasma van konijn en hond	peptolytisch enzym

Wij zien dus dat alle onderzoekers in leucocyten een eiwitsplitsend enzym gevonden hebben; dat alleen Abderhalden en Schippers in roode bloedlichaampjes, een splitsend enzym konden vinden en dat wat betreft het bloedserum de meeningen verdeeld zijn, maar dat toch de meeste schrijvers het er wel over eens zijn, dat ook in bloedserum een splitsend enzym aanwezig is, al nemen dan ook sommigen als L. Pincussohn, E. Abderhalden en H. J. Fuchs een meer specifieke werking aan.

Immers volgens L. Pincussohn zou bloedserum soorteigen of soortverwant pepton aantasten, maar pepton, bereid uit organen van een dier van andere soort, niet; terwijl E. Abderhalden en zijn medewerkers vonden, dat toediening buiten het darmkanaal om, van soortvreemd, echter niet van soorteigen eiwit het peptolytisch vermogen van het bloedserum kan doen toenemen. Volgens Abderhalden zou bloedserum van gezonde menschen en dieren niet het vermogen hebben zijde-, gelatine- of orgaanpepton te splitsen.

H. J. Fuchs stelde, zooals vermeld, verder vast dat bloedserum van gezonden, soorteigen fibrine niet splitst, wel soortvreemd, alsook fibrine afkomstig uit bloed van lijders aan carcinoom, sarkoom, lues en scarlatina. Bloedserum van zieken tast fibrine afkomstig van denzelfden zieke niet aan, wel echter dat van lijders aan andere ziekten en fibrine van gezonden. Vele onderzoekers, (wij hebben lang niet allen

kunnen vermelden), spreken elkaar tegen, wat betreft de vraag of de sterkte van het eiwitsplitsend vermogen aan wisseling onderworpen is en welke factoren daarop van invloed zouden kunnen zijn. Wel staat het volgens O. FÜRTH, zooals hij in zijn „Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie", II deel, blz. 66, laatste druk, vermeldt, vast, dat het eiwitsplitsend vermogen van het bloedserum vermeerderd kan zijn: „wo Körperzellen im lebenden Organismus zugrunde gehen; so bei bösartigen Geschwülsten, Infektionskrankheiten, nach Verbrennungen und bei Epileptikern im Anfalle, nach Blutergüssen und Quetschungen, im Hunger und Fieber, nach Unterbindung von Organen, bei Kachexien der verschiedensten Arten."

HOOFDSTUK II

BESPREKINGEN EN BESCHOUWINGEN OVER HET ANTITRYPSINE-VRAAGSTUK

In 1887 nam OLOF HAMMERSTEN [1]) samen met zijn medewerker H. RÖDEN waar dat de werking van het lebenzym op melk door toevoeging van bloedserum wordt tegengegaan. Deze waarneming is de aanleiding geweest tot het verschijnen van tallooze verhandelingen tot op den tegenwoordigen tijd toe, omtrent stoffen, die remmend zouden werken op enzymen, zgn. antipepsines en antitrypsines. Zeer veel moeite heeft men zich gegeven, om de waargenomen verschijnselen te verklaren. Zeer veel verschil van meening en zeer veel verschil in opvatting vindt men in de literatuur over dit onderwerp. Wanneer men deze literatuur bestudeert, dan zou men wel haast tot dezelfde ontboezeming willen komen, als waartoe OTTO FÜRTH in den nieuwsten druk van zijn „Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie" is gekomen: [2])

„Man hat viel Zeit mit der Suche nach spezifischen, die Verdauung verhindernden Hemmungskörpern im Magen selbst, sowie im Blute, sogenannten „Antipepsinen" vergeudet. Ich werde hier auf diesen mir aufrichtig gestanden, höchst antipathischen Gegenstand um so weniger eingehen, als die neueste einschlägige, sehr gründliche (aus dem Laboratorium von PARNAS hervorgegangene) Untersuchung zu dem Schlusze gelangt, dasz alles, was bisher über Serumantipepsine und ähnliche schöne Dinge behauptet worden ist,

---

[1]) OLOF HAMMERSTEN en RÖDEN, Upsala läkareför, förh.deel 22, 1887, blz. 546.
[2]) Prof. Dr. OTTO FÜRTH, Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, deel II, 1927, blz. 19.

restlos aus einer Verschiebung der Wasserstoffionen-Konzentration erklärt werden kann."

Na de waarneming toch van OLOF HAMMERSTEN omtrent den remmenden invloed van bloedserum op de werking van lebenzym, verschenen weldra mededeelingen, waaruit bleek, dat niet alleen de werking van lebenzym, maar ook de werking van pepsine en van trypsine door bloedserum wordt tegengegaan.

Reeds zeer spoedig na deze eerste waarnemingen dacht men al aan het bestaan van antiënzymen, maar toch ook aan het bestaan van andere invloeden. Zoo kwam SCHNAPAUF [1]) reeds in 1888 bij zijn onderzoek, dat hij voor zijn proefschrift bewerkte, tot de opvatting, dat de remmende invloed van bloedserum op de werking van pepsine toegeschreven moet worden aan den schadelijken invloed van de alcalische reactie van het bloedserum op het enzym en niet aan het bestaan van een antipepsine.

Zooals gezegd, vond men spoedig na de eerste waarneming van HAMMERSTEN, dat niet alleen de werking van het lebenzym, maar ook de werking van pepsine en van trypsine door bloedserum wordt geremd. Deze eerste onderzoekingen en trouwens nog vele daarna werden gedaan in een tijd, waarin men omtrent den waren zuurgraad of alcaliteitsgraad nog slechts zeer vage voorstellingen had. Men beoordeelde den zuurgraad of den alcaliteitsgraad naar de toegevoegde hoeveelheid zuur of alcali, zonder dat men inzag dat van dit zuur of alcali door de, in de vloeistoffen, waarmede men werkte, zoo dikwijls aanwezige eiwitstoffen een zeer aanzienlijk gedeelte wordt vastgelegd.

Eerst in 1909 zou door S. P. L. SÖRENSEN in deze zaken nieuw licht worden gebracht.

Aan het algeheel ontbreken van een juist inzicht in de werkelijke reactie van eiwithoudende vloeistoffen zijn zeker vele van de tegenstrijdigheden en tegengestelde meeningen toe te schrijven, die wij in de literatuur over de antiënzymen van het bloedserum aantreffen.

De eerste, die uitdrukkelijk vermeldt, dat bloedserum ook

---

[1]) SCHNAPAUF, Maly's Jahresberichte der Tierchemie, deel 19, 1888, blz. 199.

remmend werkt op de eiwitontleding door pepsine en trypsine, is geweest A. HAHN [1]).

Zooals wij zagen, kwam SCHNAPAUF in 1888 tot de opvatting, dat de remmende werking van bloedserum moet worden toegeschreven aan den schadelijken invloed van de alcalische reactie op het enzym. A. HAHN kwam nu negen jaren later tot een andere opvatting. HAHN vond, dat de werking van lebenzym, van pepsine en van trypsine, alle door bloedserum werd tegengegaan, wanneer deze enzymen gedurende 24 uren bij 37° aan de werking van bloedserum werden blootgesteld en daarna op hunne werkzaamheid werden onderzocht. Hij meent, dat deze remmende invloed van het serum, zooals die bij deze proeven aan den dag treedt, niet alleen door den schadelijken invloed van de reactie zou kunnen worden verklaard, vooral ook daarom, omdat deze schadelijke invloed van het bloedserum verloren gaat, wanneer het bloedserum eenigen tijd op 65° wordt verhit. Volgens HAHN zouden er in het serum specifieke stoffen voorkomen, die op een of andere wijze de werking van de enzymen zouden belemmeren.

Deze meening van HAHN heeft zich eigenlijk tot op het huidige oogenblik staande gehouden, zoo juist is er nog weer een mededeeling verschenen van LOUIS B. FLEXNER, JOSEPH BERKSON, HYMAN WINTERS en IRVING WOLMAN [2]), waarbij ook weer de meening gehuldigd wordt, dat in het bloedserum een antitrypsine voorkomt, waarvan de hoeveelheid ten nauwste samenhangt met de sterkte der stofwisselingprocessen. Genoemde schrijvers gaan den invloed na van toevoeging van bloedserum op de werking van pancreatine. Deze werking werd bestudeerd aan de verandering der inwendige wrijving van oplossingen van gelatine ten gevolge van de trypsinewerking. Er moet hier opgemerkt worden, dat uit hunne mededeeling niets blijkt omtrent voorzorgen, die genomen zouden zijn, om er voor te waken, dat de reactie door de toevoeging van het bloedserum niet verandert. Het is dus

---

[1]) A. HAHN, Berliner klinische Wochenschrift, 1897, blz. 499.

[2]) LOUIS B. FLEXNER, JOSEPH BERKSON, HYMAN WINTERS en IRVING WOLMAN, John Hopkins's University, Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine, deel 26, 1929, blz. 592.

te vreezen, dat zij als zoovele anderen, daar geen rekening mee hebben gehouden en dan zouden hunne proeven zonder waarde zijn, evenals ook zoovele andere. Intusschen zeggen zij, dat de waarnemingen niet kunnen bevestigen de meening van sommige onderzoekers, zooals van J. W. JOBLING en W. PETERSON [1]), waarover wij nog te spreken komen, dat het antitrypsine niets anders zou zijn dan onverzadigde vetzuren.

FLEXNER, BERKSON, WINTERS en WOLMAN onderzochten wat wij noemen den antitryptischen titer van het bloed bij gezonden en verder bij gevallen van zwangerschap en van hyperthyreoidie en zij vinden bij zwangerschap den titer vergroot en wel reeds in de eerste maanden en zelfs zoo, dat zij meenen, in de grootte van den antitryptischen titer een aanwijzing te kunnen vinden voor het al of niet bestaan van zwangerschap. En wat de hyperthyreoidie betreft, vinden zij ook een vergrooten titer. Het komt dus hierop neer, dat bij een sterker worden van de stofwisseling de titer grooter wordt.

Wij zien dus, dat deze schrijvers geheel op het standpunt van HAHN staan.

Onderzoekingen, zooals door HAHN zijn ingeleid, zijn er zeer vele gedaan, waarbij, zooals vanzelf spreekt, de werkwijze wel dikwijls eenigermate verschillend was.

Wij willen hier noemen de onderzoekingen van L. CAMUS en E. GLEY [2]) en PERIN [3]), die alle de meening van HAHN zijn toegedaan.

Toen men tot de opvatting was gekomen, dat in het bloedserum tegenstoffen tegen eiwitsplitsende enzymen aanwezig zijn, vergelijkbaar met andere tegenstoffen, lag het voor de hand, om te onderzoeken of men door inspuiting van eiwitsplitsende enzymen de hoeveelheid van de tegenstoffen in het bloedserum kon vergrooten. Een groote groep van onderzoekers heeft zich met dit vraagstuk bezig gehouden.

Reeds in 1899 deed J. MORGENROTH [4]) een zoodanig onder-

---

[1]) J. W. JOBLING en W. PETERSON, The Journal of experimental Medicine, deel 19, 1914, blz. 239, 251, 459.

[2]) L. CAMUS en E. GLEY, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 49, 1897, blz. 825.

[3]) PÉRIN, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 54, 1902, blz. 938.

[4]) J. MORGENROTH, Zentrallblatt für Bacteriologie, deel 26, 1899, blz. 349, ibidem deel 27, 1900, blz. 357.

zoek. Hij kon bij geiten door inspuiting van lebënzym de antilebwerking van het bloedserum naar zijne meening versterken en hij was dus ongetwijfeld de meening toegedaan, dat men hier met antistoffen te doen heeft.

Maar niet alleen voor deze, het allereerst door HAMMERSTEN gevonden antiënzymatische werking van het serum, maar ook voor de verdere tegenstoffen in het bloedserum voor eiwitsplitsende enzymen zijn dergelijke onderzoekingen gedaan.

In 1901 trachtte P. ACHALMÉ [1]) bij Guineesche biggetjes den antitryptischen titer van het bloedserum te versterken door bij deze dieren trypsine buiten het darmkanaal om in het lichaam te brengen. Dit zou werkelijk gelukt zijn.

In het volgende jaar vinden wij een mededeeling van HANS SACHS [2]) over dit onderwerp. Deze onderzoeker bracht bij ganzen buiten het spijsverteringskanaal om pepsine in het lichaam en deelt mede, daarna duidelijk in het bloedserum een tegenstof tegen pepsine te hebben kunnen aantoonen.

Deze onderzoekingen van SACHS zijn drie jaren later, in 1905, herhaald door EISLER [3]). Ook deze onderzoeker spoot bij ganzen pepsine in en kon daarna aantoonen, dat het bloedserum in veel sterkere mate dan te voren de werking van pepsine remt en hij meent evenals H. SACHS, dat het bloedserum rijker aan antipepsine is geworden.

In 1908 deelden G. JOCHMANN en A. KANTORAWICZ [4]) mede, dat ook zij na inspuiting van eiwitsplitsende stoffen, in het bloedserum in versterkte mate de aanwezigheid van tegen deze eiwitsplitsende stoffen gerichte stoffen konden aantoonen. Zij spoten bij dieren trypsine en leucocytenënzym in en vonden daarna in het bloedserum het gehalte aan antiënzym grooter geworden. Zij zeggen, dat door inspuiting van leucocytenënzym het bloedserum krachtiger remmend werkt tegen dit enzym, maar ook tegen trypsine.

In verband met deze waarnemingen meenen deze schrijvers ook te kunnen begrijpen, waarom bij lijders aan anae-

---

[1]) P. ACHALMÉ, Annales de l'Institut Pasteur, deel 15, 1901, blz. 737.
[2]) HANS SACHS, Fortschritte der Medizin, deel 20, 1902, blz. 425.
[3]) EISLER, Maly's Jahresberichte deel 35, 1905, blz. 892.
[4]) G. JOCHMANN en A. KANTORAWICZ, Münchener Wochenschrift, deel 55, 1908, blz. 728.

mie, sepsis, pyaemie, pneunomie en pancreasziekte het gehalte van het bloedserum aan anti-eiwitsplitsende enzymen vergroot is. Bij de genoemde ziekten toch gaan witte bloedlichaampjes op groote schaal te gronde, of worden althans eiwitsplitsende enzymen aan het bloed afgestaan, zooals men dat bv. van ziekte aan het pancreas kan verwachten.

Door KURT MEYER [1]) zijn soortgelijke onderzoekingen gedaan met eiwitsplitsend enzym, afkomstig van bacillus prodigiosus en bacillus pyocyaneus. Het eiwitsplitsend enzym van deze bacillen werd door hem verkregen door de cultuur van bacillus prodigiosus te filtreeren door een Reichelkaars en de cultuur van bacillus pyocyaneus te filtreeren door filtreerpapier. De eiwitsplitsende kracht onderzocht hij met behulp van de werkwijze van FULD en GROSS, die hierop neerkomt, dat wordt nagegaan, welk deel van een hoeveelheid opgeloste caseïne na eenigen tijd nog door azijnzuur kan worden neergeslagen en dus nog niet verteerd is.

De aldus bereide filtraten, die hij dan nog trachtte met thymol kiemvrij te houden, spoot hij bij konijnen in en onderzocht vóór en na de inspuiting de antitryptische kracht van het bloedserum, en werkelijk bleek deze bij de zoo voorbehandelde proefdieren vergroot te zijn.

Het bleek, dat de remmende werking van het bloedserum op de werking van het bacillenenzym niet versterkt werd door een langdurige inwerking van het serum op de enzymoplossing. De werking werd onderzocht bij een, door een phosphaatmengsel vastgelegde zeer zwak alcalische, bijna neutrale reactie (P_h gelijk 7,2) en KURT MEYER kon vaststellen, dat ook bij overmaat van antiënzym steeds nog werking plaats vond en dat dus, zooals hij het uitdrukt, het enzym niet vast was gebonden en verder deelt hij ook mede, dat het verschijnsel van DANYSZ zich niet voordeed.

Volgens KURT MEYER zouden deze antiënzymen tegen bacteriënënzymen streng specifiek zijn, een antiënzym tegen een bepaalde bacillenprotease remt alleen de werking van deze protease en niet die van andere en ook niet van trypsine.

Ook andere onderzoekers hadden zich reeds met het vraag-

[1]) KURT MEYER, Biochemische Zeitschrift, deel 23, 1909, blz. 1064; ibidem deel 32, 1911, blz. 276; ibidem deel 32, 1911, blz. 280.

stuk der specificiteit der antiënzymen in het bloedserum bezig gehouden. Wij bespraken boven kort de onderzoekingen van P. Achalmé, H. Sachs en Eisler; deze onderzoekers, die trypsine of pepsine inspoten bij hun proefdieren, geven ook op, dat de daardoor opgewekte tegenstoffen specifiek de werking van het ingespoten enzym remmen.

K. Landsteiner [1]) gaat zelfs zoo ver, dat hij meent pepsines van verschillende diersoorten van elkaar te kunnen onderscheiden door de, door deze pepsines opgewekte specifieke tegenstoffen.

Er zijn nog tallooze onderzoekingen over dit onderwerp gedaan, die wij hier niet alle zullen aanhalen, wij willen slechts enkele noemen en wel de volgende:

Cantacuzené [2]) en verder met Michaiesti [3]); verder Slowcow [4]). Voorts willen wij noemen het werk van Rubinstein [5]) en ten slotte dat van Gruca en Jankowska [6]). De verhandeling van deze laatste schrijvers is in het Poolsch geschreven en was dus voor mij niet toegankelijk. W. Mozolowski en H. Hilarowicz [7]) deelen mede, dat Gruca en Jankowska al naar den aard der inspuiting verschillende antipeptische werkingen van het bloedserum konden vaststellen. M. Jacoby [8]) en R. Herzog [9]) deden proeven met inspuitingen van pepsine en lebënzym en vinden, dat na inspuiting van pepsine het bloedserum zoowel de werking van pepsine als van lebënzym remt, evenals na inspuiting van lebënzym het bloedserum de werking der beide enzymen tegengaat.

Deze uitkomsten doen de schrijvers besluiten, dat pepsine en lebënzym eigenlijk dezelfde enzymen zijn, welke opvatting overigens door andere onderzoekers op andere gronden ook wel gehuldigd is.

---

[1]) K. Landsteiner, Maly's Jahresberichte, deel 35, 1905, blz. 933.
[2]) Cantacuzène, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 66, 1909, blz. 51.
[3]) Michaiesti, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 66, 1909, blz. 53.
[4]) Slowcow, Maly's Jahresberichte, deel 40, 1910, blz. 158.
[5]) Rubinstein, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 72, 1912, blz. 365.
[6]) Gruca en Jankowska, Przeglad Chirurgiczni, deel 3, 1924.
[7]) W. Mozolowski en H. Hilarowicz, Biochemische Zeitschrift, deel 164, 1925, blz. 295.
[8]) M. Jacoby, Biochemische Zeitschrift, deel 1, 1906, blz. 67; ibidem deel 2, 1907, blz. 144 en 247; ibidem deel 4, 1907, blz. 21 en blz. 472.
[9]) R. Herzog, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 60, 1909, blz. 306.

M. JACOBY [1]) deelt verder nog mede, dat in een mengsel van pepsine en antipepsine, dat geheel of nagenoeg onwerkzaam is, de werking van het pepsine te allen tijde weder te voorschijn kan worden gebracht door toevoeging van 0,1 N zoutzuur, Het schijnt dus dat daardoor de remmende werking van de tegenstof verloren gaat.

G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN [2]) zijn boven reeds ter sprake gekomen, toen medegedeeld is op welke wijze zij uit beenmerg, milt en etter bereid hebben, wat zij noemen leucocytenferment (blz. 37).

Zij bereidden uit oedeemvloeistof met behulp van alcohol een antiënzym tegen leucocytenënzym. Door mengsels te maken van leucocytenënzym en genoemd antiënzym konden zij, zooals zij dat noemen oplossingen bereiden, waarvan zij de enzymwerking nauwkeurig konden doseeren. Zooals boven reeds medegedeeld, onderzochten zij de enzymwerking met behulp van eiwitplaten, geen serumplaten, doch platen waarin als eiwit caseïne of fibrine aanwezig was.

G. JOCHMANN en A. KANTORAWICZ [3]) deden proeven met inspuitingen van trypsine en leucocytenënzym bij dieren, zooals wij boven zagen, en zagen daardoor het gehalte van het bloed aan antiënzymen toenemen. Na inspuiting van leucocytenënzym zou een tegenstof gevormd worden, die de werking van het ingespoten enzym remt, maar eveneens die van trypsine. Zij besluiten hieruit, dat de tegenstoffen tegen leucocytenënzym en trypsine dezelfde zijn. In een andere mededeeling komen G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN [4]) tot hetzelfde besluit.

Wanneer wij de uitkomsten van de verschillende onderzoekers die zich met den invloed van inspuitingen van eiwitsplitsende enzymen op het voorkomen van stoffen in het bloed, die de werking van deze enzymen remmen, hebben bezig gehouden, overzien, dan blijkt het, dat zij alle hebben

---

[1]) M. JACOBY, Biochemische Zeitschrift, deel 4, 1907, blz. 471.

[2]) G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN, Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, deel 11, 1908, blz. 449.

[3]) G. JOCHMANN en A. KANTORAWICZ, Münchener medizinische Wochenschrift, deel 55, 1908, blz. 728.

[4]) G. JOCHMANN en G. LOCKEMANN, Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, deel 11, 1908, blz. 449.

gevonden, dat na zulke inspuitingen het remmend vermogen van het bloedserum op de werking van het ingespoten eiwitsplitsende enzym, grooter is geworden.

Verder meenen zij ook nagenoeg allen, dat de door de inspuiting opgewekte antiënzymen specifiek gericht zijn tegen het ingespoten enzym. Sommige onderzoekers meenen zelfs een vergaande specificiteit gevonden te hebben, bv. zelfs zóó dat tegen pepsines van verschillende dieren verschillende antiënzymen zouden ontstaan.

Anderen meenen een minder groote specificiteit gevonden te hebben, de antistoffen tegen leucocytenënzym en tegen trypsine bv. zouden dezelfde zijn.

Hetzelfde vraagstuk naar het bestaan van antiënzymen ontmoeten wij ook in de literatuur over de vraag, hoe het komt, dat het maagslijmvlies niet zichzelf verteert.

Reeds in de achttiende eeuw heeft JOHN HUNTER deze vraag gesteld [1]). HUNTER merkt reeds op, dat levende dieren, in de maag gebracht, niet worden verteerd, zoolang het levensbeginsel behouden blijft.

Zoo zou ook het maagslijmvlies niet door het maagsap worden verteerd, zoolang in het maagslijmvlies het levensbeginsel behouden is.

Talrijke latere waarnemingen hebben bevestigd, dat de levende stof, zoolang zij leeft, noch door maagsap, noch door pancreassap wordt aangetast. Men heeft bv. bij dieren een leven darmlis in de maag gebracht en de maag weder gesloten en waargenomen, dat deze levende darmlis, ook na langen tijd niet werd aangegrepen.

Vermeldenswaard zijn ook de proeven van CLAUDIO FERMI [2]), die verschillende lagere organismen bracht in krachtig werkende trypsineoplossingen, waarin stukjes eiwit in korten tijd verteerd werden. De lagere organismen, die door geen enkele bijzondere omhulling beschut waren, maar waarvan het levende protoplasma onmiddellijk blootgesteld was aan de trypsineoplossing, ondervonden, ook op den duur niet den geringsten schadelijken invloed.

---

[1]) JOHN HUNTER, Philosophical Transactions. On the digestion of the stomach after death.

[2]) CLAUDIO FERMI, Maly's Jahresberichte, deel 4, 1911, blz. 271.

Ter verklaring van dezen merkwaardigen weerstand van de levende stof tegen de werking der eiwitsplitsende enzymen heeft men verschillende veronderstellingen geuit. Wat den weerstand tegenover maagsap betreft, heeft men aan de min of meer alcalische reactie van het bloed groote beteekenis toegeschreven. Evenwel kan de weerstand van de levende stof toch zeker niet geheel op deze wijze worden verklaard, want de reactie van de levende stof, die even goed tegen de werking van trypsine weerstand biedt, is naar alle waarschijnlijkheid niet zoodanig, dat daarbij trypsine niet eiwitsplitsend zou werken.

De meening van F. KLUG [1]), dat het maagslijm het maagslijmvlies zou beschutten tegen de werking van het maagsap, evenals de meening van HAMBURGER [2]) die aanneemt dat het enzym zou worden „abgelenkt" door de eiwitstoffen van het bloedserum, kunnen wij wel met stilzwijgen voorbijgaan, daar op deze wijze zeker geen voldoende verklaring kan worden gevonden.

Men heeft ook wel gemeend, dat de levende cellen tegen de werking van eiwitsplitsende enzymen zouden worden beschut door een laagje van lipoïdestoffen, dat zich aan de oppervlakte van de cellen zou bevinden, maar ook deze wijze van verklaren schijnt wel niet toereikend, daar men immers nauwelijks kan aannemen, dat de geheele oppervlakte van de cel voortdurend zou bestaan uit stoffen, die door de eiwitsplitsende enzymen niet worden aangetast.

Vele onderzoekers hebben ook weer hier de antiënzymen te hulp geroepen. De eerste, die een antipepsine in de maagwand meende gevonden te hebben, was A. DANILEWSKY [3]), dit antipepsine zou den maagwand tegen zelfvertering beschutten.

A. WEINLAND [4]) kon een antipepsine bereiden uit fijngewreven spoelwormen door uittrekken met een phosphaatoplossing, later ook uit maag- en darmslijmvlies. Op grond van zijne uitkomsten komt hij ook tot het opstellen over

---

[1]) F. KLUG, Maly's Jahresberichte, deel 37, 1907, blz. 411.
[2]) HAMBURGER, Maly's Jahresberichte, deel 41, 1911, blz. 268.
[3]) A. DANILEWSKY, Maly's Jahresberichte, deel 33, 1901, blz. 556.
[4]) A. WEINLAND, Zeitschrift für Biologie, deel 44, 1902, blz. 1 en 45.

een theorie over het ontstaan van maag- en darmzweren.

De zooeven genoemde F. KLUG toont echter aan, dat fijngesneden spoelwormen door pepsine-zoutzuur wel degelijk worden opgelost, en dat dus hier van een antipepsine moeilijk kan worden gesproken en natuurlijk brengt hij zijn maagslijmtheorie weder naar voren.

In 1905 meent C. SCHWARZ[1]) in onwerkzaam gemaakte pepsinepreparaten een antipepsine gevonden te hebben, dat de werking van pepsine tegengaat.

Sommige onderzoekers meenen zelfs in het maagsap zelf een antipepsine te moeten aannemen. E. NIERENSTEIN en SCHIFF [2]) en verder BLUM en FULD [3]) namen waar, dat maagsap bij verdunning krachtiger gaat werken, dan men uit de verdunning alleen zou verwachten. Zij meenen, dat in het maagsap een antipepsine voorkomt, waarvan de remmende werking bij de verdunning aanmerkelijk meer achteruitgaat, dan alleen uit de verdunning zou volgen.

Ook A. KATZENSTEIN [4]) neemt het bestaan van een antipepsine aan en hij meent, dat dit antipepsine vooral voorhanden is in het slijmvlies van maag en duodenum. Deze meening grondt hij daarop, dat volgens zijne onderzoekingen van allerlei organen, die hij langs heelkundigen weg in levenden toestand in de maag bracht, de maag en het duodenum het meeste weerstand bleken te bieden aan de werking van het maagsap. Ook met kunstmatig maagsap kon deze groote weerstand van maag en duodenum worden aangetoond.

Ook KATZENSTEIN komt tot het opstellen van een theorie over het ontstaan van den maagzweer, daarbij zou het evenwicht tusschen pepsine en antipepsine gestoord zijn en door toediening van antipepsine kan men het evenwicht herstellen en de maagzweer tot genezing brengen.

De waarnemingen van KATZENSTEIN meent KATHE [5]) te kunnen bevestigen, KAWAMURA [6]) daarentegen kon in het ge-

---

[1]) C. SCHWARZ, Hofmeisters Beiträge, deel 6, 1905, blz. 527.
[2]) E. NIERENSTEIN en SCHIFF, Archiv für Verdauerungskrankheit, deel 8, 1903, blz. 559.
[3]) BLUM en FULD, Zeitschrift für klinische Medizin, deel 58, 1906, blz. 505.
[4]) A. KATZENSTEIN, Berliner klinische Wochenschrift, deel 45, 1908, blz. 1149.
[5]) KATHE, Berliner klinische Wochenschrift, deel 45, 1908, blz. 2135.
[6]) KAWAMURA, Mitteilungen aus den Grenzgebieten, deel 26, 1913, blz. 379.

heel geen bijzondere weerstandskracht bij het maagslijmvlies tegenover kunstmatig maagsap vaststellen.

Vermelden wij hier nog, dat FIORI [1]) de vertering van in de maag genaaide organen, zooals die soms plaats vindt, toeschrijft aan gebrekkige toevoer van bloed in die organen, waardoor ook de verzorging met antipepsine lijdt.

Een aantal onderzoekers, wij willen hier de volgende noemen: V. LIEBLEIN [2]), GIRAULT en RUBINSTEIN [3]), ABBO [4]), KOHLER [5]), onderzochten bij lijders aan maagzweer, het gehalte van het bloedserum aan antipepsine en gingen na of dit wellicht kleiner zou zijn dan bij gezonden.

Het onderzoek werd op deze wijze gedaan, dat bv. maagsap na proefontbijt verkregen, in een reeks buisjes vermengd werd met toenemende hoeveelheden bloedserum en de werking op door karmijn gekleurde fibrine dan werd onderzocht. Anderen namen in plaats van maagsap ook wel kunstmatig maagsap.

Behalve H. KOHLER en ook ABBO komen de genoemde onderzoekers tot wisselende uitkomsten, zij vinden bij de lijders aan maagzweer nu eens het gehalte van het bloedserum aan antipepsine kleiner, dan normaal, dan weer niet en soms zelfs grooter.

ABBO vindt bij lijders aan maagzweer steeds in het bloedserum minder antipepsine dan bij gezonden en evenzoo komt H. KOHLER steeds tot deze zelfde uitkomsten. KOHLER geeft naar aanleiding van deze uitkomsten nog beschouwingen ten beste. Hij komt zelfs tot het opstellen van een theorie over het ontstaan van het antipepsine. Om dit ontstaan van antipepsine nader te onderzoeken, bracht hij pepsine met bloedserum tesamen en liet het mengsels eenige uren bij 37° staan. Het bleek hem dan, dat na deze behandeling het bloedserum krachtiger dan te voren de werking van pepsine remde, dat het serum dus volgens hem rijker aan antipepsine was geworden. Nu meent KOHLER, dat deze proef een duidelijk beeld

---

[1]) FIORI, Zentrallblatt für Chirurgie, 1911.

[2]) LIEBLEIN, Mitteilungen aus den Grenzgebieten, deel 25, 1912, blz. 391.

[3]) GIRAULT en RUBINSTEIN, Comptes rendus de la Sociétté de Biologie, deel 73, 1912, blz. 205.

[4]) ABBO, Maly's Jahresberichte deel 44, blz. 26.

[5]) H. KOHLER, Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin, deel 37, 1923.

geeft omtrent het ontstaan van antipepsine in het lichaam, in het maagslijmvlies zou door het pepsine in het bloed antipepsine worden gevormd.

Van klinische zijde hebben deze proeven en beschouwingen van KOHLER begrijpelijkerwijze groote aandacht getrokken. Echter zijn zij juist van klinische zijde niet bevestigd kunnen worden, zoo kon bv. ORATOR [1]) de uitkomsten van KOHLER bij zijn onderzoek bij lijders aan maagzweer geenszins bevestigen.

H. KOHLER wijst er in zijn mededeelingen op, dat het om betrouwbare uitkomsten te verkrijgen, volstrekt noodzakelijk is, om bij het onderzoek naar het antipepsinegehalte van het bloedserum het natuurlijke maagsap van den te onderzoeken persoon zelf te gebruiken, zooals dat na een proefontbijt kan worden verkregen.

De wisselende uitkomsten van andere onderzoekers schrijft hij daaraan toe, dat zij met dezen eisch geen rekening houden.

Het is misschien wel de moeite waard, even te vermelden op welke wijze KOHLER het onderzoek deed. Deze wijze van onderzoek is namelijk zeer merkwaardig. Het maagsap werd door hem verdund met 2 volumina water, van dezen aldus verdunden maaginhoud werden telkens 2 ccm vermengd met toenemende hoeveelheden bloedserum van denzelfden persoon, hetwelk met 3 volumina water verdund was. Deze mengsels laat hij een half uur broeden in de broedstoof bij 37°. Dan brengt hij er gekleurde fibrine bij en onderzoekt dan verder eenigszins volgens de wijze van GRÜTZNER de oplossing van de fibrine door de kleursterkte van de oplossing te meten. Deze wijze van werken is daarom zoo merkwaardig, omdat daarbij niet in het minst gelet wordt op de reactie, die de vloeistof bezit en die natuurlijk, naarmate meer serum wordt toegevoegd, hoe langer hoe minder zuur wordt. Het is dus geenszins verwonderlijk, dat hier een remming van de pepsinewerking wordt gevonden. Wanneer nu KOHLER bij zijn lijders aan maagzweer een geringere remming vindt door het bloedserum, is deze naar mijne meening veel eerder aan

---

[1]) ORATOR, Archiv für klinische Chirurgie, deel 134, 1925.

een mindere alcaliteit van het bloedserum of aan een geringer eiwitgehalte van dit toe te schrijven dan aan een minder gehalte van antipepsine.

Deze proefnemingen van KOHLER hebben naar mijne meening zeer weinig of geen waarde en de uitkomsten werden overigens van klinische zijde, zooals boven medegedeeld, dan ook geenszins bevestigd.

Wij willen hier nog verwijzen naar het belangwekkende proefschrift van J. K. W. KEHRER, bewerkt onder Professor H. J. LAMÉRIS te Utrecht, in welk proefschrift een overzicht wordt gegeven van de verschillende theorieën, die tot 1913 waren opgesteld omtrent het ontstaan van maagzweren, en de in 1926 verschenen experimenteele studie van Dr. J. R. F. RASSERS, conservator aan het bacteriologisch-hygienisch Laboratorium van de Rijks-universiteit te Leiden, Directeur Prof. R. P. VAN CALCAR, „Die Pathogenese des chronischen Magendarmgeschwürs".

Wanneer wij de talrijke onderzoekingen, die sinds de eerste waarnemingen van JOHN HUNTER zijn gedaan, overzien, dan moeten wij wel tot het besluit komen, dat het bestaan van een antipepsine tot dusver allerminst is aangetoond en dat bij de proeven, waarbij een remmende werking op de vertering door pepsine door bv. bloedserum werd gevonden, nimmer er voor gezorgd is, dat de werkelijke reactie van de vloeistof standvastig werd gehouden. Het is intusschen niet te ontkennen, dat de levende stof door maagsap niet wordt aangetast, zoolang zij leeft. Wordt deze levende stof echter door het verdunde zoutzuur, zooals dat in maagsap voorkomt, gedood, dan valt zij in maagsap aan vertering ten prooi. Maar lang niet alle levende stof wordt door dit verdunde zoutzuur gedood en waarom biedt dan deze levende stof weerstand tegen de werking van pepsine? Laten wij hierbij toch niet uit het oog verliezen, dat wij omtrent den bouw van de levende stof nog niets weten en dat, wanneer wij uit de levende stof na afsterven eiwitstoffen kunnen verkrijgen, die door maagsap worden verteerd, dit nog geenszins wil zeggen, dat in de oorspronkelijke levende stof die eiwitstoffen als zoodanig en in voor maagsap aantastbaren toestand aanwezig zijn.

Wij kunnen dus met CLAUDIO FERMI, die zooals wij boven zagen merkwaardige proefnemingen deed met lagere organismen in trypsineoplossing en met O. FÜRTH zeggen, „die einfache Antwort, warum die lebende Zelle nicht angegriffen wird, lautet also: „Weil sie eben lebt" ".

Wij zeiden daareven, dat het bestaan van een antipepsine tot dusver allerminst bewezen, is, wij zouden evenwel ook niet durven zeggen, dat bewezen is, dat antipepsine niet bestaat en nog veel minder zouden wij durven zeggen, dat uit de tot dusver gedane onderzoekingen met volstrekte zekerheid zou kunnen worden afgeleid, dat in het algemeen antiënzymen niet bestaan, d.w.z. antiënzymen in den eigenlijken zin des woords, dus van echte tegenstoffen tegen de enzymen, die dus de antiënzymen op een of andere wijze zouden ontbinden, of in alle geval onwerkzaam maken. Het vraagstuk is uiterst moeilijk, daar wij immers omtrent den aard der enzymen zelf nog zoo weinig weten, ja door sommige onderzoekers zelfs het bestaan van enzymen als een zeer bijzondere klasse van stoffen met zeer bijzondere werkzaamheid wordt ontkend.

Laten wij eens nagaan, wat tot dusver over den aard der zgn. antiënzymen bekend is geworden.

Bij zijn eerste waarnemingen omtrent de remmende werking van bloedserum op de stolling van melk door lebënzym, bespreekt OLOF HAMMARSTEN het wezen van deze remmende werking (1887). Hij meent, dat deze remmende werking tweeërlei oorzaken heeft, in de eerste plaats zou het serum een echt antiënzym bevatten, maar daarnevens, zouden in het serum stoffen voorkomen, zooals de eiwitstoffen, die de werking van het enzym remmen, op dezelfde wijze, als bv. de werking van enzymen door koolpoeder in veel gevallen wordt tegengegaan. Daarbij heeft men dan wel met adsorpties te doen van het enzym, waardoor de werkzaamheid word belemmerd. Omtrent den aard van het eigenlijke antiënzym laat HAMMARSTEN zich niet uit.

Deze meening van HAMMARSTEN houdt verband met de uitgebreide proefnemingen van S. G. HEDIN [1]), die aantoon-

[1]) S. G. HEDIN, Biochemical Journal, deel 1, 1906. Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 60, 1909, blz. 85 en 364; ibidem deel 63, 1909, blz. 143.

de, dat koolpoeder de werking van leb op melk en evenzoo van trypsine op caseïne remt en dat deze remming vooral dan sterk is, wanneer de enzymoplossing te voren met het koolpoeder tesamen wordt gebracht. HEDIN noemt dit met een zeer deftig woord het „Reihenfolgephänomen". HEDIN komt dan ook tot het besluit, dat de remmende werking van het bloedserum uitsluitend en alleen te danken zou zijn aan zoodanige adsorpties aan de colloïdale bestanddeelen van het bloedserum.

HEDIN kon in overeenstemming met deze opvatting aantoonen, dat een oplossing van serumalbumine en eveneens van kippeneiwit even zoo goed remt als bloedserum.

HEDIN vermeldt echter verder, dat door toevoeging van een weinig zoutzuur de remmende werking van het bloedserum op de lebwerking kan worden opgeheven en reeds door serum- of kippeneiwit onwerkzaam geworden lebënzym zou door toevoeging van een weinig zoutzuur weder vrijkomen en werkzaam worden. Deze opgaven van HEDIN doen ons wel weer zeer sterk vermoeden, dat ook hem het in het geheel niet letten op de ware reactie van zijn vloeistoffen parten heeft gespeeld. Het lebënzym werkt het best bij zwakzure reactie, toevoeging van bloedserum of van kippeneiwit maakt ongetwijfeld ook hier de reactie ongunstiger en het is moeilijk na te gaan, wat hier den grootsten invloed heeft gehad, deze ongunstige verschuiving van de reactie of de adsorptie van het enzym door de eiwitstoffen, welke adsorptie misschien dan weer door zoutzuur zou worden tegengegaan.

Boven spraken wij reeds met een enkel woord over een geheel andere opvatting omtrent den aard van de antiënzymen (blz. 60, Hoofdstuk II). Het waren J. W. JOBLING en W. PETERSON [1]), die het eerst de veronderstelling uitspraken, dat het antitrypsine niets anders zou zijn, dan onverzadigde vetzuren. Zij vonden nl., dat de remmende werking van bloedserum op de vertering door trypsine door uittrekken met aether verloren gaat. Verder stelden zij vast, dat de werking van trypsine door toevoeging van natriumoleaat evengoed geremd werd als door toevoeging van bloedserum. Zij brach-

[1]) J. W. JOBLING en W. PETERSON, The Journal of experimental Medecine, deel 19, 1914, blz. 239; 251 en 459.

ten nl. trypsine en natriumoleaat gedurende een half uur op 37° en het bleek, dat daarna de werking op caseïne, die gemeten werd aan de reststikstofvorming, geringer was, dan wanneer het trypsine niet met natriumoleaat was behandeld.

De bewijskracht van deze laatste onderzoekingen van JOBLING en PETERSON wordt door M. SEREJSKI [1]) en ook door M. SCHIERGE [2]) bestreden. Deze bestrijding grondt zich daarop, dat deze onderzoekers vaststelden, dat bij aanwezigheid van het natriumoleaat bij het onteiwitten meer stikstof wordt neergeslagen, dan wanneer deze zeep niet aanwezig is. Men vindt dus, wanneer men natriumoleaat heeft toegevoegd, minder „reststikstof" en uit dit vinden van minder reststikstof zouden dus JOBLING en PETERSON verkeerdelijk tot een minder krachtige eiwitsplitsing hebben besloten, dus tot een remming van de trypsinewerking.

Intusschen blijft het feit toch maar bestaan, dat bloedserum door het schudden met aether van zijn antitryptisch vermogen beroofd wordt. En het is ook op grond daarvan, dat O. SCHWARZ, J. BAUER en NOËL TRESSINGER vasthouden aan de opvatting, dat het de lipoïdestoffen van het bloedserum zijn, die de werking van trypsine zouden remmen.

Intusschen deed W. A. BOEKELMAN [3]) in 1911 reeds mededeelingen omtrent proeven, door hem genomen, waaruit zou volgen, dat deze lipoïden-theorie van het antitrypsine niet juist kan zijn. BOEKELMAN behandelde verdund serum met aether, het aether-uittreksel bleek echter geen stof te bevatten met antitryptische werking. Daar evenwel het oorspronkelijke bloedserum na deze behandeling met aether van het antitryptisch vermogen geheel beroofd is, is dus de antitryptische stof verloren gegaan, wellicht vernield door den aether. Om dit na te gaan, schudde BOEKELMAN bloedserum met aether en liet na deze behandeling den aether weer verdampen. De door den aether uitgetrokken stoffen werden dus niet verwijderd, maar konden na het verdampen van den

---

[1]) M. SEREJSKI, Biochemische Zeitschrift, deel 169, 1926, blz. 249.
[2]) M. SCHIERGE, Zeitschrift für experimentelle Medizin, deel 32, 1923, blz. 142.
[3]) W. A. BOEKELMAN, Verhandelingen van het 13de Nederlandsch Natuurkundig en Geneeskundig Congres in Groningen, 1911.

aether zich weer met het serum vermengen. Het bleek W. A. Boekelman dat ook in dit geval het antitryptisch vermogen was verloren gegaan. Dat Jobling en Peterson waarnamen, dat na uitschudden van het bloedserum met aether het antitryptisch vermogen van dit serum verloren is gegaan, bewijst dus, zoo zegt Boekelman geenszins, dat het antitrypsine van lipoïdeaard is. De aether heeft het antitrypsine vernietigd of althans van zijn werkzaamheid beroofd. Boekelman komt dan ook weer terug op de opvatting, dat er werkelijk een antiënzym bestaat, voor welke meening nog zou pleiten, dat het antitryptisch vermogen van bloedserum bij verwarming ming tot bv. 70° verloren gaat.

Trouwens ook T. Teale en E. Bach [1]) stelden vast, dat verwijdering van alle lipoïdestoffen uit het bloedserum het antitryptisch vermogen hiervan niet doet verloren gaan, wanneer men slechts zorgt, dat de eiwitstoffen van het bloedserum niet in oplosbaarheid veranderen.

Zijn de meeningen van Teale en Bach dus in overeenstemming met de opvatting van Boekelman, in strijd daarmede is de meening van E. Rosenthal. Rosenthal meent, dat de antitryptische werking van het bloedserum te wijten is aan het daarin voorkomen van ontledingsproducten van eiwit. Bij de werking van een eiwitsplitsend enzym op eiwit moeten ontledingsproducten van eiwit een remmende werking bezitten, evenals bij elke chemische reactie de gevormde ontledingsproducten den voortgang der reactie hoe langer hoe meer belemmeren. Verder zegt Rosenthal, dat het antitrypsine door verwarming niet van zijn werkzaamheid beroofd wordt, waartegen Boekelman opmerkt, dat als Rosenthal slechts voldoende verwarmd had en in plaats van op 65° op 70° had verhit, de antitryptische kracht wel degelijk verloren zou zijn gegaan. Verder vindt Rosenthal, dat het zgn. antitrypsine dialyseert, door dialyse verliest bloedserum het antitryptisch vermogen.

Boekelman moet dit toegeven, althans wanneer men het bloedserum dialyseert tegen stroomend water. Toch vindt

---

[1]) T. Teale en E. Bach, Berichte über die gesammte Physiologie und experimentelle Pharmacologie, deel 3, 1921, blz. 321.

hij alles bijeen genomen het waarschijnlijkst, dat in bloedserum een werkelijk antitrypsine voorkomt.

In overeenstemming met de opvatting van het bestaan van een antitrypsine zouden de waarnemingen van RONDONI [1]), die door BOEKELMAN konden worden bevestigd, zijn.

RONDONI nam namelijk waar, dat voor de werking van trypsine en antitrypsine de regel van DANYSZ—DUNGERN geldt, welke regel ook geldt bij toxine anti-toxine mengsels. Juist zooals men bij laatstgenoemde stoffen dat heeft gevonden, nam RONDONI ook waar, dat wanneer men bij een hoeveelheid bloedserum, waarin dus het antitrypsine aanwezig is een bepaalde hoeveelheid trypsine bij gedeelten toevoegt in plaats van in eens, een kleinere hoeveelheid trypsine de antitryptische werking kan wegnemen, in plaats van bij toevoeging in eens.

RONDONI maakt er voorts opmerkzaam op, dat de binding van trypsine en antitrypsine een losse is. Door geringe hoeveelheden natronloog op zoutzuur zou de verbinding los gemaakt kunnen worden, evenzoo als dat met de verbinding toxine-antipepsine het geval is.

BOEKELMAN vindt voorts antitrypsine, niet alleen in bloedserum, maar ook naar zijne meening, hoewel dan in mindere mate, in trans- en exsudaten, alsmede in de urine. Vooral in eiwithoudende urine zou antitrypsine voorkomen, maar BOEKELMAN wijst er op,dat urine zeer wisselende gehalten aan eiwit en zout kan hebben, en dat men hier met de beoordeeling voorzichtig moet zijn.

Wij zouden hier nog talrijke onderzoekers kunnen noemen, die op grond van verschillende waarnemingen meenen, dat het bloedserum werkelijk ware antiënzymen bevat. Zoo wijzen verschillenden er op, dat deze antiënzymen thermolabiel zijn, dat wil dus zeggen, dat zij bij min of meer hooge temperatuur hun werkzaamheid verliezen.

BOEKELMAN geeft op, dat bij 70° antitrypsine onwerkzaam wordt gemaakt, anderen vinden lagere temperaturen, zooals PURGESZ, die 56° opgeeft en COBLINER, die 65° vond. KURT MEYER daarentegen vindt weer een hoogere temperatuur,

---

[1]) P. RONDONI, Berliner klinische Wochenschrift, deel 12, 1910, blz. 528.

nl. 100°. Wanneer er werkelijk antiënzymen zijn, stoffen van organischen aard, dan is het te verwachten, dat de temperatuur, waarbij zij onwerkzaam worden gemaakt, zeer afhankelijk is van omstandigheden en wel in de eerste plaats van de reactie van de oplossing en voorts van aanwezigheid van organische en anorganische stoffen. De zoo sterk uiteenloopende temperaturen, zooals die door de verschillende onderzoekers worden opgegeven, behoeven ons dus niet zoo te bevreemden, aangezien die onderzoekers op die omstandigheden weinig hebben gelet.

Het denkbeeld, dat de remmende werking van het bloedserum op de eiwitsplitsende kracht van pepsine en trypsine werkelijk te danken is aan echte tegenstoffen, antiënzymen, is nog geenszins verlaten. Nog in den allerlaatsten tijd, in 1928, bereikt ons een uitvoerige mededeeling van Russische zijde, waarin nog weer geheel de meening wordt gehuldigd, dat men hier met echte antiënzymen te doen heeft. Het is L. Utkin—Ljubowzow [1]), die uitgebreide onderzoekingen deed en die meent, dat in het bloedserum echt antitrypsine voorkomt, hetwelk bij de albuminefractie zou behooren. Overigens zegt zij, dat de antitryptische werking van het bloedserum ten deele ook te danken is aan ,,hoog disperse eiwitstoffen".

Zij doet zelfs pogingen, om het antitrypsine uit de albuminefractie van het bloedserum af te zonderen. Zij doet dit door aan de albumineoplossing colloïdaal ijzerhydroxyde toe te voegen, waardoor een neerslag ontstaat en uit dit neerslag, dat het antitrypsine zou bevatten, wordt dit het best door soda los gemaakt. De remmende werking van het aldus verkregen preparaat wordt dan onderzocht en den invloed, dien het uitoefent op de splitsing van caseïne door trypsine, gemeten aan de gevormde hoeveelheid reststikstof.

Op grond van haar uitkomsten komt zij dan ook tot de volgende samenvatting:

In de eerste plaats meent zij, dat het antitrypsine van anderen aard is dan de eiwitstoffen van het bloedserum, dat het met de bekende eiwitstoffen niet overeenkomt. Het gelukte

---

[1]) L. Utkin-Ljubowzow, Biochemische Zeitschrift, deel 194, 1928, blz. 292.

namelijk, antitrypsine-oplossingen te bereiden met krachtige werking en die toch slechts zeer weinig stikstof bevatten.

In de tweede plaats meent zij dan ook, dat haar uitkomsten in het geheel geen steun geven aan de opvatting, dat de antitryptische werking zou kunnen worden verklaard door een invloed van de colloïdale stoffen van het bloedserum, of zou kunnen worden verklaard, zooals men dat dan wel noemt, langs physisch-chemischen weg.

Intusschen, al zijn er dan dus aan den eenen kant nog altijd onderzoekers, die aan het bestaan van echte antiënzymen, in zonderheid aan het bestaan van antitrypsine vasthouden, aan den anderen kant zijn er vele, en misschien nog meer, die den remmenden invloed van het bloedserum op andere wijze trachten te verklaren.

Boven hebben wij reeds gezien, dat de zgn. thermolabiliteit van de antiënzymen door sommigen ontkend wordt, zooals bv. door E. ROSENTHAL.

Sommige onderzoekers geven min of meer vage en weinig zeggende „physisch-chemische verklaringen" van dit verschijnsel.

Zoo zegt b.v. LINOSSIER [1]): „Il semble qu'on doive considérer l'action antipeptique du sérum normal, comme une action banale résultant de la réaction mutuelle des colloides du sérum et du liquide digestif."

Van veel meer beteekenis zijn de opvattingen, dat de remmende werking van het bloedserum op de eiwitsplitsing door eiwitsplitsende enzymen zou berusten op adsorptie van het eiwitsplitsend enzym aan de eiwitstoffen van het bloedserum, aan een „Ablenkung" van het enzym. En verder de opvatting dat deze remmende werking geheel of grootendeels te danken is aan de verandering van de reactie door de toevoeging van het bloedserum. Zooals wij boven reeds zeiden, is merkwaardigerwijze bij verreweg de meeste onderzoekingen op dit gebied aan dezen invloed van het bloedserum niet de minste aandacht geschonken.

Vooral wat den remmenden invloed van het bloedserum op de werking van pepsine betreft, moet men wel zeer bedacht

---

[1]) LINOSSIER, Comptes rendus de la Société de Biologie, deel 81, 1918, blz. 422.

zijn op dezen invloed van het bloedserum op de reactie van de oplossing. Immers, pepsine werkt slechts krachtig bij vrij sterk zure reactie en deze vrij sterk zure reactie kan door een kleine hoeveelheid bloedserum met zijn door het groote eiwitgehalte en niet onaanzienlijke hoeveelheid natriumbicarbonaat zoo aanzienlijk zuurbindend vermogen, al zeer gemakkelijk zoodanig veranderd worden, dat pepsine weinig of niet meer werkt.

Zoo meenen dan ook SERAFINO DEZANI [1]) en eveneens W. MOZOLOWSKI en H. HILAROWICZ [2]) de remmende werking van het bloedserum op de eiwitsplitsing door pepsine uitsluitend en alleen op rekening te moeten stellen van den invloed van het bloedserum op de reactie van de vloeistof.

Wanneer men deze verhandelingen leest, vooral die van W. MOZOLOWSKI en H. HILAROWICZ, dan krijgt men wel den indruk, dat het werkelijk waarschijnlijk is, dat althans de antipepsinewerking van het bloedserum in den waren zin des woords niet bestaat en dat, wanneer men slechts de reactie van de vloeistof standvastig houdt, bloedserum de werking van pepsine weinig of niet remt.

Of het nu met de antitrypsinewerking van het bloedserum evenzoo gesteld is, zouden wij niet durven zeggen. Trypsine werkt bij geheel andere reactie dan pepsine, de meeste onderzoekingen zijn bij min of meer duidelijke alcalische reactie verricht. Het is mogelijk, dat bij deze reactie's adsorptie's van het trypsine aan de eiwitstoffen van het bloedserum en een daarmede gepaard gaande min of meer duidelijke inactiveering van het enzym, in sterkere mate plaats vinden dan adsorptie van pepsine aan eiwitstoffen bij de sterk zure reactie, waarbij dit enzym werkt.

Zoo zou het mogelijk kunnen zijn, dat men ook als men op de reactie van de vloeistof let en deze standvastig houdt, men in het bloedserum toch een duidelijke antitryptische werking zou vinden, zonder dat van een echt antitrypsine sprake zou behoeven te zijn.

Zooals wij boven uiteengezet hebben, hebben zoo ongeveer

---

[1]) SERAFINO DEZANI, Archivio di farmacologia sperimentale, deel 22, 1916, blz. 287.
[2]) W. MOZOLOWSKI en H. HILAROWICZ, Biochemische Zeitschrift, deel 164, 1925, blz. 295.

alle onderzoekers, die pepsine inspoten, daarna het antitryptisch vermogen van het bloedserum versterkt gevonden. Mogen wij hier uit besluiten, dat men werkelijk met een echt antiënzym te doen heeft? Onmogelijk is het niet, immers door velen wordt trypsine voor een eiwitstof gehouden en waarom zou deze eiwitstof niet evengoed als andere antigene eigenschappen bezitten? Aan den anderen kant moeten wij niet uit het oog verliezen, dat wanneer wij trypsine inspuiten, zooals wij dat uit pancreas als pancreassap kunnen bereiden wij zeker nooit zuiver trypsine inspuiten, maar een mengsel van waarschijnlijk verschillende eiwitstoffen. Inspuiting van zulk een mengsel heeft zeker ingrijpende gevolgen wat betreft de samenstelling van het bloedplasma en ook wat betreft den „colloïd-chemischen toestand" van het bloedplasma. Hiermede kunnen gepaard gaan veranderingen in het antitryptisch vermogen van het bloedplasma, ook al zou er geen echt antitrypsine bestaan. In alle geval moeten wij P. Morawicz wel gelijk geven [1]), wanneer hij zegt, „dat de antitryptische werking van het bloedserum niet op eenvoudige wijze te verklaren is"!

Besluiten wij dit overzicht van het antitrypsine vraagstuk, welk overzicht ik allerminst als volledig wil beschouwen, met enkele opmerkingen omtrent het voorkomen van antiënzymen, als wij dezen naam dan tenminste mogen gebruiken, bij zieken.

Boven zagen wij reeds, dat sommige onderzoekers meenen gevonden te hebben, dat het antipeptisch vermogen van het bloedserum bij lijders aan maagzweer kleiner is dan bij gezonden. Anderen vonden dit evenwel niet en dus is het wel zeer twijfelachtig, of dit inderdaad het geval is, te meer, daar het, zooals wij zagen, zoo twijfelachtig is, ja zelfs onwaarschijnlijk, dat er van een echt antipeptisch vermogen van bloedserum mag worden gesproken.

Anders is het misschien gesteld met het antitryptisch vermogen van het bloed van zieken. Wij vinden hieromtrent een aantal opgaven in de literatuur.

Vele onderzoekers vonden bij lijders aan kanker het anti-

[1]) P. Morawicz, Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere von Karl Oppenheimer, deel 2.

tryptisch vermogen van het bloedserum grooter dan bij gezonden. BOEKELMAN maakte er echter opmerkzaam op, dat een dergelijk vergroot antitryptisch vermogen van het bloedserum geenszins specifiek is voor kanker, maar ook gevonden wordt bij lijders aan tuberculose, aan sepsis, aan morbus Basedowi, aan longontsteking, aan typhus, aan dysenterie en aan nierziekte.

Op een vraag van R. DE JOSSELIN DE JONG op het XIIIe Nederlandsche Natuurkundig- en Geneeskundig Congres te Groningen in 1911, of het bepalen van de antitryptische waarde van het bloedserum belang heeft voor het stellen van de diagnose van carcinoom, antwoordde BOEKELMAN dan ook, dat het onderzoek naar het antitryptisch vermogen van het bloedserum in deze gevallen wellicht waarde heeft in negatieven zin, dat wil dus zeggen, dat als het antitryptisch vermogen van het bloedserum niet vergroot wordt gevonden, dit wellicht zou pleiten tegen de diagnose carcinoom.

Volgens COBLINER, FÜRSTENBERG en TREBING zou het antitryptisch vermogen van het bloedserum bij lijders aan luës kleiner zijn dan bij gezonden. GRÄFENBERG geeft op, dat hij bij zwangerschap het antitryptisch vermogen van het bloedserum grooter vond dan buiten de zwangerschap en hij schrijft dit toe aan het overgaan in het bloed van het eiwitsplitsend enzym uit de chorionvlokken.

Wij zullen hiermede de bespreking van het antitrypsinevraagstuk besluiten. Wat nu ook de aard van den remmenden invloed van het bloedserum op de werking van eiwitsplitsende enzymen is, zeker is het, dat men met dezen remmenden invloed bij het onderzoek naar het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in het bloed rekening moet houden.

R. STEPHAN en ERNA WOHL [1]) trachtten in het mengsel van trypsine, bloedserum en fibrine door verwarming, alleen de remmende stof in het bloedserum onwerkzaam te maken, waarin zij echter niet slaagden, daar daarbij tevens het eiwitsplitsend enzym zelf vernield bleek te worden.

Een wijze van werken, waarbij alleen het zgn. antiënzym zou worden vernield, zonder dat het eiwitsplitsend enzym

[1]) R. STEPHAN en ERNA WOHL, Zeitschrift für die gesammte experimentelle Medizin, deel 24, blz. 391.

zelf beschadigd wordt, is niet zoo gemakkelijk te vinden. De schrijvers deelen mede, dat zij tal van bloedsera, die zonder meer geen eiwitsplitsende werking tegenover fibrine schenen te bezitten, werkzaam konden maken door behandeling van de bloedsera met chloroform. Door deze behandeling met chloroform wordt de remmende invloed van het bloedserum verminderd of opgeheven. De oorzaak hiervan zou kunnen zijn, dat het antiënzym vernield wordt, terwijl het eiwitsplitsend enzym zelf zijne werkzaamheid nog behoudt. De schrijvers spreken echter van een verandering in den physisch-chemischen toestand van het bloedserum, waardoor deze remmende werking zou worden weggenomen. Hoe de verklaring ook zij, zeker is het, dat de eiwitsplitsende werking van tal van bloedsera pas na deze behandeling met chloroform aan den dag treedt en ook wij hebben bij onze onderzoekingen van dit middel steeds gebruik gemaakt. Wij gaan nu over tot de beschrijving van onze eigen onderzoekingen.

HOOFDSTUK III

EIGEN ONDERZOEKINGEN

a. BESPREKING VAN DE GEVOLGDE WERKWIJZEN

Bij het onderzoek naar het voorkomen van eiwitsplitsende enzymen in het bloed heeft men verschillende substraten gebruikt, in de eerste plaats het eiwit van het bloedserum zelf, in de tweede plaats andere eiwitstoffen, zooals caseïne, serumplaten, fibrine en voorts peptones en peptides.

Wanneer men met onoplosbaar eiwit werkt, zooals met fibrine, is aanwezigheid van eiwitsplitsend enzym al zeer gemakkelijk daaraan vast te stellen, dat het onoplosbaar eiwit gaat oplossen.

Wanneer men het fibrine te voren heeft gekleurd, gaat, bij het oplossen de vloeistof gaandeweg sterkere kleur vertoonen en in de kleursterkte heeft men dan tevens een maat voor de sterkte der enzymen (GRÜTZNER).

De ontleding van opgeloste eiwitstoffen of van peptones en peptides vast te stellen, is niet zoo eenvoudig.

In 1906 hebben EMIL ABDERHALDEN en PETER RONA [1]) gebruik gemaakt van di- en tripeptides, die in water oplosbaar zijn, door trypsine ontleed zouden worden en daarbij een onoplosbaar aminozuur afsplitsen, zooals tyrosine. Zij gebruikten bv. glycyl-l-tyrosine en dergelijke peptides. In de hoeveelheid van het afgescheiden tyrosine heeft men tevens een maat voor de sterkte der enzymwerking, althans wanneer van het vrijgekomen tyrosine niets in de oplossing blijft, aan welke voorwaarden intusschen lang niet onder alle omstandigheden voldaan wordt.

---

[1]) EMIL ABDERHALDEN en PETER RONA, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 47, 1906, blz. 359.

Wij hebben boven reeds gezien, dat men bij het onderzoek naar de werking van eiwitsplitsende enzymen soms dezen omslachtigen weg heeft gevolgd, dat men de vrijgekomen aminozuren in hunne hoeveelheid bepaalde, daarbij gebruik makende van de door EMIL FISCHER uitgewerkte werkwijzen.

Op deze wijze werkten EMIL ABDERHALDEN en zijne medewerkers bij hunne eerste onderzoekingen over de eiwitsplitsende kracht van orgaanperssappen en ook van ploedplasma en bloedlichaampjes (zie blz. 34, Hoofdstuk I).

Men heeft ook wel gebruik gemaakt van peptides, waarin tryptophaan voorkomt. Bij de splitsing komt dan tryptophaan vrij, hetwelk dan met broom een violette verkleuring geeft. In de sterkte dezer verkleuring heeft men een maat voor de splitsing der peptide.

In het volgende jaar beschrijven EMIL ABDERHALDEN en A. H. KÖLKER [1]), een andere werkwijze, waarbij gebruik werd gemaakt van den polarimeter. Genoemde onderzoekers gingen uit van oplosbare en sterk optisch active peptides, waarvan de splitsingsproducten echter in veel mindere mate optisch actief waren. De oplossing van het peptide met het enzym werd in de buis van den polarimeter gebracht en kon daarin op standvastige temperatuur worden gehouden. Van tijd tot tijd werd nu de draaiing van het polarisatievlak gemeten en in de vermindering van deze draaiing had men dus een maat voor de sterkte van de enzymwerking.

Omstreeks in dezen zelfden tijd raadde H. EULER aan [2]), om althans bij het onderzoek naar de werking van erepsine op peptides, de verandering van het geleidingsvermogen voor den electrischen stroom te meten en als maat te gebruiken voor de sterkte van de peptidesplitsing.

Bekend is de werkwijze van S. P. L. SÖRENSEN, die in 1908 de zgn. formoltitratie uitwerkte [3]). Het beginsel hiervan berust, zooals wel bekend is, daarop, dat formol met aminozuren en ook met samenstellingen van aminozuren op eigenaardige wijze reageert, waarbij het formaldehyde met de

---

[1]) EMIL ABDERHALDEN en A. H. KÖLKER, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 51, 1907, blz. 294.
[2]) H. EULER, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 51, 1907, blz. 213.
[3]) S. P. L. SÖRENSEN, Biochemische Zeitschrift, deel 7, 1908, blz. 45.

aminogroep onder uittreding van water een methyleenverbinding aangaat en waarbij tevens de basische eigenschappen van de aminogroep te loor gaan.

Het aminozuur of het complex van aminozuren krijgt daardoor uitgesproken zuur karakter, en kan getitreerd worden. Bij de eiwitsplitsende werking komen, naar men algemeen aanneemt, door de splitsing der peptide-bindingen hoe langer hoe meer amino- en carboxylgroepen vrij en de formoltitratie zal dus gaandeweg een grootere uitkomst geven; men kan met deze titratie den voortgang der eiwitsplitsing vervolgen.

Zooals wij zagen, berust de door SÖRENSEN aanbevolen werkwijze op de verandering in eigenschappen van aminozuren en andere eiwitsplitsingsproducten door formaldehyde, uit deze aminozuren en verbindingen van aminozuren ontstaan daarbij stoffen met uitgesproken zure eigenschappen. Eigenlijk zou men deze aminozuren en verbindingen van aminozuren ook wel onmiddellijk kunnen titreeren, indien men slechts een indicator gebruikt, die bij zoo sterk alcalische reactie omslaat, dat op het eind der titratie de aminozuren geheel in hun zouten zijn omgezet. Deze aminozuren toch kunnen zich met alcali tot zouten verbinden, maar aangezien hun zure eigenschappen door de aanwezigheid van de aminogroep in zoo sterke mate onderdrukt worden, is er een groote overmaat alcali noodig, om zoutvorming tot stand te brengen, of om, zooals men dat ook wel noemt, de hydrolyse terug te dringen. Aangezien hiervoor getitreerd zou moeten worden tot zeer sterk alcalische reactie, welke bovendien voor de verschillende aminozuren nog uiteenloopt, is deze werkwijze zonder meer moeilijk toe te passen. R. WILLSTÄTTER [1]) heeft deze werkwijze zoo weten te wijzigen, dat zij practisch zeer goed uitvoerbaar wordt. Hij voegt namelijk alcohol in overmaat toe, waardoor dus de concentratie van het water veel geringer wordt en de hydrolyse daardoor zoo al niet geheel wordt uitgesloten, dan toch zeer gering wordt.

Nemen wij als voorbeeld glycocoll en brengen wij hierbij

---

[1]) R. WILLSTÄTTER en E. WALDSCHMIDT-LEITZ, Berichte der deutschen chemischen Geselschaft, deel 54, 1921, blz. 2988; R. WILLSTÄTTER, Alkalimetrische Bestimmungen von Aminosäuren und Polypeptiden, Abderhalden's Arbeitsmethoden, deel 1, 1923, blz. 289.

natriumhydroxyde, dan vormt zich dus het natriumzout van amino-azijnzuur volgens de volgende vergelijking:

$$NH_2CH_2COOH + NaOH \leftarrow\rightarrow NH_2CH_2COONa + H_2O$$

waarbij, zooals de vergelijking aangeeft een evenwicht wordt bereikt hetwelk eerst bij zeer groote overmaat van natriumhydroxyde practisch geheel aan den rechter kant ligt. Voegt men evenwel zeer veel alcohol toe, dan is het duidelijk, dat, aangezien daardoor de concentratie van het water zeer klein wordt, de omzetting van het aminoazijnzuur in het natriumzout reeds bij zeer kleine overmaat van natriumhydroxyde practisch volledig tot stand kan komen.

Voorts heeft men wel (Léonor Michaelis) gebruikt gemaakt van sulfosalicyl-zuur, waardoor nog niet ontleed eiwit wordt neergeslagen. Wanneer men na de werking van het eiwitsplitsend enzym aan de vloeistof sulfosalicylzuur toevoegt, krijgt men al naar de sterkte van de werking van het enzym nog een min of meer sterke troebelheid, waaruit men dan de sterkte van de eiwitsplitsing kan afleiden.

Door K. Glaessner is gebruik gemaakt van globine voor het onderzoek op eiwitsplitsende werking. Zoolang er nog globine is, krijgt men met ammoniumchloride en ammoniak nog een neerslag, hoe meer neerslag of troebelheid, hoe minder krachtig het enzym werkt. Wanneer men hierbij de nephelometer te hulp roept, kan men ongetwijfeld vrij nauwkeurig de sterkte van de enzymwerking meten.

Ook kan men gebruik maken van den refractometer of van den interferometer, omdat de breking van de oplossing bij de voortgaande splitsing van het substraat verandert en deze werkwijze heeft zeker het voordeel, dat men met zeer kleine hoeveelheden vloeistof het onderzoek kan doen. Eveneens kan men de veranderingen in de inwendige wrijving meten met behulp van den viscosimeter, aangezien de inwendige wrijving van de oplossing ook al weer verandert, wanneer het substraat geplitst wordt.

Reeds vrij lang geleden heeft D. D. van Slijke een werkwijze aanggegeven, om de hoeveelheid aminozuren te bepalen, welke hierop berust, dat de amino-groepen met salpeterigzuur reageeren onder vorming van stikstof. De hoeveelheid

stikstof is dan een maat voor de hoeveelheid aminozuren. Aangezien bij de eiwitsplitsing telkens nieuwe aminogroepen vrijkomen, kan men deze werkwijze van VAN SLUKE ook gebruiken om den voortgang der eiwitsplitsing te vervolgen. Men krijgt dan dus al naar de sterkte der eiwitsplitsing een min of meer sterk toenemen van de hoeveelheid vrijkomende stikstof.

Een andere werkwijze is nog, dat men de hoeveelheid reststikstof meet, die zich onder den invloed van het eiwitsplitsend enzym vormt. Deze werkwijze werd gevolgd door F. HIMMERICH en eveneens door mij. HIMMERICH bevrijdde de verteringsvloeistof van eiwit met behulp van trichloorazijnzuur en in het filtraat onderzocht hij de hoeveelheid stikstof door de daarin voorkomende stikstofverbindingen, die dus de reststikstof leveren, te vernielen met behulp van de werkwijze van J. KJELDAHL. Bij deze vernieling wordt de stikstof in den vorm van ammoniak vrij en HIMMERICH bepaalde de hoeveelheid ammoniak met behulp van Nessler's reagens langs colorimetrischen weg. HIMMERICH ging uit van zeer weinig bloed, nl. 0,1 ccm, aanvankelijk gebruikten ook wij deze kleine hoeveelheid, maar later hebben wij deze hoeveelheid iets vergroot, nl. tot 0,5 ccm, omdat met 0,1 ccm naar onze meening de onvermijdelijke fouten toch wel iets te groot waren.

HIMMERICH voegde aan zijn vloeistoffen chloroform toe, waardoor ontwikkeling van bacteriën wordt voorkomen, maar waardoor men zich voorstelt, dat nog iets anders wordt bereikt.

In onze besprekingen over het antitrypsine-vraagstuk, vermeldden wij, dat R. STEPHAN en ERNA WOHL de stoffen, die remmend werken op de eiwitsplitsing en die dus zouden maken, dat de eiwitsplitsende enzymen van het bloedserum niet of althans veel minder duidelijk aan den dag treden, trachtten onwerkzaam te maken door verwarming. Maar wij zagen ook, dat zij hierin niet slaagden, d.w.z. althans niet op de gewenschte wijze, want door de verwarming werden de eiwitsplitsende enzymen zelf ook onwerkzaam. Maar STEPHAN en ERNA WOHL deelen verder mede, dat zij tal van bloedsera, die zonder meer geen eiwitsplitsende werking tegenover fi-

brine schenen te bezitten, werkzaam konden maken door behandeling van de bloedsera met chloroform. Door deze behandeling met chloroform zou, naar zij zich voorstellen, de remmende werking van het bloedserum worden verminderd of opgeheven. De oorzaak hiervan zou kunnen zijn, dat het antiënzym vernield werd, zou ook kunnen zijn een verandering in den „physisch-chemischen toestand" van het bloedserum, waardoor dan de remmende werking zou worden weggenomen. Over de verschillende opvattingen omtrent het wezen van den remmenden invloed van bloedserum op de werking van eiwitsplitsende enzymen is in genoemd hoofdstuk het noodige gezegd; hoe de verklaring nu ook zij, zeker is het, dat de eiwitsplitsende werking van tal van bloedsera eerst na deze behandeling met chloroform voor den dag komt en ook wij hebben van dit middel gebruik gemaakt. Chloroform is tevens zeer sterk bacteriëndoodend en zullen de uitkomsten van het onderzoek werkelijk betrouwbaar zijn, dan moet ontwikkeling van bacterien op alle wijzen worden uitgesloten. Bacterien kunnen zich bij deze proeven uiterst gemakkelijk ontwikkelen, aangezien zij in het bloed bij lichaamstemperatuur een zeer goeden voedingsbodem vinden, terwijl ook de proeven vrij langen tijd, nl. minstens 24 uren moeten worden voortgezet. Zooals gezegd, hebben wij dan ook besloten, chloroform te gebruiken, hoewel dit middel toch zeker een groot nadeel heeft. Het moge dan de remmende werking van het bloedserum opheffen of althans zeer verminderen, het belemmert echter ook de werking van de enzymen zelve en zelfs in vrij aanzienlijke mate. In het algemeen werken narcotica des te sterker remmend op de werking van enzymen, naarmate zij sterker bedwelmend en antiseptisch werken.

Aanvankelijk heb ik de werkwijze, zooals die door F. HIMMERICH [1]) is beschreven, geheel gevolgd. Deze werkwijze van F. HIMMERICH zal ik hier eenigszins uitvoeriger mededeelen.

Zooals gezegd, gebruikt deze onderzoeker 0,1 ccm bloed, welk bloed hij uit den vingertop of uit het oor van den te onderzoeken persoon verkreeg. Het is zeker niet onverschillig

---

[1]) F. HIMMERICH, Biochemische Zeitschrift, deel 191, 1927, blz. 74.

te achten, op welke wijze het bloedmonster was verkregen, hoewel voor zoover mij bekend is, nog geen onderzoekingen gedaan zijn, om na te gaan, of het eiwitsplitsend vermogen van het bloed, op verschillende wijzen verkregen, uiteenloopt. Men zou kunnen vermoeden, dat dit eiwitsplitsend vermogen van slagaderlijk bloed en van aderlijk bloed, op hetzelfde oogenblik genomen, wel eens min of meer verschillend zou kunnen zijn, men zou kunnen vermoeden, dat het bloed uit de miltader bv., wel eens rijker aan eiwitsplitsende enzymen zou kunnen zijn dan slagaderlijk bloed. Intusschen wanneer men steeds op dezelfde wijze het bloed neemt, dan zijn de uitkomsten toch zeker wel vergelijkbaar. Wel moet men er dan nog rekening mee houden, dat naar alle waarschijnlijkheid ook de aard van het voedsel invloed kan hebben.

Het aantal witte bloedlichaampjes toch, dat in het bloed voorkomt, hangt met den aard van het voedsel samen. Na het gebruik van eiwit schijnt dat aantal wel steeds grooter te worden en men kan vermoeden, dat dan het eiwitsplitsend vermogen van het bloed ook grooter zal worden gevonden en vooral, wanneer men zooals HIMMERICH dit deed en trouwens ook bij onze onderzoekingen het geval was, het geheele bloed ter onderzoek neemt en dit met gedestilleerd water of met een oplossing van een buffermengsel geheel of gedeeltelijk haemolyseert. Verder is het eiwitsplitsend vermogen van het bloedplasma zeker ook ten zeerste afhankelijk van den graad van vernieling van witte- en waarschijnlijk ook roode bloedlichaampjes. En de sterkte dezer vernieling hangt ook weder samen, behalve dan met den toestand van den persoon, met den aard van het voedsel. Bij onthouding van voedsel schijnt deze vernieling grooter te worden en het is dan ook te verwachten, dat bij hongerlijden het eiwitsplitsend vermogen van het bloedplasma grooter wordt.

Wat dus het nemen van het bloed voor het onderzoek betreft, moet het steeds zooveel mogelijk op dezelfde wijze gebeuren en ook bij zooveel mogelijk standvastig diëet.

HIMMERICH nam zijn bloedmonsters, zooals gezegd steeds uit den vingertop of uit het oor, maar HIMMERICH werkte met 0,1 ccm bloed, waarvan dan de helft onmiddellijk voor het

onderzoek werd gebruikt, terwijl de andere helft, na 24 uren op 37° te zijn gehouden, alsdan onderzocht werd. Voor de eigenlijke bepaling van de sterkte der vertering kwam dus eigenlijk 0,05 ccm bloed ter onderzoek. Het bleek mij bij mijn voorloopige proeven, dat deze hoeveelheid bloed toch werkelijk veel te klein is, om uitkomsten te krijgen, voldoende nauwkeurig, om verschillen in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed met zekerheid aan te toonen. De hoeveelheid reststikstof toch, die men met 0,5 ccm bloed verkrijgt is begrijpelijkerwijze uiterst klein en zelfs met de colorimetrische werkwijze is het toch onvermijdelijk, daarbij fouten te maken, die omgerekend op 100 ccm bloed zoo aanzienlijk worden, dat althans kleine veranderingen in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed in het geheel niet meer met zekerheid kunnen worden gevonden. Ik gebruikte dan ook voor het onderzoek niet 0,1 ccm bloed, maar 0,5 ccm. Bij mijn eigenlijke proeven werd dit bloed steeds verkregen door aanprikken van de Vena mediana cubiti en werd het onmiddellijk met zooveel van een oplossing van natriumcitraat vermengd, dat het eindgehalte aan dit zout bedroeg 0,25 %. Zooveel als eenigszins mogelijk was werd dit bloed aan de personen ontnomen, des ochtends voor het gebruik van eenig voedsel.

Zooals gezegd onderzocht ik het bloed aanvankelijk geheel op de wijze, zooals HIMMERICH dat opgeeft.

HIMMERICH beschrijft zijne werkwijze als volgt:

In een spits centrifugebuisje werd 1,4 ccm dubbel gedestilleerd water gebracht en met behulp van een nauwkeurig geijkt klein bloedpipetje werd daar 0,1 ccm bloed, uit den vingertop dus verkregen, bijgebracht en wel op den bodem van het centrifugebuisje, terwijl daarna het bloedpipetje met het bovenstaande gedestilleerde water werd uitgewasschen.

Dan werd het bloed met het water grondig gemengd, waarna de helft van de vloeistof, dat is dus 0,75 ccm, zorgvuldig werd overgebracht in een tweede spitse centrifugebuis. Vervolgens werd aan beide hoeveelheden 0,1 ccm chloroform toegevoegd, waarna de buisjes werden gesloten met uitgekookte caoutchouc stoppen en krachtig geschud. Het eene buisje werd dan gedurende 24 uren geplaatst in een bak met

water, hetwelk standvastig op 37° werd gehouden door middel van een toluol-regulateur, terwijl het andere centrifugebuisje onmiddellijk ter onderzoek werd genomen.

Daartoe werd aan den inhoud, dat is dus 0,75 ccm vloeistof, een gelijk volume van een 6 % oplossing van trichloorazijnzuur gebracht, waarna weder krachtig geschud werd. Na 10 minuten werd vervolgens gecentrifugeerd met 3000 omwentelingen per minuut gedurende 2 minuten, waarna de bovenstaande vloeistof zoo goed mogelijk werd afgeschonken op een kleine filter.

Van het filtraat werd nauwkeurig 0,5 ccm gebracht in een reageerbuisje van Jena-glas, 1,3 cm diameter en 18 cm lang. Bij deze 0,5 ccm vloeistof werd dan 0,05 ccm sterk zwavelzuur, hetwelk ammoniakvrij moest zijn, gevoegd. Dan werd verhit en wel zoo lang, tot alle organische stoffen vernield waren en het klein weinigje vloeistof dus geheel kleurloos was. Deze bewerking duurde gemiddeld 20 minuten, hoewel deze tijd zeer afhankelijk was van de hoeveelheid in het filtraat aanwezige organische stoffen.

Hiernevens werd steeds een tweede proef gedaan, die men een blinde proef zou kunnen noemen en wel geheel op dezelfde wijze, behalve, dat inplaats van 0,5 ccm filtraat werd genomen 0,5 ccm gedestilleerd water. Na de verhitting werd aan den inhoud van de beide buisjes aan elk 10 ccm gedestilleerd water, hetwelk geen ammoniak bevatte, toegevoegd en vervolgens 0,25 ccm van een oplossing van 50 % natriumhydroxyde. Aan deze vloeistof werden dan achtereenvolgens nog toegevoegd 0,5 ccm van een oplossing van Seignettezout van 33 %, en ten slotte 0,5 ccm Nessler's reagens. Dit Nessler's reagens bereidde HIMMERICH volgens L. W. WINKLER en deze bereidingswijze is als volgt:

10 gram mercurijodide werd in een mortiertje met gedestilleerd water gewreven, overgespoeld in een kleine flesch en 5 gram kaliumjodide toegevoegd, vervolgens werd 20 gram natriumhydroxyde in een weinig water opgelost en na afkoeling bij de rest gevoegd en aangevuld tot 100 ccm. Deze vloeistof is pas na eenige dagen te gebruiken, in welken tijd de overmaat mercurijodide uitkristalliseert. De bovenstaande vloeistof kan dan worden gebruikt.

Bij de toevoeging van Nessler's reagens krijgt men al naar de hoeveelheid ammoniak en dus de hoeveelheid stikstof, die aanwezig was, een min of meer sterke geele of geel-bruine kleuring. Wanneer de gebruikte reagentia alle vrij van ammoniak zijn, moet de vloeistof bij de blinde proef slechts de uiterst lichtgele teint van het verdunde Nessler's reagens laten zien, hetgeen bij mijn eigen proeven inderdaad het geval was.

Om nu de hoeveelheid ammoniak te meten, maakte HIMMERICH een vergelijkingsvloeistof en wel op deze wijze, dat hij bij 10 ccm gedestilleerd water 0,05 ccm sterk zwavelzuur voegde, vervolgens 0,25 ccm van een oplossing van natriumhydroxyde van 33 %, 0,5 ccm van een oplossing van Seignettezout van 33 % en 0,5 ccm Nessler's reagens. Aan dit mengsel werd dan uit een buret een oplossing van ammoniumchloride, die per ccm 0,05 mg stikstof bevat, zoo lang toegevoegd, tot de kleursterkte gelijk was aan die van de te onderzoeken vloeistof. Het aantal verbruikte ccm ammoniumchlorideoplossing is dan een maat voor de hoeveelheid ammoniak en dus stikstof van de te onderzoeken vloeistof.

Deze werkwijze van HIMMERICH is afkomstig van D. ACÉL [1]) en aanvankelijk heb ik deze werkwijze gevolgd. Het bleek mij echter weldra, dat deze wijze van werken te ruw is, wanneer het gaat om het onderzoek van zulke kleine hoeveelheden bloed. Een groot bezwaar was ook, dat de vloeistoffen bijna steeds troebel waren, waardoor een nauwkeurige kleurvergelijking uitgesloten was.

Daarom heb ik de werkwijze eenigermate gewijzigd. In de eerste plaats was, naar mijne meening, de toevoeging van het Seignettezout overbodig en had ik zelfs den indruk, dat dit zout het ontstaan van troebelheden in de hand werkte. Ik liet het dus voortaan weg. Vervolgens scheen het mij wenschelijk, Nessler's reagens niet toe te voegen aan de vloeistof, die ammoniak bevat, maar omgekeerd deze vloeistof onder krachtig roeren toe te voegen aan het verdunde Nessler's reagens. In het Laboratorium voor Physiologische Chemie was reeds vroeger gevonden, dat bij deze wijze van werken

---

[1]) D. ACÉL, Biochemische Zeitschrift, deel 121, 1921, blz. 120

de kans op het ontstaan van hinderlijke troebelheid zoo al niet uitgesloten, dan toch veel geringer wordt. Ik bracht dus in kleine bekerglaasjes Nessler's reagens, met een weinig water verdund en daarbij onder sterk roeren de alcalisch gemaakte op ammoniak te onderzoeken vloeistof. De vloeistof werd dan zonder verlies overgebracht in een maatkolfje, dus natuurlijk onder naspoelen en dan aangevuld tot 10 ccm. De model-vloeistof bereidde ik door eveneens in een bekerglaasje bij verdund Nessler's reagens het mengsel van gedestilleerd water, 0,1 ccm zwavelzuur, 0,25 ccm oplossing van natronhydroxyde van 33 % en 1 ccm van de ammoniumchlorideoplossing, die per ccm 0,05 mg stikstof bevatte, onder sterk roeren toe te voegen. Ook deze vloeistof werd overgebracht in een maatkolfje en aangevuld tot 10 ccm. De kleursterkten der beide vloeistoffen vergeleek ik in den colorimeter van Klett.

Evenwel ook op deze wijze kreeg ik nog herhaaldelijk troebele vloeistof en het bleek mij dan ook niet te ontgaan, om de vloeistof, van het bloed afkomstig, niet onmiddellijk te onderzoeken, maar eerst den ammoniak daaruit over te destilleeren. Ik gebruikte daarvoor een zeer klein destilleertoestelletje, zooals men dat tegenwoordig algemeen gebruikt voor het onderzoek in kleine hoeveelheden bloed naar de hoeveelheid reststikstof. Door deze bewerking slaagde ik er in, werkelijk geheel heldere vloeistoffen te krijgen en nu kon ik dus de vergelijking der kleursterkten zeer nauwkeurig uitvoeren. Toen bleek mij evenwel spoedig, dat vóór dit onderzoek een hoeveelheid van 0,1 ccm bloed te gering is, om werkelijk betrouwbare uitkomsten te krijgen. Zooals boven uiteengezet, werd die hoeveelheid van 0,1 ccm bloed nog weer in 2 gelijke deelen verdeeld, waarvan dan de eene helft onmiddellijk en de andere helft eerst na 24 uren op 37° verwarmd te zijn, op de hoeveelheid reststikstof onderzocht werd. Het eigenlijke onderzoek geschiedde dus in 0,05 ccm bloed en als men nu in aanmerking neemt, dat hiermede tal van bewerkingen moeten worden uitgevoerd en dat het ten slotte gaat om de vermeerdering in de hoeveelheid reststikstof vast te stellen, die zich onder den invloed van de in het bloed aanwezige eiwitsplitsende enzymen vormt en dat deze ver-

meerdering van de hoeveelheid reststikstof in deze kleine hoeveelheid begrijpelijkerwijze uitermate klein is, dan behoeft het ons niet te verwonderen, dat de uitkomsten, die ik op deze wijze verkreeg, nog al eens uiteenliepen en weinig betrouwbaar schenen. Op grond van deze ervaringen heb ik toen de hoeveelheid bloed 5 × grooter genomen en zooals van zelf spreekt ook alle andere stoffen in 5 × grootere hoeveelheden gebruikt. Bij de colorimetrie bleek ons, dat wij nu weer voortdurend met troebelheid der vloeistof te kampen kregen. Dit was voor ons reden, om een aparte proefreeks op te zetten, teneinde de oorzaak van dit hinderlijke verschijnsel op te sporen. Hierbij bleek, dat het niet helder blijven van de vloeistof die wij bij de colorimetrische vergelijking gebruikten, te zoeken was in de hoeveelheid NESSLER's reagens; wij gebruikten namelijk ook 5 × de oorspronkelijke hoeveelheid Nessler, dus 2½ ccm. Wij deden nu een proefreeks, waarbij wij telkens de hoeveelheid Nessler's reagens met 0,5 ccm verminderden en vonden, dat alleen dan geen troebelheid ontstond, wanneer wij niet meer dan 0,5 ccm Nessler's regens gebruikten.

Voortaan gebruikten wij dus deze kleine hoeveelheid Nessler's reagens en wanneer wij steeds de ammoniak afdestilleerden, hadden wij met troebelheden niet meer te kampen. Wat de nauwkeurigheid van de uitkomsten betreft, deze scheen mij voldoende om ook betrekkelijk kleine verschillen in de eiwitsplitsende kracht van het bloed op het spoor te komen.

Wij waren dus nu zoover, dat wij met het eigenlijke onderzoek konden aanvangen. Het doel, dat wij ons gesteld hadden, was de eiwitsplitsende kracht van het bloed bij gezonden, maar dan vooral ook bij zieken na te gaan, inzonderheid met de bedoeling, om te onderzoeken, of men in de vaststelling van de eiwitsplitsende kracht van het bloed waardevolle aanwijzingen kan vinden voor de beoordeeling van den toestand van den lijder en de juiste herkenning van den aard der ziekteverschijnselen.

Alvorens verder te gaan, willen wij hier eerst enkele uitkomsten mededeelen, waaruit men omtrent de nauwkeurigheid en de betrouwbaarheid der beschreven werkwijze kan

oordeelen. In het volgende staatje I geven wij een overzicht van eenige der verkregen uitkomsten.

Hierbij werd hetzelfde bloed dan in een aantal analyses onderzocht op de hoeveelheid reststikstof, zonder dat eenige vertering had plaats gevonden.

TABEL I

Hoeveelheid reststikstof in bloed, van eiwit bevrijd met trichloorazijnzuur en onderzocht in 0,25 ccm bloed volgens de gewijzigde werkwijze van F. HIMMERICH.

No.	Lijder aan	Hoeveelheid reststikstof in mg per 100 ccm bloed				
		I	II	III	IV	V
I	gezond	35,2	30,8	30,0	—	—
II	gezond	42,4	38,4	42,5	44,1	41,1
III	carcinoma prostatae	46,7	47,0	45,2	46,4	47,6

Wanneer wij deze uitkomsten overzien en wanneer wij dan verder in het oog houden, dat de eigenlijke bepaling is gedaan met $^1/_{12}$ ccm bloed en dat dus voor de berekening op 100 ccm de uitkomst met 1200 moest worden vermenigvuldigd, dan kunnen wij de gevonden waarden over het algemeen toch wel zeer bevredigend noemen.

In onze voorafgaande beschouwingen zagen wij, dat de verschillende onderzoekers in het bloed enzymen van verschillenden aard meenen gevonden te hebben, nu eens een eiwitsplitsend enzym van pepsineachtigen aard, dan weder een enzym van trypsineachtigen aard, terwijl ook zoogenaamde peptolytische enzymen zijn gevonden, waarvan wij dus kunnen vermoeden, dat zij van erepsineachtigen aard zijn. Deze onderscheiding grondt zich op bijzonderheden in de werking, inzonderheid op verschillen in de reactie, waarbij de sterkste eiwitsplitsing werd gevonden. Wanneer bij vrij sterk zure reactie, de reactie van bv. ongeveer P_h gelijk 2, een duidelijke eiwitsplitsing werd verkregen, dan zegt men, dat pepsine aanwezig is, wanneer bij alcalische reactie eiwit wordt ontleed, dan spreekt men van aanwezigheid van trypsine en eindelijk, wanneer peptones worden ontleed bij neu-

trale of zwak alcalische reactie, dan is peptolytisch enzym voorhanden. Bij de autolyse van organen heeft men herhaaldelijk vastgesteld, dat deze autolyse en de daarbij plaats vindende eiwitsplitsing het krachtigst voortgaat bij zwak zure reactie, bij een P_h gelijk $\pm$ 5. Het eiwitsplitsend enzym bij de autolyse zou dus weder zijn eigen gunstigste reactie hebben en zich daardoor onderscheiden van pepsine en trypsine.

Het scheen ons nu zeer gewenscht, bij ons onderzoek de eiwitsplitsing in het bloed bij verschillende reacties na te gaan. Omtrent den aard van de in het bloed voorkomende eiwitsplitsende enzymen bij verschillende ziekten, weten wij tot dusverre zoo ongeveer niets. Het zou volstrekt niet ondenkbaar zijn, dat bij de eene ziekte het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij een bepaalde reactie versterkt is en bij een andere ziekte bij een andere reactie, kortom, het zou kunnen zijn, dat als men steeds slechts bij één enkele reactie het eiwitsplitsend vermogen van het bloed onderzoekt, men slechts een zeer onvolledig beeld zou krijgen van de verschillende veranderingen, die onder ziekelijke omstandigheden in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed zich kunnen voordoen. Daarom heb ik ook steeds bij een reeks van reacties de eiwitsplitsing nagegaan. Natuurlijk zou het ook zeer gewenscht zijn, het onderzoek met verschillende substraten uit te voeren om een nog beter inzicht in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed te kunnen verkrijgen. Dit is mij evenwel niet mogelijk geweest, vooral ook daarom al niet, omdat dan het onderzoek een te groote hoeveelheid bloed zou vereischen. Daar ik bij een aantal reacties onderzocht, had ik toch reeds betrekkelijk veel bloed noodig.

De vraag moest nu worden gesteld, bij welke reacties zou ik het onderzoek verrichten en op welke wijze, d.w.z. met welke buffermengsels, zou ik de gewenschte reacties aan het bloed mededeelen? Als substraat heb ik steeds gebruikt het eiwit van het bloed zelf.

Na eenige overwegingen besloten wij, als buffermengsel een mengsel van phosphaten te gebruiken, hoewel aanvankelijk het gebruik van bicarbonaat en koolzuur meer physiologisch scheen. Met laatst genoemd buffermengsel zou het

echter moeilijk zijn, ontwijken van koolzuur geheel tegen te gaan, terwijl het daarenboven gewenscht was, de reacties nog al zeer sterk te doen uiteenloopen. Daarvoor was een phosphaatmengsel beter geschikt, terwijl daarmede ook gemakkelijk de reactie meer standvastig kon worden gehouden. Het leek mij wenschelijk, om bij de reacties, die ik zou gebruiken, die te nemen, waarbij pepsine, het autolytisch eiwitsplitsend enzym en trypsine het beste werken.

De eerste proefreeksen deed ik met behulp van mengsels van primair kaliumphosphaat en secundair natriumphosphaat, waarvan ik de oplossingen volgens S. P. L. SÖRENSEN, die dus $^1/_{15}$ gram molecuul KH_2PO_4 en $^1/_{15}$ molecuul $Na_2HPO_4.2H_2O$ per liter bevatten, gebruikte. Aanvankelijk gebruikten wij de volgende mengsels, waarvan wij dus de reactie uit de waarneming van SÖRENSEN konden afleiden. Hierbij is in het oog te houden, dat door de toevoeging van 0,25 ccm bloedserum aan 3,5 ccm phosphaatmengsel, de reactie, vooral in het zure en in het alcalische gebied niet onaanzienlijk wordt gewijzigd. Doch het waren slechts eerste waarnemingen. De mengsels dan, die wij gebruikten, waren de volgende:

TABEL II

Mengsels van primair kaliumphosphaat en secundair natriumphosphaat met de bijbehoorende reacties.

No.	aantal ccm KH_2PO_4 oplossing	aantal ccm $Na_2HPO_42H_2O$ oploss.	P_h
1	$3\frac{1}{2}$	0,0	4,6
2	3,0	0,5	5,5
3	2,5	1,0	6,4
4	2,0	1,5	6,7
5	1,5	2,0	6,9
6	1,0	2,5	8,7
7	0,5	3,0	9,1
8	0,0	3,5	9,3

Met deze phosphaatmengsels deed ik nu een paar voorloopige proefreeksen, waarvan men de uitkomsten in den volgenden staat aantreft. Nogmaals zij er aan herinnerd, dat de

reacties, zooals die in den staat zijn aangegeven, in werkelijkheid door den invloed van het bloed iets anders zijn geweest. Vooral de zure en de alcalische reacties moeten een weinig verschoven zijn naar den minder zuren en minder alcalischen kant.

TABEL III

Eiwitsplitsende werking in het bloed bij verschillende reacties.

No	Onderzocht geval	reststikstof per 100 ccm bloed in mg	Ph 4,6	Ph 5,5	Ph 6,4	Ph 6,7	Ph 6,9	Ph 8,7	Ph 9,1	Ph 9,3
1	gezond	A	35,28				30,84			30
		B		32,88	36,84	34,28	31,56	32,16		30
		C [1]		0,84	4,80	2,24		0,12		
2	gezond	A			42,4	38,4	42,6	44,2		41,2
		B			66,0	69,5		66,0		72,4
		C			23,6	31.1		21,8		31,2
3	carcinoma prostatae	A	47,3		47,3	46,1	47,3	48,5		
		B	70,3		76,4	80,0	80,0	63,1		101,9
		C	23,0		29,1	33,9	32,7	14,65		115,6

Naar aanleiding van deze uitkomsten wil ik in de eerste plaats opmerken, dat ik het reststikstofgehalte van het bloed ook bij een aantal verschillende reacties heb onderzocht, wat misschien strikt genomen, niet noodzakelijk is. Weliswaar zou het kunnen zijn, dat de adsorptie van stoffen, die de reststikstof uitmaken aan het neerslag van het eiwit met trichloorazijnzuur bij verschillende reactie in verschillende mate tot stand komt, hoewel de daardoor ontstane verschillen slechts klein kunnen zijn, omdat trichloorazijnzuur in vrij groote hoeveelheid wordt toegevoegd en de invloed van het phosphaatmengsel op de eindreactie dus niet zeer groot kan zijn. Bij mijn latere proeven heb ik trouwens, alvorens tri-

[1]) Onder A is opgegeven de hoeveelheid reststikstof in mG per 100 ccm bloed. Onder B de hoeveelheid reststikstof in 100 ccm bloed na 24 uren verwarming op 37° bij de verschillende reacties en eindelijk is onder C opgegeven met welk aantal milligrammen de hoeveelheid reststikstof is toegenomen.

chloorazijnzuur toe te dienen, de reactie in alle buisjes dezelfde gemaakt. Maar door de hoeveelheid reststikstof in de verschillende buisjes met de verschillende phosphaatmengsels te bepalen, had ik een welkome contrôle in de nauwkeurigheid der uitkomsten. Voor de berekening van de sterkte der eiwitvertering heb ik dan meestal gebruik gemaakt van het gemiddelde van de uitkomsten vóór de vertering.

Wat nu de verkregen uitkomsten zelve betreft, zien wij een zeer sterken invloed van de reactie op de eiwitvertering. Dit was trouwens van te voren te verwachten. Intusschen moeten wij met de beoordeeling hier toch zeer voorzichtig zijn. Het bleek namelijk, dat in het met phosphaatmengsel verdunde bloed na schudden met den chloroform bij de meeste reacties neerslagen kwamen. Het sterkst bij omstreeks neutrale reactie en het minst bij de meest zure en de meest alcalische reactie. Deze vorming van neerslagen kan ik niet anders verklaren, dan daardoor, dat een groot gedeelte van de eiwitstoffen van het bloed door den chloroform gedenatureerd wordt, waardoor de oplosbaarheid kleiner wordt en de eiwitstoffen vooral bij neutrale reactie uitvlokken.

In de buurt van de neutrale reactie was dit uitvlokken van het eiwit dikwijls zoo sterk, dat de vloeistof ontkleurd was. Nu behoeft het geen betoog, dat voor de werking van de eiwitsplitsende enzymen de toestand, waarin het substraat verkeert van zeer groote beteekenis is en dat, wanneer het substraat uitgevlokt is, het in het algemeen wel minder gemakkelijk door het enzym zal worden aangetast, dan wanneer het in opgelosten toestand verkeert. Daarenboven is het de vraag, wat er onder deze omstandigheden met de enzymen zelf gebeurt. Ook al zouden de eiwitsplitsende enzymen zelf geen eiwitstoffen zijn, het is lang niet onwaarschijnlijk, dat zij onder deze omstandigheden met de gedenatureerde eiwitstoffen mede voor een grooter of kleiner deel worden uitgevlokt.

In verband hiermede is het overigens zeer eigenaardig, dat juist in dit omstreeks neutrale gebied heel dikwijls door mij een bijzondere sterke eiwitsplitsing werd gevonden, zoodat door het uitvlokken van een zoo groot gedeelte van het substraat de eiwitsplitsende werking toch zeker volstrekt niet

wordt opgeheven, of zelfs soms maar in zeer sterke mate wordt verminderd. De gebruikte werkwijze is zeker allerminst de ideale te noemen, maar deze op afdoende wijze te verbeteren, zou zeker buitengewoon moeilijk zijn geweest. De eenige weg, die onzes inziens dan zou moeten worden ingeslagen, zou deze zijn, dat men de enzymen eerst zooveel mogelijk uit het bloed zou afzonderen en deze dan zou laten werken op substraten, die bij alle gebruikte reacties gemakkelijk oplosbaar zijn. Maar men begrijpt wel, dat een dergelijke werkwijze, althans voor de geneeskundige practijk, geheel zonder waarde zou zijn en zooals boven gezegd, was het mij er toch vooral om te doen, na te gaan, of het onderzoek naar de eiwitsplitsende werking van het bloed voor de kliniek van waarde zou kunnen wezen.

Intusschen blijkt uit bovenmedegedeelde uitkomsten, dat eiwitsplitsend vermogen is gevonden en wel bij verschillende reacties zeer ongelijk in sterkte. De twee proefreeksen bij gezonden zijn bij denzelfden persoon gedaan met een tusschentijd van eenige dagen. Zooals men ziet is het eiwitsplitsend vermogen van het bloed zeer verschillend en het blijkt dus, dat ook bij gezonden dit eiwitsplitsend vermogen aan groote schommelingen onderhevig is.

Verder blijkt, dat zoowel in de tweede als in de derde proefreeks bij de meest alcalische reactie de eiwitsplitsing sterk toeneemt. Het was dus ongetwijfeld noodig om de reeks der reacties naar den alcalischen kant uit te breiden, evenals dit trouwens ook aan den zuren kant noodig was, om een pepsineachtig enzym op het spoor te komen.

Onze verdere proefnemingen werden dan ook op deze wijze gedaan, dat niet mengsels werden genomen van primair en secundair phosphaat, maar mengsels van phosphorzuur en wisselende hoeveelheden natriumhydroxyde, met dien verstande, dat de hoeveelheid phosphorzuur steeds dezelfde was. Op deze wijze was het mogelijk, de reactie zeer sterk te doen wisselen, hoewel het mengsel van phosphorzuur en natriumhydroxyde slechts in bepaalde gebieden van reactie krachtige buffermengselen bezit.

Door de aanwezigheid van de eiwitstoffen van het bloed werd echter ook in die gebieden, waar de reactie door het

mengsel van phosphorzuur en natriumhydroxyde niet goed was vastgelegd, deze toch voldoende standvastig gehouden. Het verdiende namelijk aanbeveling, om slechts met één buffermengsel te werken, aangezien dit toch ook weer een bepaalden invloed op de enzymwerking kan hebben. De reacties in de mengsels van bloed, phosphorzuur en natriumhydroxyde werden met behulp van de waterstofelectrode gemeten.

Aanvankelijk deed ik de proefreeksen met acht verschillende reacties en wel bij reacties van de volgende P_h's: P_h gelijk 2.6, 3.9, 5.7, 6.8, 7.0, 7.9, 10.4, 11.1. Daar wij bij alle reacties vóór en ná de vertering de hoeveelheid reststikstof vaststelden en daarenboven alle bepalingen dubbel deden, gaf dus elke proefreeks 32 bepalingen. Om de analyses practisch uitvoerbaar te maken, maakte ik gebruik van het toestel, zooals dat beschreven is door R. BAHLMANN [1]), waarmede het mogelijk is, een groot aantal buisjes tegelijkertijd ter onderzoek te nemen.

Tegelijkertijd kon namelijk uit 8 buisjes de ammoniak bij ongeveer 50° door een luchtstroom worden uitgedreven en uit elk buisje worden opgevangen in een buisje, waarin zich een overmaat zoutzuur bevond. Op deze wijze verviel dus het tijdroovende destilleeren. Echter duurden de bepalingen van de hoeveelheid reststikstof bij de gebruikte colorimetrische werkwijze vrij langen tijd en ik zocht naar een middel om den duur der bewerking te bekorten.

Mijn oog viel toen op een mededeeling in het Biochemische Zeitschrift, deel 195, 1928, blz. 442, uit het Laboratorium van OSAKA door RYUZO IWATSURU, getiteld: „Zur Mikrobestimmung des Blutreststickstoffs mittels Natriumhypobromit."

IWATSURU onteiwit het bloed met behulp van natriumwolframaat en zwavelzuur. Wij zijn echter bij het gebruik van trichloorazijnzuur gebleven. Het filtraat wordt door den Japanschen onderzoeker door verhitting met zwavelzuur verascht. Als catalysator gebruikte hij aanvankelijk natriumoxalaat, later echter natriumwolframaat, wij gebruikten een

---

[1]) R. BAHLMANN, Academisch Proefschrift, Utrecht, 1920, blz. 55.

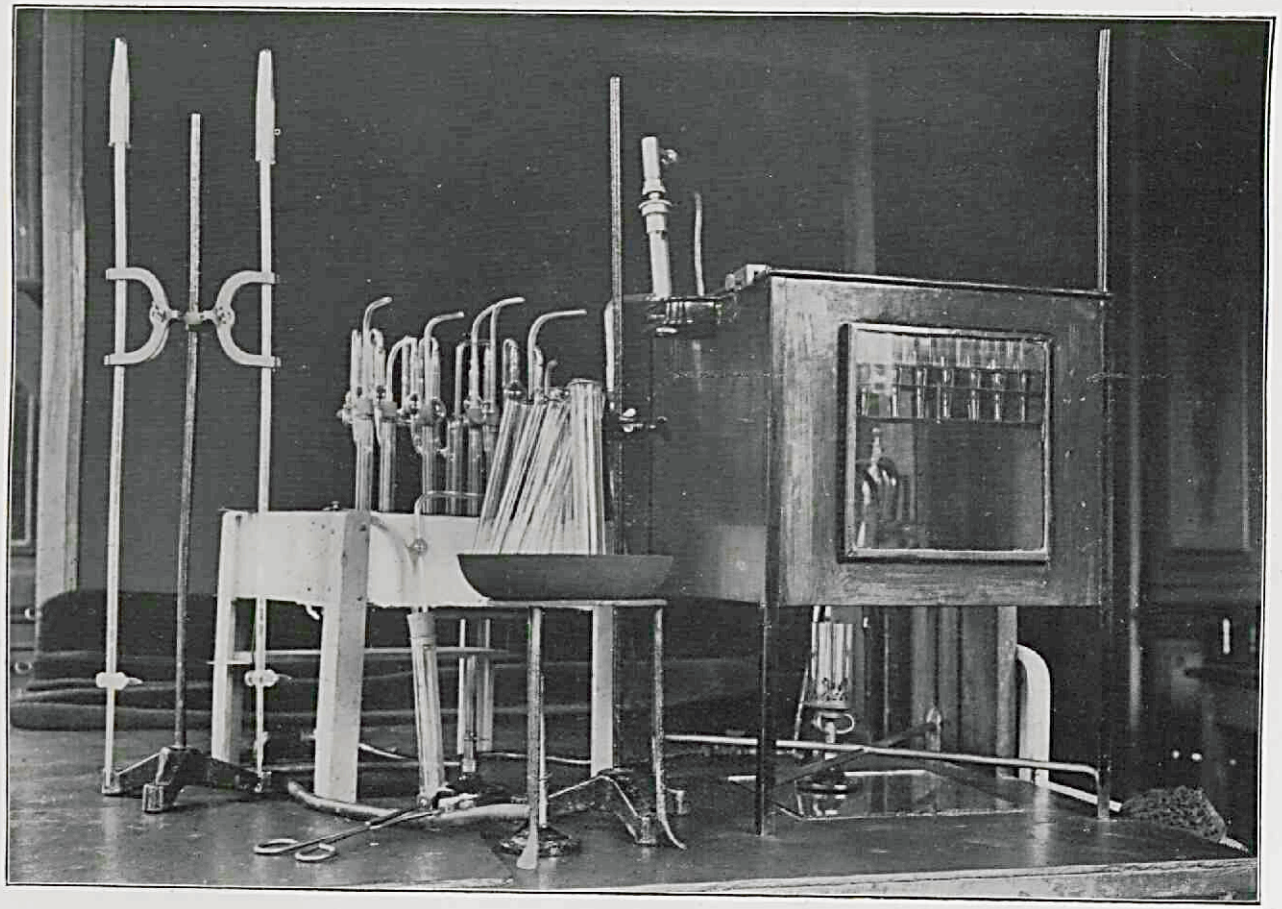

Fig. 1. Bij het onderzoek gebruikte benoodigdheden: Waterbad met toluolregulator. Destilleer-toestel waarmee 8 destillaties tegelijk konden worden uitgevoerd. Zandbad gebruikt bij de destructie. Microburetten.

spoor kopersulfaat. De veraschte vloeistof wordt vervolgens met 50 ccm gedestilleerd water verdund en met sterken natronloog geneutraliseerd ten opzichte van methylrood. Dan wordt met zwavelzuur weder teruggetitreerd tot de genoemde indicator juist weder van kleur is omgeslagen.

De reactie van de vloeistof is op dat oogenblik dus ongeveer P_h gelijk 4,2. Vervolgens voegt IWATSURU 1 ccm 0,1 N. natriumhydroxydeoplossing toe. De vloeistof was dan bij IWATSURU dus zwak alcalisch, bij onze vloeistoffen, die phosphaat bevatten, is de reactie ongetwijfeld iets anders geweest dan bij IWATSURU en wel minder aan den alcalischen kant, maar overigens steeds bij alle analyses dezelfde.

Het beginsel, volgens hetwelk IWATSURU nu de hoeveelheid reststikstof die dus in de verasschingsvloeistof in den vorm van ammoniakzouten aanwezig is, onderzoekt, is indertijd uitgewerkt door POHORECKA—LELESZ [1]). Het is het volgende:

Wanneer men aan een oplossing van ammoniumzouten een hypobromiet toevoegt, dan wordt een gedeelte van dit laatste zout gereduceerd en een overeenkomstige hoeveelheid ammoniak geöxydeerd. Wanneer men nu zou kunnen nagaan, hoeveel hypobromiet er tenslotte nog over is gebleven, dan kan men uit de verdwenen hoeveelheid berekenen, hoeveel ammoniak aanwezig geweest is. Dit onderzoek op de nog aanwezige hoeveelheid hypobromiet kan gemakkelijk geschieden met behulp van joodwaterstofzuur, dat door het onderbromig zuur wordt geöxydeerd tot water en jodium. De hoeveelheid jodium wordt op de gewone wijze met thiosulfaat getitreerd. Men voegt dus aan de verasschingsvloeistof een bepaalde hoeveelheid oplossing van natriumhypobromiet toe, welke overmaat moet zijn. POHORECKA—LELESZ gebruikte daarvoor 1 ccm van een onder afkoeling bereide oplossing van 2 gram broom in 250 ccm 0,2 N. oplossing van natriumhydroxyde. Daar ik met grootere hoeveelheden bloed werkte dan IWATSURU, nam ik 2 ccm van de hypobromietoplossing. Vervolgens moet worden toegevoegd 1 ccm van een 10 %'s oplossing van kaliumjodide en daarna wordt aan-

[1]) POHORECKA-LELESZ, Bulletin de la Société de Chemie biologique, deel 7, 1925, blz. 1038.

gezuurd met 2 ccm zoutzuur van 1 N. sterkte. Na toevoeging van het hypobromiet wachtte ik steeds 10 minuten, zooals IWATSURU dat aanraadt, alvorens kaliumjodide en zoutzuur toe te voegen. De hoeveelheid vrijgekomen jodium wordt tenslotte, zooals gezegd, met natriumthiosulfaat getitreerd, waarbij ik als indicator, dien ik op het laatst der titratie toevoegde, oplosbaar amylum gebruikte.

De reacties, die zich bij deze werkwijze afspelen zijn de volgende:

1. De werking van het hypobromiet op den ammoniak.

$$2\,NH_3 + 3\,NaOBr \rightarrow 3\,NaBr + 3\,H_2O + N_2$$

2. De werking van het onderbromig zuur op het joodwaterstofzuur.

$$HOBr + 2\,HJ \rightarrow J_2 + HBr + H_2O$$

3. De werking van het jodium op het thiosulfaat.

$$2\,J + 2\,Na_2S_2O_3 \leftarrow Na_2S_4O_6 + 2\,NaJ.$$

De oplossing van natriumhypobromiet verandert voortdurend van sterkte, wij deden dan ook bij elke bepaling van de hoeveelheid reststikstof een vergelijkingsproef of blinde proef en wel op deze wijze, dat in plaats van verasschingsvloeistof werd genomen evenveel sterk zwavelzuur als bij de verassching gebruikt was, en dat was 1 ccm sterk zwavelzuur met 1 druppel 5 %'s kopersulfaatoplossing, en vervolgens 50 ccm gedestilleerd water, waarna geheel op dezelfde wijze werd gehandeld als bij de eigenlijke titratie en dus hypobromiet werd toegevoegd enz. Het verschil in uitkomst van de beide titraties beantwoordt dus aan het verschil in hoeveelheden jodium, vrijgekomen bij de blinde proef en bij de eigenlijke proef. Wanneer wij de boven beschreven vergelijkingen bezien, dan kunnen wij gemakkelijk nagaan, dat elk molecuul natriumhypobromiet beantwoordt aan $^2/_3$ atoom stikstof en anderzijds aan 2 atomen jodium. Een atoom jodium beantwoordt dus aan $^1/_3$ atoom stikstof. Onze thiosulfaatoplossing was 0,1 N. van sterkte en beantwoordde dus aan 0,1 N. jodiumoplossing en dus per ccm aan 14 : 30 mg stikstof is 0,4667 mg. IWATSURU zegt, dat 1 ccm 0,1 N. thiosulfaatoplossing „erfahrungsgemäsz" beantwoordt aan 0,4655 mg

stikstof. Dit laatste getal heb ik bij mijn berekeningen gebruikt.

Deze werkwijze is door IWATSURU op haar betrouwbaarheid getoetst. Hij deed dit onderzoek door uit te gaan van zuiver ammoniumsulfaat, waarvan hij een oplossing maakte, die per ccm 0,04667 mg stikstof bevatte. Hij deed nu een aantal analyses met 2 ccm van deze oplossing en vond de volgende uitkomsten: Voor de blinde proeven ccm thio 2,350, 2,355, 2,355; thiosulfaat 0,02 N.

Voor de eigenlijke titraties gebruikte hij:
1,365, 1,360, 1,365, 1,365 ccm; thiosulfaat 0,02 N.

Wanneer wij het gemiddelde nemen van de uitkomsten van de blinde proeven, nl. 2,353 ccm, dan vinden wij voor de vier bepalingen de volgende vier verschillen:
0,988, 0,993, 0,988, 0,988 ccm; thiosulfaat 0,02 N.

Deze verschillen beantwoorden aan de volgende hoeveelheden stikstof: 0,0920, 0,0925, 0,0920, 0,0920 mg stikstof, terwijl de berekende waarde is 0,0932. Hierbij dient opgemerkt te worden, dat voor deze berekende waarde het theoretische, uit de formules af te leiden getal is gebruikt, terwijl voor de berekening van de analyses de practische waarde, door IWATSURU „erfahrungsgemäsz" genoemd, gebruikt is. In procenten berekend zijn de uitkomsten van IWATSURU dus: 98,6, 99,2, 98,6, 98,6 %.

Deze uitkomsten zijn dus werkelijk zeer bevredigend te noemen. Op dezelfde wijze als IWATSURU dat gedaan heeft, heb ik ook met oplossingen van zuiver ammoniumchloride de betrouwbaarheid van de hypobromiet-werkwijze getoetst. De uitkomsten, die ik verkreeg, waren van dezelfde orde als die van IWATSURU, de afwijkingen waren een enkele maal iets grooter.

Deze werkwijze heb ik bij mijn onderzoek voortaan steeds gebruikt, waarbij ik ter contrôle elke bepaling steeds in duplo deed. Zooals boven uiteengezet, deed ik mijne bepalingen aanvankelijk bij acht verschillende reacties. Elk bloedmonster gaf dus bij deze wijze van werken aanleiding tot 32 bepalingen van de hoeveelheid reststikstof, nl. wanneer ik ook vóór de vertering bij alle acht reacties de hoeveelheid reststikstof in dubbelbepalingen vaststelde. Ook bij het aanvankelijk ge-

bruik van het boven beschreven toestel, waarbij uit acht buisjes tegelijk de ammoniak door één en denzelfden luchtstroom kon worden overgedreven en dus het afzonderlijke afdestilleeren van den ammoniak verviel, gaf toch elk bloedmonster een zoo groote hoeveelheid arbeid, dat het mij op den duur niet mogelijk bleef, het onderzoek op deze wijze voort te zetten, wilde ik tenminste een niet al te klein aantal monsters bloed onderzoeken. Ik moest dus wel den gang van het onderzoek eenigermate vereenvoudigen en heb dat op deze wijze gedaan, dat ik het aantal reacties, waarbij de eiwitsplitsing in het bloed onderzocht werd, van acht tot op vier terugbracht, Zooals boven gezegd, waren de acht reacties de volgende:

P_h gelijk 2,6, 3,9, 5,7, 6,8, 7,0, 7,9, 10,4 en 11,1.

De vier reacties, waarbij ik tenslotte nog onderzocht, zijn de volgende:

P_h gelijk 2,6, 5,7, 7,0, 11,1.

De uitkomsten van de eerste proefreeksen, waarbij bij acht reacties werd onderzocht, waren zoodanig, dat ik meende, dat het nadeel door de acht reacties tot op vier te beperken niet al te groot zou zijn, hoewel natuurlijk van te voren niet valt te zeggen, wat men onder verschillende omstandigheden in het bloed zou vinden. Maar hoe dan ook, om practische redenen werd ik wel tot deze beperking genoodzaakt.

b. DE VERKREGEN UITKOMSTEN

Wij laten nu in de volgende tabel de uitkomsten van ons onderzoek volgen. Er zij nog even op gewezen, dat hierbij steeds vóór dat trichloorazijnzuur voor onteiwitten werd toegevoegd, de vloeistoffen die door de verschillende phosphaatmengsels zeer uiteenloopende reacties hebben, steeds tot op een en dezelfde reactie werden teruggebracht. Dit werd bereikt door, al naar dat noodig was, natriumhydroxydeoplossing toe te voegen, tot de reactie steeds die van P_h gelijk 11,1 was geworden. In alle vloeistoffen zat dus evenveel phosphaat en was de reactie volkomen dezelfde. De gang van het onderzoek is overigens boven reeds voldoende uiteengezet.

De uitkomsten, die ik verkregen heb, zijn in de volgende tabel IV samengebracht. Daarbij zijn eerst vermeld de uitkomsten, verkregen bij zeven gezonde personen; van den eersten persoon is het bloed nog bij acht verschillende reacties onderzocht.

Vervolgens zijn de uitkomsten opgegeven, die verkregen zijn bij gravidae en bij een vijftal puerperae. Het bloed van één geval van ecclampsie heb ik ook kunnen onderzoeken. Dan volgen de uitkomsten verkregen bij een viertal lijders aan de ziekte van Basedow en verder bij zeventien gevallen van carcinoma. Dan volgen nog uitkomsten, gevonden in het bloed van een vijftiental lijders aan verschillende andere ziekten, zooals tuberculose, één geval van de ziekte van Hodgkin, een paar gevallen van diabetes mellitus, één geval van anaemia perniciosa en nog enkele andere.

TABEL IV

Eiwitsplitsende werking van het bloed bij gezonden en zieken. Reststikstof per 100 ccm bloed in mg bij wisselende reacties.

		P_h 2,6	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
1.									
Gezond, 31 Aug., 1928	A	41,50	33,89	46,02	43,19	38,96	38,10	35,87	42,35
	B	71,43	53,64	70,59	78,78	92,61	59,29	45,17	56,46
	C	29,93	19,75	24,57	35,59	53,65	21,19	9,3	14,11
2.									
Gezond, 27 Mei, 1929	A	64,93		59,29		56,47			64,93
	B	87,52		70,58		81,88			84,70
	C	22,59		11,29		25,41			19,77
3.									
Gezond, 28 Mei, 1929	A	70,58		74,94		81,88			97,40
	B	101,64		93,36		118,57			100,23
	C	31,06		18,42		36,69			2,83
4.									
Gezond, 1 Juni, 1929	A	62,12		69,17		70,58			79,05
	B	76,22		70,58		76,22			79,05
	C	14,10		1,41		5,64			0,0
5.									
Gezond, 14 Juni, 1929	A	100,34		110,10		101,64			87,52
	B	124,22		138,33		142,16			112,93
	C	23,88		28,23		40,52			25,41

		P_h 2,5	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
6.									
Gezond, 15 Juni, 1929	A	62,11		79,05		67,76			76,24
	B	110,10		104,46		118,58			90,34
	C	47,99		25,41		50,82			14,10
7.									
Gezond, 17 Juni, 1929	A	67,76		68,46		69,17			73,41
	B	104,46		84,70		107,29			73,41
	C	36,70		16,24		38,12			0,0
8.									
Gravida, 11 Sept., 1928	A	33,32	27,12	33,32	30,50	27,67	21,19	49,42	60,71
	B	166,5	79,06	143,15	151,90	290,00	131,35	63,53	52,24
	C	133,18	51,94	109,83	121,40	262,33	110,16	14,11	0,0
9.									
Gravida, bloedsdrukking	A	31,05		35,29		30,35			31,05
200 geen praeëcclampsie,	B	54,46		67,05		86,39			45,17
28 Nov., 1928	C	23,41		31,76		56,04			14,12
10.									
Gravida, 3 Dec., 1928	A	50,11		33,88		34,58			34,02
	B	86,11		53,64		64,38			117,30
	C	36,00		19,76		29,80			83,28
11.									
Gravida, ± 2 maanden,	A	45,03		31,70		65,48			62,12
8 Dec., 1928	B	71,99		49,40		65,63			62,82
	C	26,96		17,70		0,15			0,70
12.									
Puerpera, verhoogde	A	116,6		57,91		62,12			77,64
bloedsdrukking, 2 October,	B	136,6		177,90		208,90			110,10
1928	C	20,0		119,99		146,78			32,46
13.									
Puerpera, 24 Oct., 1928	A	18,91		14,52		9,32			19,19
	B	49,40		52,23		116,30			47,43
	C	30,49		37,71		106,98			28,24
14.									
Puerpera, 11 Nov., 1928	A	69,17	56,47	130,75	118,01	76,22	42,35	40,94	93,48
	B	108,69	101,63	104,48	164,70	116,33	73,98	66,98	87,95
	C	39,52	45,16	0,0	46,69	40,11	31,63	26,04	0,0
15.									
Puerpera, verhoogde	A	43,76		72,70		38,11			48,00
bloedsdrukking, 21 Nov.,	B	67,20		82,43		103,80			51,53
1928	C	23,44		9,73		65,69			3,53
16.									
Puerpera, 26 Nov., 1928	A	33,18		36,71		40,79			47,30
	B	72,69		66,35		39,53			44,89
	C	39,51		29,64		0,0			0,0

		P_h 2,6	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
17. Ecclampsie, 20 Nov., 1928	A	36,71		21,88		43,77			62,12
	B	88,79		97,26		104,00			37,41
	C	52,08		75,38		60,23			0,0
18. Ziekte van Basedow, 16 Aug., 1928	A	48,05	72,0	70,6	74,90	57,30	70,90	50,20	75,00
	B	112,90		87,60	86,20	90,40	91,80	76,25	75,00
	C	64,85		17,00	11,30	33,10	20,90	26,05	0,0
19. Ziekte van Basedow, 1 Nov., 1928	A	52,23		42,35		43,77			53,08
	B	80,46		57,86		71,43			50,88
	C	28,23		15,51		27,66			0,0
20. Ziekte van Basedow, 6 Nov., 1928	A	91,47		80,46		81,88			71,99
	B	144,0		80,46		118,60			99,19
	C	52,53		0,0		36,72			27,20
21. Ziekte van Basedow, 6 November, 1928	A	35,58		18,35		25,69			87,52
	B	162,3		124,5		80,46			64,93
	C	126,72		106,15		54,77			0,0
22. Carcinoma recti, 13 Aug., 1928	A	76,40	70,99	73,99	73,99	73,41	77,70	78,90	86,10
	B	110,0	132,80	94,45	95,65	97,90	104,45	63,57	58,40
	C	33,60	61,81	20,46	21,66	24,49	26,75	0,0	0,0
23. Carcinoma recti, 16 Aug., 1928	A	73,40	64,95	81,45	83,30	56,45	60,70	59,30	64,95
	B	91,75	112,95	110,20	110,10	110,10	113,15	82,30	69,15
	C	18,35	48,00	28,75	26,85	53,65	52,45	23,00	4,20
24. Carcinoma ventriculi, 25 Aug., 1928	A	61,27	49,99	52,24	50,83	49,33	51,53	48,70	68,47
	B	77,65	76,23	83,28	98,82	110,92	64,93	50,82	69,18
	C	16,38	26,24	31,04	47,99	61,59	13,40	2,12	0,71
25. Carcinoma vesicae urinariae, 27 Aug., 1928	A	50,86	48,01	66,35	48,01	45,18	48,01	52,23	55,05
	B	114,15	70,59	74,46	86,11	98,81	79,55	53,65	56,46
	C	63,29	22,58	8,11	38,10	53,63	31,54	1,42	1,41
26. Carcinoma vesicae urinariae, 9 Oct., 1928	A	86,68	50,25	44,89	30,78	76,79	49,92	36,50	45,74
	B	81,88	37,55	64,94	43,20	93,45	187,2	65,50	47,44
	C	0,0	0,0	20,05	12,42	16,66	137,28	29,00	1,70
27. Carcinoma recti, 10 Oct., 1928	A	37,15	38,12	50,82	66,35	29,88	31,30	29,88	29,08
	B	135,5	98,81	66,54	77,65	70,59	64,94	53,07	57,88
	C	98,35	60,61	15,72	11,30	40,71	33,64	23,19	28,80

		P_h 2,6	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
28.									
Carcinoma mammae,	A	11,29		27,95		23,44			48,0
25 October, 1928	B	51,38		59,57		84,29			54,21
	C	40,09		31,62		60,85			6,21
29.									
Carcinoma vesicae urina-	A	45,17		35,29		31,05			28,24
riae, 4 Nov., 1928	B	121,40		59,29		66,35			26,82
	C	76,23		24,00		35,30			0,0
30.									
Carcinoma ventriculi, 10	A	57,31		36,13		46,02			52,94
Nov., 1928 zur cachectisch	B	141,7		92,60		127,40			69,16
	C	84,39		56,47		81,38			16,22
31.									
Carcinoma ventriculi,	A	72,84		69,16		67,19			59,00
15 Nov., 1928	B	271,00		152,50		139,50			93,17
	C	198,16		83,34		72,31			34,17
32.									
Carcinoma ventriculi,	A	44,76		55,80		52,23			55,06
15 Nov., 1928	B	63,23		88,94		106,15			55,48
	C	18,47		33,14		53,92			0,42
33.									
Carcinoma recti,	A	59,29		73,41		69,17			55,06
17 November, 1928	B	94,58		76,93		87,52			85,41
	C	35,29		3,52		18,35			30,35
34.									
Carcinoma prostatae,	A	49,96		41,22		39,53			—
17 November, 1928	B	83,28		67,06		66,35			56,46
	C	33,32		25,84		26,82			—
35.									
Carcinoom van het colon,	A	23,16		36,79		26,12			35,29
23 November, 1928	B	74,49		46,87		79,75			49,13
	C	51,33		10,08		53,63			13,84
36.									
Carcinoma recti, 24 Nov.,	A	39,94		39,53		47,30			63,52
1928	B	61,40		66,35		69,69			42,35
	C	21,46		26,82		22,39			0,0
37.									
Carcinoma ventriculi,	A	33,84		37,42		38,11			49,40
27 Nov., 1928	B	92,60		154,10		196,20			67,05
	C	58,76		116,68		158,09			17,65
38.									
Carcinoma vesicae urina-	A	41,67		50,82		58,59			63,52
riae, 30 Nov., 1928	B	113,80		69,16		88,94			70,59
	C	72,13		18,34		30,35			7,07

		P_h 2,6	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
39.									
T.B.C. urogenitalis met multiple koude abscessen, 5 Juni, 1928	A	58,59	54,83	43,55	43,06	49,49	50,58	46,58	30,57
	B	103,59	121,30	70,72	82,48	86,61	101,89	68,17	65,62
	C	45,00	66,47	27,17	39,42	37,12	51,31	21,59	35,05
40.									
Periproctitis t.b.c. fistulosa, 25 Sept., 1928	A	24,00	26,26	21,18	25,42	24,01	42,35	22,02	46,30
	B	86,68	76,79	86,68	107,57	85,76	79,91	52,23	59,29
	C	62,68	50,53	65,50	82,15	61,75	37,56	30,21	12,99
41.									
T.b.c. pulmonum, 15 Mei, 1929	A	66,35		67,48		50,82			45,17
	B	67,76		86,20		148,22			52,94
	C	1,41		18,72		97,40			7,77
42.									
Lymphogranulomatosis, (Hodgkin), 29 Nov., 1928	A	51,53		55,76		46,45			50,68
	B	107,30		104,00		121,30			66,35
	C	55,77		48,24		74,85			15,67
43.									
Endocarditis septica, 19 Nov., 1928	A	136,70		153,80		134,20			205,40
	B	163,70		228,70		243,40			203,40
	C	27,00		74,90		109,20			0,0
44.									
Sepsis, 13 Mei, 1929	A	62,12		50,82		67,76			79,05
	B	136,92		150,34		207,51			83,90
	C	74,80		99,52		139,75			4,85
45.									
Polyarthritis rheumatica, 8 Mei, 1929	A	50,11		40,24		59,29			47,29
	B	89,64		86,11		102,34			97,64
	C	39,53		45,87		43,05			50,35
46.									
Ulcus ventriculi, 16 April, 1929	A	74,82		66,35		54,90			48,70
	B	106,57		79,05		80,46			67,76
	C	31,75		12,70		25,56			19,06
47.									
Cholelithiasis, 4 Maart, 1929	A	50,82		71,99		81,88			67,76
	B	79,05		86,11		83,28			71,99
	C	28,23		14,12		1,40			4,23
48.									
Diabetes Mellitus, 19 Februari, 1929	A	81,63		72,70		93,17			73,41
	B	112,93		132,69		151,04			101,64
	C	31,30		59,99		57,87			28,23
49.									
Diabetes Mellitus, 25 Februari, 1929	A	62,82		67,76		70,58			79,05
	B	67,76		79,05		91,05			81,88
	C	4,94		11,29		20,47			2,83

		P_h 2,6	P_h 3,9	P_h 5,7	P_h 6,8	P_h 7,0	P_h 7,9	P_h 10,4	P_h 11,1
50.									
Uraemie, 16 Sept., 1928	A	63,84	57,03	52,51	50,64	42,91	46,53	43,48	52,86
	B	91,19	85,26	82,44	101,90	103,35	64,93	66,63	82,44
	C	27,35	28,23	29,93	51,26	60,44	18,40	23,15	29,58
51.									
Hypertrophia prostatae,	A			Gemiddeld		46,63			
15 Mei, 1928	B	69,95		75,00	79,42	79,42	62,78		100,75
	C	23,32		28,37	32,79	32,79	16,15		54,12
52.									
Nephritis, 24 Mei, 1929	A	38,11		56,47		45,17			59,29
	B	81,88		98,81		93,17			86,11
	C	43,77		42,34		48,00			26,82
53.									
Anaemia perniciosa,	A	101,64		48,0		40,82			47,29
9 April, 1929	B	128,46		50,11		79,05			60,70
	C	26,82		2,11		38,23			13,41

In de eerste plaats moeten wij de uitkomsten, verkregen bij gezonden, eens nader beschouwen.

Allereerst zij nog opgemerkt, dat alle bepalingen steeds dubbel werden gedaan. De overeenkomst in de uitkomsten is over het algemeen, de moeilijkheden van het onderzoek met betrekkelijk zoo kleine hoeveelheden bloed in aanmerking genomen, tamelijk bevredigend te noemen.

Echter werden van tijd tot tijd, zonder dat daarvoor een bijzondere oorzaak zou kunnen worden opgegeven, groote en soms wel zeer groote afwijkingen gevonden. Nu is de wijze van werken ook niet zoo heel eenvoudig, maar eenigszins omslachtig en er zijn ongetwijfeld een aantal mogelijke bronnen van fouten. Toen wij met dit onderzoek in het Laboratorium te Utrecht bezig waren, kwam toevallig een Americaansch onderzoeker het Laboratorium bezichtigen, nl. S. Morgulis en deze stelde bijzonder belang in ons onderzoek, vooral, omdat hij ook zelf dergelijke onderzoekingen had gedaan. Ook hij had, zooals hij ons mededeelde, van tijd tot tijd groote afwijkingen bij zijn dubbele analyses, waarvoor ook hij geen verklaring wist te geven. Hij vermoedde, dat een groote bron van fouten zou gelegen zijn in het niet steeds

nauwkeurig regelen van de reactie, vóórdat het hypobromiet wordt toegevoegd. Wanneer het trichloorazijnzuur-filtraat met zwavelzuur verascht is, wordt dit met gedestilleerd water verdund en met sterke natronloog ten opzichte van methylrood „geneutraliseerd". Vervolgens wordt met verdund zwavelzuur de reactie weer zoodanig veranderd, dat het methylrood weder juist van kleur naar den zuren kant is omgeslagen. Vervolgens wordt volgens RYUZO IWATSURU weder 1 ccm 0,1 N. oplossing van natriumhydroxyde toegevoegd Dit is dus wel een eigenaardige opeenvolging van bewerkingen, waarvan de bedoeling ongetwijfeld deze is, om ten slotte een zeer bepaalde reactie van de vloeistof te verkrijgen. Het laat zich denken, dat het toch niet steeds gelukt, om de gewenschte reactie nauwkeurig te bereiken en MORGULIS meent, dat hierin de voornaamste bron van fouten gelegen zou zijn. Hoe dit zij, zeker is het, dat niettegenstaande het zeer nauwkeurig opvolgen van de opgaven van IWATSURU van tijd tot tijd plotseling groote afwijkingen aan den dag treden. Aanvankelijk heb ik daardoor wel eens gevreesd, dat de betrouwbaarheid van de verkregen uitkomsten over het algemeen misschien niet zeer groot zou zijn. Wanneer wij nu evenwel de bij gezonde personen verkregen uitkomsten overzien, dan blijkt het toch, dat steeds deze uitkomsten groote overeenkomst vertoonen, ofschoon bij zieken herhaaldelijk uitkomsten van zeker geheel anderen aard werden verkregen. Naar mijne meening mogen wij uit deze regelmatigheid in de uitkomsten wel besluiten, dat de gevolgde werkwijze in onze handen tot voldoend betrouwbare uitkomsten heeft geleid.

HOOFDSTUK IV

BESCHOUWINGEN OVER DE VERKREGEN UITKOMSTEN

a. BIJ GEZONDEN. (HIERONDER TEVENS GRAVIDAE EN PUERPERAE)

Zooals boven reeds gezegd, zullen wij dus allereerst de uitkomsten, verkregen bij gezonde personen, nader beschouwen. Daarbij willen wij dan letten op twee zaken en wel in de eerste plaats op de sterkte van de eiwitvertering en in de tweede plaats op den aard van de eiwitsplitsende enzymen.

Wat deze laatste zaak betreft, kunnen wij den aard der eiwitsplitsende enzymen slechts beoordeelen aan den invloed van de reactie op de sterkte der eiwitsplitsing, welke beoordeeld wordt naar de hoeveelheid gevormde reststikstof. In de inleiding is reeds uiteengezet, dat men met het beoordeelen van den aard van een eiwitsplitsend enzym uit de ligging van de meest gunstige reactie van de werking, zeker wel voorzichtig moet zijn; ja, zelfs is daar gezegd, dat het niet onmogelijk zou zijn, dat er slechts één eiwitsplitsend enzym bestaat en dat dit al naar omstandigheden en de aanwezige bijmengselen nu eens bij deze, dan bij die reactie het krachtigst werkt. Doch dit is slechts een vaag vermoeden. Maar hoe dit alles ook zij, zeker is het, dat een verder onderzoek naar de wijze van eiwitsplitsing en naar den aard der gevormde ontledingsproducten zeer gewenscht zou zijn. Maar het behoeft hier niet te worden uiteengezet, dat zulk een onderzoek voor mij geheel ondoenlijk zou zijn geweest. Ik zou dan hoogstens een enkel bloedmonster hebben kunnen onderzoeken, terwijl het juist mijn bedoeling was, na te gaan, in hoeverre een onderzoek naar het eiwitsplitsend vermogen van het bloed

voor de kliniek van waarde zou zijn en voor dit doel moest ik een groot aantal bloedmonsters onderzoeken.

Wat nu in de eerste plaats de sterkte van de eiwitvertering betreft in het bloed van gezonden, zoo blijkt het, dat deze sterkte bij de onderzochte gezonde personen zeer sterk uiteenloopt.

Bij mijn zeven onderzochte gezonde proefpersonen liep de hoeveelheid reststikstof per 100 ccm bloed uiteen van ongeveer 35 tot 110 mg stikstof. De hoeveelheid stikstof, vrij gekomen onder den invloed van eiwitsplitsend enzym in het bloed bij 37°, na behandeling met chloroform in 24 uren, loopt uiteen van 5,6 tot 53,6 mg per 100 ccm bloed, althans wanneer wij de uitkomsten nemen, verkregen bij ongeveer neutrale reactie. Wij zien dus, dat bij de zeven onderzochte gezonde personen de waarden voor de eiwitvertering sterk uiteenloopen. Bij graviditeit en bij zieken vinden wij echter soms veel grootere afwijkingen.

Welke is nu de invloed van de reactie op de sterkte van de eiwitsplitsing in het bloed? Het bloed van één gezonde heb ik bij acht reacties onderzocht, van de overige zes bij vier reacties, nl. bij een reactie P_h gelijk 2,6, 5,6, 7,0 en 11,1.

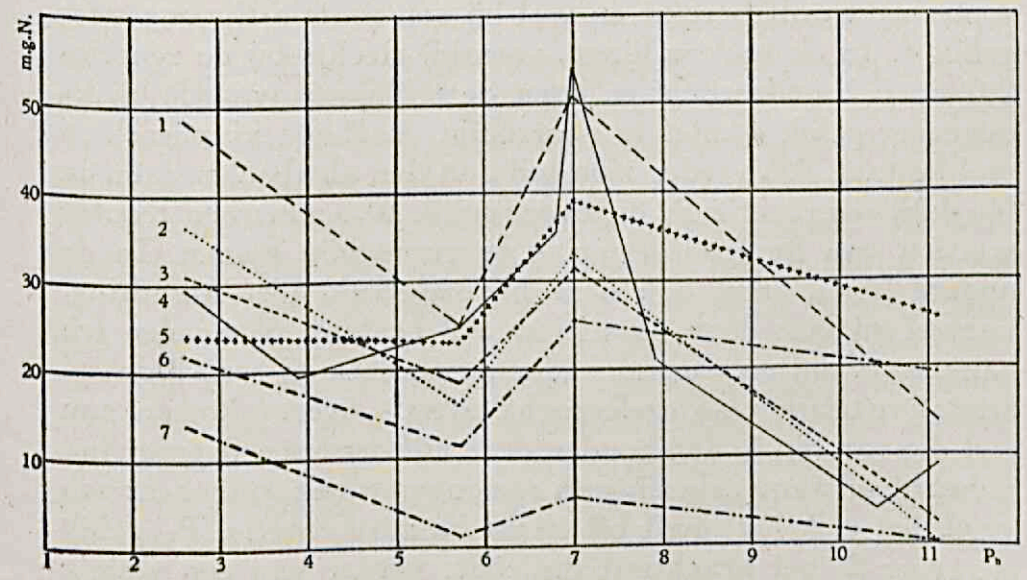

Fig. 2. Eiwitsplitsende werking van het bloed van 7 gezonden, in tabel IV genummerd 1 t/m 7, weergegeven naar de vermeerdering van de reststikstof in m.gr. per 100 cc bloed bij verschillende reacties, na 24 uur op 37°.

In figuur 2 zijn de uitkomsten graphisch voorgesteld, op de abscis is de reactie, nl. de P_h afgezet, op den ordinaat het aantal mg stikstof, dat bij de eiwitvertering per 100 ccm bloed is vrijgekomen. De zeven verschillende lijnen geven de uitkomsten, verkregen bij de zeven onderzochte gezonde proefpersonen weer. Hoewel nu de lijnen op verschillende hoogten liggen door de verschillend sterke eiwitsplitsing bij de verschillende personen, vertoonen zij alle zeven een treffende overeenkomst in het beloop. Wij zien nl. bij meest zure reactie een vrij sterke eiwitsplitsing, die dan bij minder zure reactie aanmerkelijk geringer wordt, maar merkwaardigerwijze bij ongeveer P_h gelijk 6, weer zeer sterk gaat toenemen, om bij ongeveer neutrale reactie een toppunt te bereiken. Naar den alcalischen kant wordt dan de eiwitvertering weder spoedig geringer, soms zelfs in zeer sterke mate, zoodat zelfs bij een reactie P_h gelijk 11 eiwitvertering nagenoeg geheel onderdrukt is. Het bloed van den eersten proefpersoon is bij acht reacties onderzocht en de graphische voorstelling van de hierbij verkregen uitkomsten geeft nog eenige bijzonderheden.

Zoo zien wij in deze lijn 4 dat bij het kleiner worden van den zuurgraad weldra een kleinste waarde voor de eiwitvertering wordt bereikt en wel bij een reactie P_h ongeveer gelijk 4. In de andere lijnen, waarbij slechts bij de reacties 2,6 en 5,7 onderzocht is, komt deze kleinste waarde bij P_h ongeveer gelijk 4, niet te voorschijn, ofschoon zij misschien wel bestaat. En verder zien wij aan den alcalischen kant in lijn 4 bij een reactie P_h ongeveer gelijk 10,5 weer een grooter worden van de eiwitvertering te voorschijn komen. In de andere lijnen komt ook deze bijzonderheid niet tot uiting, hoewel zij ook daar misschien wel bestaat. Wanneer wij aannemen, dat de vorm der lijnen, wanneer bij een voldoend aantal reacties was onderzocht, steeds overeenkomen zou met die van lijn 4, dan zouden deze uitkomsten wijzen op het in het bloed aanwezig zijn van een enzym van pepsineachtigen aard, hetwelk het eiwit bij vrij sterk zure reactie, P_h gelijk ongeveer 2, het krachtigst ontleedt; verder van een weinig van een enzym van trypsineachtigen aard, hetwelk het eiwit het krachtigst ontleedt bij vrij sterk alcalische reactie, P_h

gelijk ongeveer 10 of 11, maar ten slotte van een enzym, hetwelk het krachtigst werkt bij neutrale reactie, Ph gelijk ongeveer 7. Men zou de veronderstelling kunnen opperen, dat de stijgingen van de lijnen naar den zuren kant en ook een weinig naar den uitersten alcalischen kant, te wijten zouden kunnen zijn aan een eiwitsplitsing door de H-ionen of de OH-ionen zelve. Dit lijkt evenwel zeer onwaarschijnlijk, want wanneer wij in de verhandeling van W. E. RINGER en Mej. B. W. GRUTTERINK „Einflusz der Reaktion auf die Eiweisz verdauende Kraft des Papains" de figuur op blz. 318 zien [1]), dan blijkt het, dat de invloed van de H-ionen op de eiwitsplitsing zelfs bij een reactie, waarbij P_h nog kleiner is dan $2\frac{1}{2}$ nog maar zeer gering is en dat ook bij een alcalische reactie bij een P_h van omstreeks 11 door de OH-ionen nog maar een zeer geringe eiwitsplitsing tot stand komt. De krachtige eiwitsplitsing bij ongeveer neutrale reactie in het bloed is wel zeer eigenaardig. Wij kennen geen eiwitsplitsend enzym, hetwelk eiwitstoffen bij neutrale reactie krachtig splitst. Weliswaar vonden W. E. RINGER en Mej. B. W. GRUTTERINK, dat een plantaardig eiwitsplitsend enzym fibrine, bij aanwezigheid, in niet te geringe concentratie, van electrolyten, het krachtigst oplost bij ongeveer neutrale reactie, maar de eiwitstoffen van het bloedserum werden door dit enzym, nl. papaïne, het krachtigst gesplitst bij zure reactie; wel niet zoo sterk zuur als voor pepsine gewenscht is, maar bij een reactie P_h gelijk ongeveer 4. Van de eiwitsplitsende enzymen, die bij de autolyse een rol spelen, geven de onderzoekers op, dat zij het krachtigst eiwit splitsen bij zwakzure reactie. Uit onze uitkomsten volgt dus, dat bij de reactie, zooals die in bloed en in weefsels heerscht, een vrij krachtige eiwitsplitsing mogelijk is, hetwelk zeker ook doelmatig zou zijn. En wanneer een krachtige eiwitsplitsing mogelijk is, is aan den anderen kant ook, wanneer de omstandigheden daartoe leiden, onder den invloed van hetzelfde enzym een krachtige vorming van eiwit mogelijk. Onze vondst pleit dus ook al weer voor het bestaan van autolyse in vivo, waaraan trouwens, zooals

---

[1]) W. E. RINGER en Mej. B. W. GRUTTERINK, Zeitschrift für Physiologische Chemie, deel 156, 1926, blz. 275.

in de inleiding uiteengezet is, wel niet meer behoeft te worden getwijfeld.

Men zou misschien nog kunnen opmerken, dat het eiwitsplitsend vermogen van het bloed is onderzocht, nadat dit met chloroform behandeld is en dat onder den invloed van dit antisepticum dit eigenaardige werkingsoptimum bij ongeveer neutrale reactie van de eiwitsplitsende enzymen in het bloed is te voorschijn gekomen. Wij weten, dat chloroform, hetwelk de oppervlaktespanning van waterige vloeistoffen aanzienlijk verkleint, de werking van enzymen in het algemeen remt. Of het ook invloed heeft op de ligging van de meest gunstige reactie is geheel onbekend, in alle geval heb ik het eiwitsplitsend vermogen van het bloed zonder toevoeging van chloroform niet kunnen onderzoeken, omdat het dan te zwak is. Maar nog eens, het lijkt zeer doelmatig en eigenlijk te verwachten, dat in bloed en weefsels vorming en ontleding van eiwit bij zoo ongeveer neutrale reactie krachtig kan plaats vinden.

In figuur 3 geeft lijn „n" het gemiddelde van de uitkomsten met het bloed van zeven onderzochte, gezonde personen verkregen.

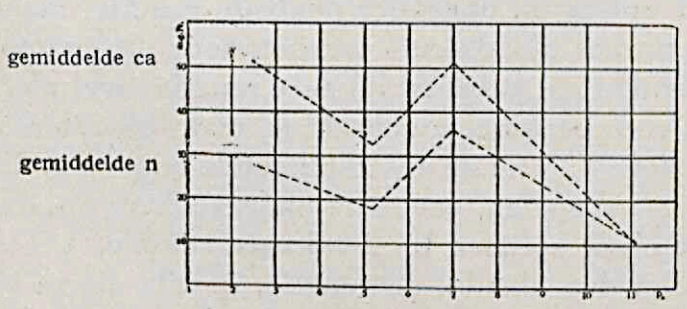

Fig. 3. Lijn n stelt voor de gemiddelde sterkte van eiwitsplitsing van het bloed van 7 gezonden. Lijn *ca* stelt voor de gemiddelde sterkte van de eiwitsplitsing van het bloed van 17 gevallen van carcinoma, in tabel IV genummerd 22 t/m 38. Dit bij 4 verschillende reacties en uitgedrukt in m.gr. stikstof.

Daarin komt dus niet tot uiting, dat waarschijnlijk bij een reactie P_h ongeveer gelijk 3,9 nog een kleinste waarde voorhanden is en dat waarschijnlijk bij een reactie P_h gelijk ongeveer 10,5 weer een zekere stijging van de lijn te voorschijn treedt. Wij leggen te meer nadruk op deze, bij gezonde personen ongetwijfeld geringe stijging, omdat bij zieken soms

een zeer sterke stijging in de lijn in dit gebied was gevonden.

Vatten wij dus samen, wat uit onze uitkomsten bij gezonde personen verkregen, is te besluiten, dan zouden wij kunnen zeggen, dat wij in het bloed zeer duidelijk een enzym van pepsineachtigenaard hebben gevonden, een klein weinig van een enzym van trypsineachtigen aard en verder een krachtige eiwitsplitsing bij ongeveer neutrale reactie, welke bij de tot dusver bekende eiwitsplitsende enzymen niet gevonden is.

Wij hebben er al meer op gewezen, dat wij uit het voorhanden zijn van verschillende voor de eiwitsplitsing gunstigste reacties niet met zekerheid willen besluiten, dat wij met evenveel verschillende enzymen te maken hebben, het zou kunnen zijn, dat hetzelfde enzym al naar de samenstelling van de vloeistof, bv. door het aangaan van verschillende verbindingen, niet steeds bij dezelfde reactie eiwit het krachtigst splitst.

Gaan wij nu over tot de beschouwingen van uitkomsten, verkregen bij de verdere onderzochte personen. In de eerste plaats willen wij dan in aansluiting aan de uitkomsten, verkregen bij gezonden die, verkregen bij gravidae nader bespreken.

Het bloed van vier gravidae konden worden onderzocht, één van de vier bloedmonsters heb ik bij acht reacties kunnen onderzoeken. De uitkomsten vindt men in tabel IV, onder de nummers 8, 9, 10 en 11 en zij zijn graphisch voorgesteld in figuur 4.

De uitkomsten laten zich in deze figuur het gemakkelijkst overzien. Wanneer wij deze figuur beschouwen, die op de helft van de schaal is gehouden, van de figuur, die betrekking heeft, op de uitkomsten, bij gezonden verkregen, dan treft het ons in de eerste plaats, dat de wisselingen in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij de verschillende reacties veel grooter zijn, dan bij de personen, waarop figuur 2 betrekking heeft. Bij neutrale reactie zijn deze verschillen al buitengewoon groot, wij vinden daar één waarde, ongeveer gelijk nul en één van ruim 262. Wat misschien nog meer belangwekkend is, is dat de vorm der lijn ook niet altijd meer overeenkomt met die van figuur 2.

Alleen de lijn G_1 vertoont nog het gewone beloop, nl. een top bij P_h gelijk ongeveer $2\frac{1}{2}$, een zeer hooge top bij P_h ongeveer gelijk 7 en een zeer geringe eiwitsplitsing bij een

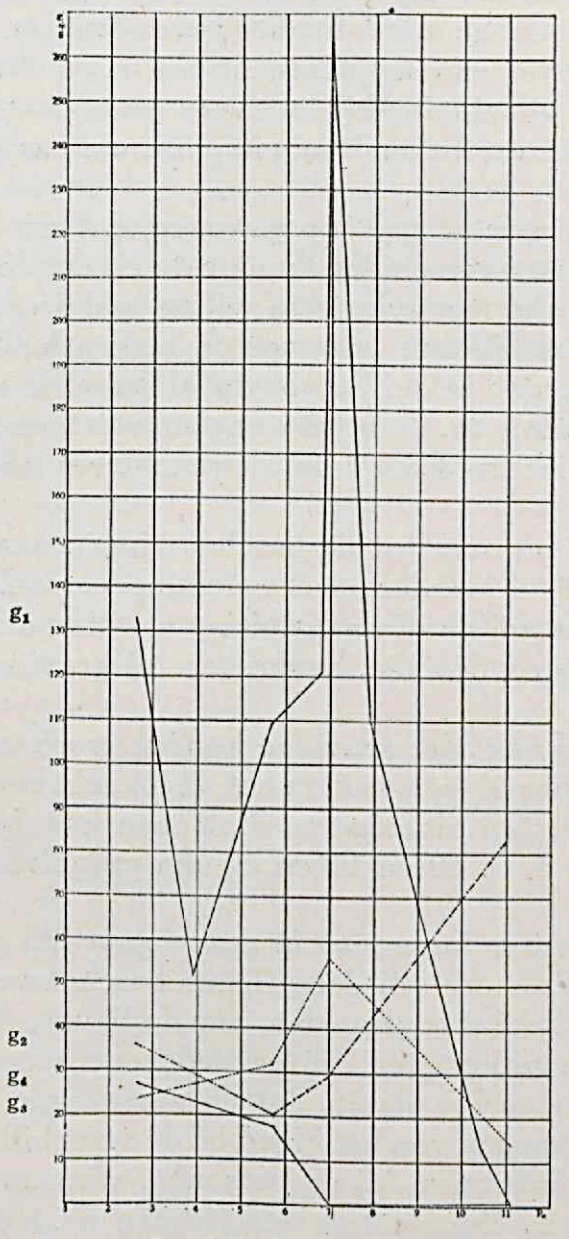

Fig. 4. Lijn g_1 stelt voor de eiwitsplitsende werking van het bloed van een gravida, in tabel IV genummerd 8, lijn g_2 die van het bloed van een gravida, in tabel IV genummerd 9, lijn g_3 die van het bloed van een gravida, in tabel IV genummerd 10, en lijn g_4 tenslotte die van een gravida, in tabel IV genummerd 11. De lijn g_1 verbindt de uitkomsten verkregen bij 8 verschillende reacties, de andere 3 lijnen de uitkomsten verkregen bij 4 reacties.

reactie P_h ongeveer gelijk 4. Het verschil met wat bij de zeven onderzochte gezonde personen is gevonden, is, dat de eiwitsplitsing bij deze gravida onvergelijkelijk veel krachtiger is. Ook van een tryptische werking is hier niets te bespeuren. Het beloop van de andere drie lijnen is echter van anderen aard, vooral de lijnen G_3 en G_4 laten een zeer eigenaardig beloop zien. Weliswaar zien wij hier nog duidelijk een pepsineachtige werking, maar de krachtige eiwitsplitsing bij neutrale reactie treedt hier geenszins op den voorgrond, ja in de lijn G_4 vinden wij zelfs bij neutrale reactie een eiwitsplitsing gelijk 0, die dan verder ook bij alcalische reactie 0 blijft. In lijn G_3 treedt zeer sterk de tryptische werking op den voorgrond, die, zooals wij zagen, bij gezonden slechts zeer weinig tot uiting komt. De lijn G_2 laat dan nog meer overeenkomst met het normale zien, vooral, wanneer bij een reactie P_h gelijk ongeveer vier nog een minimum mocht liggen, wat wij niet kunnen beoordeelen, omdat bij deze reactie niet onderzocht is. Opgemerkt zij nog, dat G_4 betrekking heeft op een gravida van twee maanden, de andere drie lijnen op gravidae, zoo ongeveer a terme. Hoewel slechts vier gevallen konden worden onderzocht, krijgt men toch zeer sterk den indruk, dat bij gravidae veel meer dan bij gewone gezonde personen wisselingen in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed voorkomen, waarbij bv. nu eens de eiwitsplitsing bij neutrale reactie buitengewoon sterk is, dan weer geheel ontbreekt; nu eens treedt een trypsineachtige werking zeer sterk op den voorgrond, dan weder wordt daar niets van gevonden en ook de pepsineachtige werking vertoont zeer sterke schommelingen. Het zou zeer zeker voorbarig zijn, uit deze weinige waarnemingen verdere besluiten te willen trekken of veronderstellingen te maken, omtrent de oorzaken van deze groote schommelingen. Het zou zeker zeer gewenscht zijn geweest, van elk bloed, hetwelk onderzocht is, ook het bloedbeeld vast te leggen en aanvankelijk had ik ook het voornemen dit te doen.

Het was echter voor mij zelf volstrekt onmogelijk, bij het vele werk, dat het onderzoek naar het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van mij vergde, ook nog telkens het bloedbeeld nauwkeurig na te gaan. Hoewel ik nog al het

mogelijke heb gedaan om voor dit toch zoo uitermate wenschelijke onderzoek van het bloedbeeld hulp te verkrijgen, is mij dit op den duur niet mogen gelukken en zijn in het geheel slechts ongeveer een tiental van al de onderzochte bloedmonsters in dit opzicht bestudeerd. Ik gevoel zeer goed, dat dit ontbreken van opgaven omtrent het aantal der verschillende vormelementen in het bloed een groote leemte is in mijn werk, maar het was mij niet mogelijk, hierin verbetering te brengen.

In aansluiting aan de uitkomsten, verkregen bij gravidae, zullen wij thans de uitkomsten, die wij hebben verkregen bij puerperae beschouwen. Een vijftal kon worden onderzocht en de uitkomsten, bij het onderzoek van het bloed verkregen, zijn in tabel IV onder de nummers 12 tot en met 16 vermeld. Ook van deze uitkomsten hebben wij een graphische voorstelling gemaakt, welke in figuur 5 is weergegeven.

In vergelijking met de lijnen van figuur 4, die betrekking

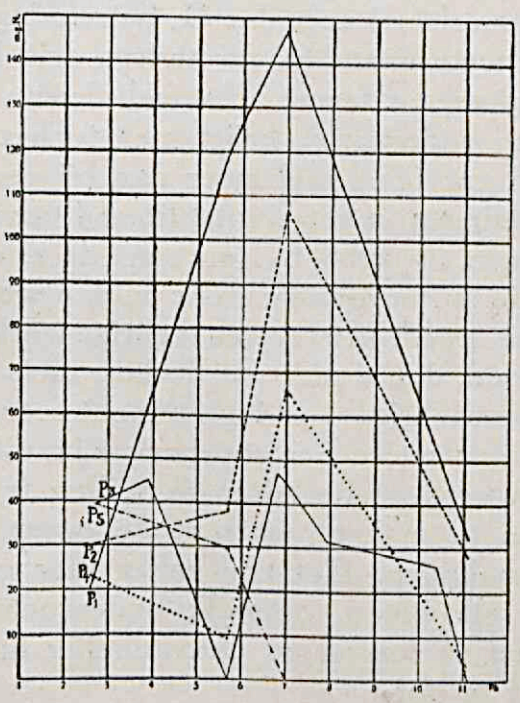

Fig. 5. Eiwitsplitsende werking van het bloed van 5 puerperae, waarbij lijn P_1 voorstelt de eiwitsplitsende werking van het bloed van een puerpera, in tabel IV genummerd 12, lijn P_2 die van een puerpera, in tabel IV genummerd 13, lijn P_3 die van een puerpera in tabel IV genummerd 14, lijn P_4 die van een puerpera genummerd in tabel IV, 15, en tenslotte lijn P_5 die van een puerpera in tabel IV genummerd 15. Dit weer bij 4 verschillende reacties.

hebben op de uitkomsten, verkregen bij gravidae, toont deze voorstelling groote overeenkomst. Ook hier weer aanzienlijke schommelingen in den graad der eiwitsplitsing, veel aanzienlijker dan bij normale personen. En voorts ook weer groote verschillen in den vorm der verschillende lijnen. Zien wij bij de gravidae nog een enkele maal een vrij sterk tryptische werking van het bloed, bij de puerperae vinden wij òf in het geheel geen tryptische werking òf een betrekkelijk zwakke. Een sterke stijging van de lijn aan den alcalischen kant vinden wij hier niet. Wij vinden in de lijn P_5 een type, juist zooals in figuur 4 in de lijn G_4, nl. niet alleen bij neutrale reactie geen top, maar zelfs in het geheel geen eiwitvertering. Verder blijft de lijn aan den alcalischen kant geheel de 0-lijn volgen. Sommige van die lijnen vertoonen een normaal uiterlijk, zooals de lijn P_4, P_2 en P_1, hoewel bij deze laatste twee lijnen het toppunt bij neutrale reactie wel weer zeer hoog ligt.

Over het algemeen vinden wij bij de puerperae dus, wat het eiwitsplitsend vermogen van het bloed betreft, overeenstemming met wat wij gevonden hebben bij de gravidae.

b. BIJ ZIEKEN

Wij komen thans aan de bespreking van de uitkomsten, verkregen bij een viertal lijders aan de ziekte van BASEDOW. Deze uitkomsten zijn in tabel IV vermeld onder de nummers 18 tot en met 21.

Het bloed van deze vier lijders is onderzocht, vóór dat zij geopereerd zouden worden; door de voorbehandeling, welke deze lijders hadden ondergaan, waren wellicht de stofwisselingsprocessen reeds eenigermate tot afneming gebracht.

Men zou kunnen vermoeden, dat bij lijders aan de ziekte van BASEDOW, waar de stofwisselingsprocessen over het algemeen zooveel sterker zijn dan bij normale menschen en waar zeker ook de eiwitomzet in het algemeen versterkt is, bij welken omzet eiwitsplitsende enzymen dan toch zeker wel in het spel zijn, ook in het bloed wellicht een versterkte eiwitontleding zou bestaan. Evenwel in het bloed van de door mij onderzochte lijders blijkt van een versterkte eiwitontleding niet veel. Wanneer wij de eiwitontleding bij neutrale reactie

bezien, dan vinden wij waarden tusschen 28 en 55 mg, welke waarden met die bij normale personen vrijwel overeenkomen. In het bloed van één van de onderzochte lijders vond ik een buitengewoon sterke peptische werking, de eiwitsplitsing bij een reactie P_h gelijk 2,6 bedroeg daar 127 mg. Dit is slechts één geval en wij kunnen dus niet te veel gevolgtrekkingen daaruit maken.

De tryptische werking was in alle vier de onderzochte bloedmonsters zeer gering, in drie gevallen zelfs geheel 0, in één 27 mg.

Behalve het eene geval, waarbij het bloed een zoo sterke eiwitontleding bij zure reactie liet zien, vertoonen de uitkomsten, verkregen met het bloed van lijders aan de ziekte van Basedow weinig bijzonders. Maar zooals gezegd, het aantal onderzochte gevallen is zeer klein en daarenboven is het niet onmogelijk, dat door de behandeling, welke de lijders reeds hadden ondergaan, de stofwisseling reeds niet meer zooveel versterkt was.

Van lijders aan boosaardige gezwellen, heb ik een grooter aantal kunnen onderzoeken. Van een zeventiental lijders aan carcinoma, meestal vrij ver gevorderde gevallen, heb ik het bloed op zijn eiwitsplitsend vermogen kunnen onderzoeken. De uitkomsten vindt men in tabel IV onder de nummers 22 tot en met 38. Bij een zestal lijders werd het bloed bij acht reacties onderzocht, bij de overige elf slechts bij vier. De uitkomsten, verkregen, in de zes gevallen, waarbij het bloed bij acht reacties is onderzocht, heb ik graphisch voorgesteld in de figuren 6 tot en met 11. Bij lijders aan boosaardige gezwellen, waarbij vooral in de verder voortgeschreden gevallen verval van weefsel wel steeds plaats vindt, zou men kunnen verwachten, dat het eiwitsplitsend vermogen van het bloed sterker is dan bij gezonden. Von Fürth zegt in zijn leerboek zooals boven op het eind van het eerste hoofdstuk reeds is aangehaald, dat het aan geen twijfel onderhevig is, dat het eiwitsplitsend vermogen van het bloedserum kan worden vergroot, steeds dàn, wanneer in het lichaam nieuwe cellen op grootere schaal dan normaal tot vernieling komen.

Wij zouden in dit verband ook nog kunnen denken aan de bekende uitkomsten van de onderzoekingen van Ernst

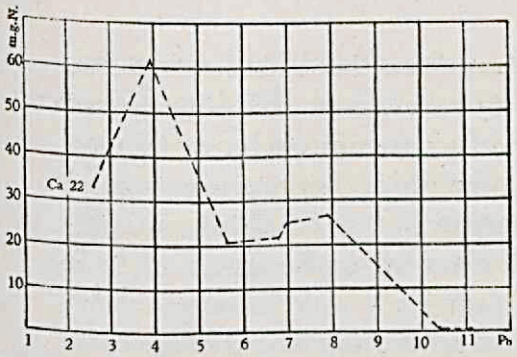

Fig. 6. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma recti, in tabel IV genummerd 22, bij 8 verschillende reacties.

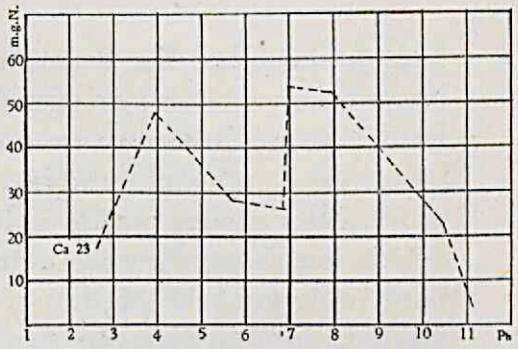

Fig. 7. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma recti, in tabel IV genummerd 23, bij 8 verschillende reacties.

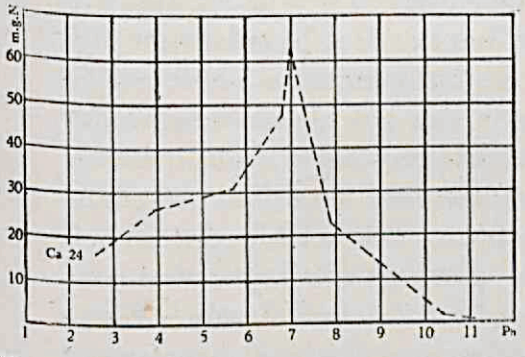

Fig. 8. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma ventriculi, in tabel IV genummerd 24, bij 8 reacties.

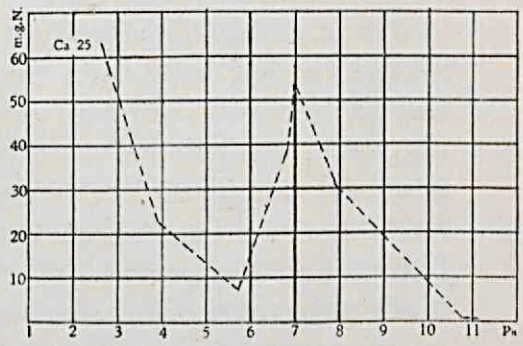

Fig. 9. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma vesicae urinariae, in tabel IV genummerd 25, bij 8 reacties.

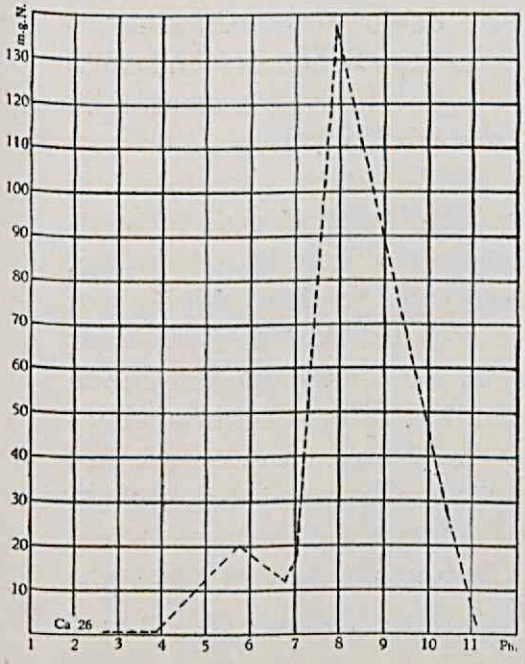

Fig. 10. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma vesicae urinariae, in tabel IV genummerd 26, bij 8 reacties.

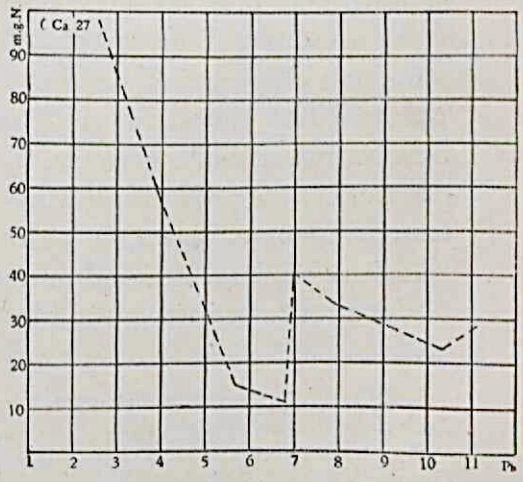

Fig. 11. Eiwitsplitsende werking van het bloed van een lijder aan carcinoma recti, in tabel IV genummerd 27, bij 8 reacties.

FREUND en GISA KAMINER [1]), die vonden, dat bloedserum van gezonde menschen kankercellen kan oplossen. Bij lijders aan kanker zou dit vermogen van het bloedserum verloren zijn gegaan. Het zou kunnen zijn, dat juist door het verloren gaan van dit vermogen van het bloedserum het gezwel tot ontwikkeling is gekomen en zoo schijnen FREUND en KAMINER zich de zaak ook voor te stellen. Men zou zich ook kunnen voorstellen, dat ten gevolge van de ontwikkeling van het gezwel het vermogen van het bloedserum, om gezwelcellen op te lossen, verloren is gegaan, dus bv. door een zich in sterke mate ontwikkelende „antitryptische werking".

Maar ofschoon bij lijders aan kanker het bloedserum dan niet meer het vermogen heeft, de kankercellen zelve op te lossen, het eiwitsplitsend vermogen van het bloedserum in het algemeen schijnt wel sterker te zijn geworden, althans volgens vele onderzoekers. Volgens de leer van EMIL ABDERHALDEN zou men moeten verwachten, dat het bloedserum bij lijders aan kanker inzonderheid sterker eiwitsplitsend zou werken op de eiwitstoffen van het kankerweefsel zelve. Naar mijne meening schijnt deze opvatting van EMIL ABDERHALDEN eenigszins in strijd met de uitkomsten van ERNST FREUND en GISA KAMINER, maar hoe dit zij, ook OTTO FÜRTH zegt in zijn leerboek op blz. 577 van het eerste deel, „dass mir die Annahme eines gesteigerten Gehaltes an tryptischen (wenn auch vielleicht nicht gerade spezifisch eingestellten) Fermenten im Serum von Tumorträgern als ausreichend begründet erscheint."

Wanneer wij de graphische voorstellingen van de uitkomsten, verkregen met het bloed van die zes lijders aan kanker, waarbij het bloed bij acht reacties kon worden onderzocht, beschouwen in de figuren 6 tot en met 11, dan zien wij, wat de sterkte der eiwitsplitsing betreft, dat de toppen der lijnen tamelijk hoog liggen, in enkele gevallen zelfs zeer aanmerkelijk hooger, dan gevonden werd in het bloed van de door mij onderzochte zeven gezonde personen. Zien wij dus, dat de

---

[1]) ERMST FREUND en GISA KAMINER, Biochemische Zeitschrift, deel 26, 1910, blz. 312; ibidem deel 149, 1924, blz. 245.

ERNST FREUND en GISA KAMINER, Biochemische Grundlagen der Disposition für Karzinome. Verlag J. SPRINGER 1925.

eiwitsplitsing over het algemeen krachtiger plaats heeft gevonden bij bepaalde reacties in het bloed der lijders aan kanker, ook het beloop der lijnen is over het algemeen meer wisselend van aard dan bij gezonden, evenals wij zulk een sterke wisseling ook vonden in de lijnen, die de eiwitsplitsing voorstelden bij verschillende reacties in het bloed van gravidae en puerperae.

De lijnen van figuur 9 en 11 komen nog het meest in hun beloop met dat van de lijnen van figuur 2, die betrekking hebben op het bloed van gezonde menschen, overeen. Toch is de eiwitsplitsing aan den sterk zuren kant, dus de eiwitsplitsing, die wij door pepsine veroorzaakt, kunnen veronderstellen, hier wel bijzonder sterk, vooral is dit het geval met het bloed van figuur 11.

Het geval, waarop figuur 9 betrekking heeft, was een carcinoma vesicae urinariae, het geval, waarop figuur 11 betrekking heeft, was een carcinoma recti. Ook de lijn van figuur 8 toont nog wel overeenkomst in haar beloop met dat van de lijnen van figuur 2, hoewel bij de gezonde personen de lijnen toch aan den zuren kant steeds vrij sterk naar boven gaan, terwijl de lijn van figuur 8 aan den zuren kant steeds daalt. De lijn van figuur 8 heeft betrekking op een geval van carcinoma ventriculi.

Het bloed, waarop figuren 6 en 7 betrekking hebben, had, zooals men ziet, een tamelijk sterke eiwitvertering bij een reactie P_h gelijk 4, hier vertoont de lijn een duidelijke top. In het bloed van gezonden heb ik bij deze reactie geenszins een bijzonder sterke eiwitsplitsing kunnen vinden. Bij deze reactie werkt pepsine maar zwak, het is echter de reactie, waarbij het plantaardig enzym van papaïne het krachtigst bloedserumeiwit ontleedt.

Ook de eiwitsplitsende enzymen van organen, zooals wij die bij de autolyse leeren kennen, schijnen bij deze of een dergelijke zwak zure reactie het krachtigst eiwitsplitsend te werken. Beide lijnen, zoowel van figuur 6, als van figuur 7, vertoonen dan bij omstreeks neutrale reactie weer een duidelijke stijging.

Het beloop van de lijn van figuur 10 is in zooverre eigenaardig dat bij de reacties P_h gelijk 2,6 en 3,9 geen eiwitsplit-

sing kon aangetoond worden, terwijl daarentegen bij een reactie P_h gelijk 7,9 een stuk maximum gevonden werd. In dit bloed was dus een pepsineachtige werking in het geheel niet waar te nemen. Wij zagen dat bij een reactie P_h gelijk 7,9 een top gevonden werd; het is zeer goed mogelijk, dat deze bijzonderheid zich bij meer gevallen voordoet, waar, zooals anders gewoonlijk, geen sterk maximum bij een reactie P_h gelijk 7,0 zich vertoonde, maar dat ik haar niet gevonden heb, om dat ik in den regel slechts bij vier reacties onderzocht. Wij moeten met de beoordeeling van de verschillende uitkomsten dus nog wel zeer voorzichtig zijn.

Van de overige elf gevallen van carcinoma, waarvan het bloed door mij is onderzocht kunnen worden, kan ik hier niet van elk een graphische voorstelling geven. Men vindt de uitkomsten in tabel IV. In no. 31 is aangegeven, dat hier het bloed van een lijder aan carcinoma ventriculi een zeer sterke pepsineachtige werking vertoont, de eiwitsplitsende werking neemt daar van sterk zure reactie naar den alcalischen kant geleidelijk af.

Wij hebben ten slotte het gemiddelde genomen van de waarden voor de eiwitsplitsende werking, door ons gevonden bij de vier reacties, P_h gelijk 2,6, P_h gelijk 5,7, P_h gelijk 7,0 en en P_h gelijk 11,1 in alle onderzochte gevallen van carcinoma. De aldus verkregen vier gemiddelde waarden zijn in figuur 3 graphisch voorgesteld en door een lijn vereenigd. In dezelfde figuur heb ik ook bij dezelfde vier reacties de gemiddelde waarden voor de sterkte der eiwitsplitsing in het bloed van gezonden gevonden, voorgesteld en ook deze punten door een lijn vereenigd. Voor zoover uit de waarnemingen bij deze vier reacties gedaan, te besluiten, zien wij, dat de lijn, betrekking hebbende op het bloed van kankerlijders aanmerkelijk boven de lijn ligt, die betrekking heeft op de uitkomsten, verkregen bij gezonden. Het verschil is werkelijk aanzienlijk bij sterk zure reactie en men zou hieruit dus geneigd zijn te besluiten, dat bij lijders aan kanker de pepsineachtige eiwitsplitsing van het bloed over het algemeen aanmerkelijk sterker is, dan dat in het bloed van gezonden het geval is. Naar den zwak zuren en neutralen kant wordt het verschil in hoogte der beide lijnen steeds geringer en bij sterk alcalische reactie,

P_h gelijk 11, vallen beide lijnen zelfs zamen. Daar onderscheidt de eiwitsplitsende werking van het bloed van kankerlijders zich dus in het geheel niet meer van die, in het bloed van gezonden, in het algemeen genomen tenminste.

Wij moeten hierbij echter goed in het oog houden, dat de eiwitsplitsende werking in het algemeen slechts bij vier reacties is onderzocht. In de weinige gevallen, waarbij het bloed van kankerlijders bij meer reacties onderzocht is kunnen worden, kwamen eigenaardigheden aan den dag, die misschien somtijds in het bloed van gezonden ook voorkomen, maar ik kan daarover niet oordeelen, omdat ik geen voldoende gegevens heb. Maar het zou kunnen zijn, dat bij lijders aan kanker genoemde bijzonderheden meer voorkomen dan bij gezonden. Wij zagen namelijk in de lijnen, die betrekking hebben op het bloed van kankerlijders, een enkele maal een top te voorschijn komen bij een reactie P_h gelijk 4. Wanneer dit werkelijk het geval zou zijn, zou dus de lijn, betrekking hebbende op de lijders aan kanker, bij sommige reacties nog meer dan nu het geval is, van de lijn betrekking hebbende op de uitkomsten bij gezonden, kunnen afwijken. Maar ook nu reeds hebben wij dus over het algemeen met de door ons gevolgde werkwijze in het bloed van lijders aan kanker een sterkere eiwitsplitsing gevonden dan in het bloed van gezonden en wel het meest bij sterk zure reactie.

Zooals men in de tabel IV kan zien, hebben wij verder nog het bloed kunnen onderzoeken van drie lijders aan tuberculose, nl. van het urogenitaal stelsel, van een periproctitis fistulosa tuberculosa en ten slotte een tuberculosis pulmonum.

Verder het bloed van een geval van lymphogranulomatosis of ziekte van HODGKIN, een geval van endocarditis septica, vervolgens een geval van sepsis, een polyarthritis rheumatcia, een geval van ulcus ventriculi, een geval van cholelithiasis, twee gevallen van diabetes mellitus, een geval van uraemie, een geval van hypertrophia prostatae, een geval van nephritis en ten slotte een geval van anaemia perniciosa.

Van de drie onderzochte tuberculosegevallen hebben wij van twee het bloed weder bij acht reacties kunnen onderzoeken. Hierdoor heb ik bij één van deze beide gevallen kun-

nen vaststellen, dat bij een reactie P_h gelijk 4, weder een top, die de lijn van het eiwitsplitsend vermogen in het bloed voorstelt, bestond. Zooals wij boven zagen, werd bij deze reactie ook in het bloed van twee andere zieken, waarbij eveneens vernieling van weefsel plaats vond, nl. bij kankerlijders, gevonden. Overigens schijnt het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de drie onderzochte lijders aan tuberculose ook al weer, evenals dat bij de lijders aan kanker het geval is, iets sterker te zijn, dan bij gezonden. Wij hebben echter slechts drie gevallen kunnen onderzoeken en wij kunnen dus niet veel besluiten.

Het bloed van den lijder aan de ziekte van HODGKIN gaf bij de vier reacties P_h gelijk 2,6, P_h gelijk 5,7, P_h gelijk 7,0 en P_h gelijk 11,1 de volgende waarden voor het eiwitsplitsend vermogen:

55,77, 48,24, 74,85 en 15,7.

Dit eiwitsplitsend vermogen is ongetwijfeld aan den hoogen kant; het beloop van de lijn, die het eiwitsplitsend vermogen voorstelt, bij verschillende reacties, is overigens vrijwel, zooals dat bij gezonden door mij is vastgesteld. Dit eenigszins versterkt eiwitsplitsend vermogen van het bloed is men wel geneigd bij deze ziekte te verwachten.

Wat de twee gevallen van sepsis betreft, hier vonden wij in het bloed eveneens een sterker eiwitsplitsend vermogen dan normaal, in het bijzonder bij neutrale reactie vonden wij groote waarden voor dit eiwitsplitsend vermogen. Ook dit is eigenlijk in overeenstemming met wat te verwachten is.

Het bloed van den lijder aan polyarthritis rheumatica, vertoont wat het eiwitsplitsend vermogen betreft, deze eigenaardigheid, dat dit eiwitsplitsend vermogen bij alle vier reacties ongeveer even sterk is. De lijn, die dit eiwitsplitsend vermogen zou voorstellen bij verschillende reacties, zou dus ongeveer horizontaal loopen. Deze bijzonderheid heb ik bij andere zieken niet gevonden, maar het gaat natuurlijk in het geheel niet aan, op grond van één onderzocht geval iets omtrent het voorkomen van deze bijzonderheid in het algemeen bij deze ziekte te besluiten.

Het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van den lijder aan ulcus ventriculi liet weinig bijzonders zien, bijzonder sterk

was het zeker niet, het sterkst was het nog aan den zuren kant, waar de eiwitontleding meer beteekende, dan bij neutrale reactie.

Het bloed van den onderzochten lijder aan cholelithiasis bezat slechts in geringe mate eiwitsplitsend vermogen en dan nog slechts alleen bij zure reactie. Bij alcalische reactie en zelfs reeds bij neutrale reactie vond ik in het geheel geen eiwitontleding in dit bloed. Of hier in het bloed inderdaad zoo weinig eiwitsplitsende enzymen aanwezig waren, dan wel of door een mogelijk gewijzigde samenstelling van het bloed hier een bijzonder sterke remming en dan vooral bij neutrale en alcalische reactie aanwezig was, kan ik natuurlijk niet uitmaken. Overigens zouden natuurlijk ook meer gevallen van deze ziekte moeten worden onderzocht.

Het bloed van twee lijders aan suikerziekte kon ik onderzoeken, het eene bezat al een zeer gering eiwitsplitsend vermogen, het duidelijkst nog bij neutrale reactie, waar ik een waarde van 20,5 mg vond. In het bloed van den anderen lijder vond ik in zooverre nog een bijzonderheid, dat bij zwak zure reactie, P_h gelijk 5,7 een vrij sterke eiwitsplitsing bleek te bestaan, zoodat in dit bloed dan ook niet bij neutrale reactie een duidelijk uitgesproken maximum in de eiwitontleding werd gevonden, maar deze sterke eiwitsplitsing zich over een zekere breedte naar den zuren kant uitstrekt. Het bloed van den lijder aan uraemie bezat een eiwitontleding van vrijwel normale sterkte. Het beloop bij verschillende reacties vertoont misschien in zooverre afwijking van dat bij gezonden, dat aan den meest zuren kant geen toeneming van den graad der eiwitsplitsing werd gevonden. Het bloed van de drie laatste in de tabel voorkomende onderzochte gevallen, nl. een geval van hypertrophia prostatae, van nephritis en ten slotte van anaemia perniciosa, vertoonden, wat het eiwitsplitsend vermogen betreft, weinig bijzonderheden. Het bloed van den lijder aan hypertrophia prostatae had bij sterk alcalische reactie nog het sterkste eiwitsplitsend vermogen, van het bloed van de laatste drie onderzochte lijders bij alle reacties. Bij genoemden lijder kan men dus weder van een vrij sterke tryptische werking van het bloed spreken. Het bloed van den lijder aan nephritis vertoonde bij verschillende reacties

ongeveer even sterk eiwitsplitsend vermogen, eerst aan den sterk alcalischen kant wordt dit duidelijk geringer. Maar nog eens, besluiten kunnen wij uit deze enkele gevallen van deze verschillende ziekten moeilijk trekken.

Wij willen nu ten slotte samenvatten, wat uit de door ons gedane onderzoekingen zou kunnen worden afgeleid.

HOOFDSTUK V

SAMENVATTING VAN DE UITKOMSTEN

1. Er werd een onderzoek verricht naar het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij verschillende reacties en bij gezonden en zieken.

2. Voor het onderzoek werd gebruikt een werkwijze door F. HIMMERICH aanbevolen, welke werkwijze door mij eenigszins werd gewijzigd en wel in de eerste plaats, doordat ik niet 0,1 ccm, maar 0,5 ccm bloed voor elke bepaling van de hoeveelheid reststikstof gebruikte en in de tweede plaats, doordat ik deze bepaling niet langs colorimetrischen, maar langs titrimetrischen weg verrichtte. De betrouwbaarheid van de aldus gewijzigde werkwijze werd getoetst en voor ons doel voldoende gevonden.

3. Met de genoemde werkwijze van F. HIMMERICH, waarbij het bloed met chloroform werd behandeld en verder de zoo juist genoemde door mij ingevoerde wijzigingen waren toegepast, werd in het bloed van gezonden, zoowel als van zieken steeds eiwitontleding gevonden, wat uit de vergrooting van het gehalte aan reststikstof kon worden afgeleid.

4. De sterkte der eiwitsplitsing bleek in zeer sterke mate van de reactie afhankelijk; de verschillende reacties werden aan het bloed gegeven door toevoeging daaraan van mengsels van phosphorzuur en natriumhydroxyde.

5. Het bloed van zeven geheel gezonde personen kon worden onderzocht op het eiwitsplitsend vermogen bij verschillende reacties. De sterkte van het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de onderzochte gezonde personen wisselde, de schommelingen in die sterkte bleken echter veel ge-

ringer te zijn, dan in het bloed van zieken herhaaldelijk werden gevonden.

6. Wat den invloed van de reactie op het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de onderzochte gezonde personen betreft, blijkt deze groot te zijn, maar bij alle onderzochte gezonde personen bleek de aard van dezen invloed dezelfde te zijn. De sterkte der eiwitsplitsing blijkt groot te zijn bij sterk zure reactie, P_h gelijk 2,6. Bij minder sterk zure reactie neemt de graad der eiwitsplitsing af en bereikt een minimum waarde bij een reactie, liggende bij P_h gelijk 4 tot 6. Bij neutrale reactie neemt de graad der eiwitsplitsing weder zeer sterk in grootte toe en bereikt een maximum waarde bij een reactie P_h gelijk 7. Naar den alcalischen kant neemt de sterkte der eiwitsplitsing gaandeweg af, hoewel misschien bij sterker alcalische reactie nog weer eenigermate een toenemen plaats vindt. Het bloed van gezonden laat dus duidelijk pepsineachtige werking zien, trypsineachtige werking nu eens meer, dan eens minder duidelijk. De duidelijke eiwitontleding bij neutrale reactie is ons bij eiwitsplitsende enzymen van dierlijke afkomst in vitro niet bekend. De bij de autolyse van organen een rol spelende eiwitsplitsende enzymen schijnen, voor zoover bekend, bij zwak zure reactie P_h gelijk 4 of 5 het krachtigst eiwit te ontleden. In het bloed van gezonden werd bij deze reactie juist geen bijzonder sterke eiwitontleding gevonden. Het zooeven besproken maximum van eiwitontleding bij ongeveer neutrale reactie, zooals ik dat vond in het bloed van gezonden, werd ook gevonden door Okubo.

7. In aansluiting aan het onderzoek van het bloed van gezonden kon het bloed van vier gravidae en vijf puerperae worden onderzocht. Het bleek, dat de schommelingen in de sterkte van dit eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de onderzochte gravidae en puerperae aanzienlijk grooter waren dan in het bloed van de reeds onderzochte 7 personen.

8. Wat de invloed van de reactie op het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de onderzochte gravidae en puerperae betreft, werd geenszins die gelijkvormigheid ge-

vonden, die zoo juist werd vermeld te zijn vastgesteld bij het onderzoek van het bloed van de zeven eerstgenoemde personen. Zoo werd bv. bij de gravidae en puerperae in het bloed soms een zeer sterke eiwitsplitsing bij neutrale reactie gevonden, veel sterker dan ooit bij de genoemde zeven personen was vastgesteld. Dan weer werd echter bij dezelfde reactie nauwelijks of zelfs in het geheel geen eiwitsplitsing gevonden, maar bleek deze uitsluitend bij zure reactie te bestaan. Over het algemeen waren de uitkomsten, verkregen bij het onderzoek van het bloed der puerperae zeer veel overeenkomend met die verkregen bij het onderzoek van het bloed der gravidae.

9. Het onderzoek van het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van gravidae leerde, dat het eiwitsplitsend vermogen hier over het algemeen genomen, eenigszins sterker is, dan in het bloed van niet-gravidae, maar eenig betrouwbaar criterium voor de diagnose „graviditeit" kan er in het geheel niet uit worden verkregen.

10. Het bloed van een viertal lijders aan de ziekte van Basedow kon op eiwitsplitsend vermogen worden onderzocht. Hoewel men zou kunnen vermoeden, dat bij deze lijders, waarbij toch in het algemeen de stofwisselingsprocessen versterkt zijn, ook de eiwitontleding in het bloed krachtiger zou kunnen zijn dan bij gezonden, is uit mijn onderzoekingen van zulk een krachtiger eiwitontleding van het bloed weinig of niets gebleken. Slechts in één van de vier gevallen vond ik een sterke pepsineachtige werking in het bloed. Ik ben mij echter zeer goed bewust, dat uit het onderzoek, in het bloed bij vier gevallen, al heel weinig besluiten mogen worden getrokken, terwijl mij daarenboven omtrent de sterkte der stofwisseling in den tijd van het onderzoek van deze vier lijders aan de ziekte van Basedow, in het geheel geen gegevens ten dienste staan.

11. Van een zeventiental lijders aan kanker kon het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij verschillende reacties worden onderzocht, bij zes van hen heb ik dit onderzoek bij acht verschillende reacties gedaan. Ook bij de lijders aan

deze ziekte bleken zeer groote verschillen in de sterkte der eiwitontleding, zoowel als in den invloed van de reactie op deze, te bestaan.

Bijzonderheden, die zich in de verschillende onderzochte gevallen hebben voorgedaan, zijn in het voorafgaande hoofdstuk besproken. In die gevallen, waarbij het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij acht verschillende reacties werd onderzocht, werd soms bij een reactie P_h gelijk 4, een top in het eiwitsplitsend vermogen van het bloed gevonden, in hoever deze bijzonderheid zich in het bloed van lijders aan kanker meer voordoet dan in het bloed van gezonden, laat zich uit mijn onderzoek nog in het geheel niet afleiden. Wel vond ik deze zelfde bijzonderheid in het bloed van een lijder aan tuberculose van het urogenitaalstelsel.

Neemt men de gemiddelden van de waarden voor het eieiwitsplitsend vermogen van het bloed bij alle zeventien lijders aan kanker gevonden, en vergelijkt men deze gemiddelde waarden met die, welke bij gezonden zijn gevonden, dan blijkt het, dat het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van de lijders aan kanker aanmerkelijk krachtiger is dan dat bij gezonden het geval is. Het verschil is het grootst bij sterk zure reactie en het wordt gaandeweg kleiner, totdat bij sterk alcalische reactie het verschil niet meer bestaat.

12. Hoewel dus over het algemeen genomen het eiwitsplitsend vermogen van het bloed van lijders aan kanker bij zure en neutrale reactie aanzienlijk sterker is, dan dat van het bloed van gezonden, kom ik toch op grond van de uitkomsten van mijn onderzoek tot het besluit, dat in de verschillende gevallen van kanker het eiwitsplitsend vermogen van het bloed dermate wisselvallig is, en zoo weinig karakteristieke bijzonderheden voor kanker vertoont, dat althans met behulp van de door mij gebruikte werkwijze het onderzoek van weinig of geen waarde moet worden geacht voor het stellen van de diagnose „kanker". Volgens EMIL ABDERHALDEN zou het eiwitsplitsend vermogen van het bloed ten opzichte van de eiwitstoffen van het kwaadaardig gezwelweefsel zelve, bij lijders aan zoodanige gezwellen wel degelijk en dermate versterkt zijn, dat men dit weefsel als substraat gebruikend, in

eventueel gevonden eiwitsplitsing een middel heeft voor het vaststellen van het bestaan van een kwaadaardig gezwel. Een bijzondere eiwitsplitsing van het bloed zelve, heb ik zooals gezegd, bij lijders aan kanker niet kunnen vaststellen.

13. Ten slotte heb ik nog het eiwitsplitsend vermogen van het bloed bij verschillende reacties kunnen onderzoeken bij drie gevallen van tuberculose, één geval van lymphogranulomatosis (ziekte van Hodgkin), één geval van endocarditis septica en één geval van sepsis, een geval van polyarthritis rheumatica, één geval van ulcus ventriculi, een geval van cholelithiasis, twee gevallen van diabetes mellitus, één geval van uraemie, één geval van hypertrophia prostatae, één geval van nephritis en eindelijk een geval van anaemia perniciosa.

14. Wat de uitkomsten met deze gevallen verkregen, betreft, is reeds vermeld, dat in één geval van tuberculose een top in de eiwitsplitsende werking van het bloed werd gevonden bij een reactie P_h gelijk 4. Verder zij hier nog medegedeeld, dat de eiwitontleding bij neutrale reactie in de twee gevallen van sepsis bijzonder sterk was. In het geval van de polyarthritis rheumatica bleek merkwaardigerwijze de eiwitontleding in het bloed bij ongeveer alle reacties even sterk. In het geval van cholelithiasis bleek de eiwitontleding in het bloed bij alle reacties zwak, misschien dat hier remmende stoffen in het bloed in bijzondere mate aanwezig waren.

Overigens is uit het onderzoek uit een enkel geval van deze ziekten, zooals vanzelf spreekt, al heel weinig af te leiden.

J. 1863.

STELLINGEN

I

Het verdient aanbeveling elke versche ongevalswond met 5 % Tinctura Jodii voor te behandelen.

Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1929, No. 17, blz. 2033.

II

De paraärteriëele neurotomie volgens R. Brummelkamp bij de behandeling van ulcus cruris chronicum simplex is te verkiezen boven de sympathectomie volgens LERICHE.

Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1929, No. 20, blz. 2359.

III

De in de meeste hand- en leerboeken van de Anatomie gehuldigde opvatting, dat alleen de voorste beenspang van de processus transversi der halswervels homodynaam is met een rib, zoodat bv. in tegenstelling met het tuberculum posterius, het tuberculum auterius ook wel tuberculum costae genoemd wordt, is niet juist.

Morphologisches Jahrbuch 1928, deel 60, blz. 371.

IV

De onderzoekingen van BABES leveren steun voor de opvatting, dat de monocyten hun oorsprong vinden in het reticulo-endotheliale stelsel.

Comptes rendus de la Société de Biologie, Deel C, 1929, No. 11, blz. 911.

V

Als behandelingswijze van acuut longoedeem is in de eerste plaats de aderlijke inspuiting van strophantine geboden.

Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1926, blz. 2288.

VI

Bij het tot stand komen der jeukgewaarwording spelen het capillairen-systeem van de huid en sympathische zenuwen een belangrijke rol.

Annales de dermatologie et de syphyligraphie 1924, blz.297.
Klinische Wochenschrift 1924, No. 9, blz. 351.

VII

De meening van SALTYKOW, volgens welke de fragmentatio myocardii een vitaalproces zou zijn is onhoudbaar.

Ziegler's Beiträge, 1924, deel 73, blz. 477.

VIII

De radicaaloperatie zonder plastiek van den achtersten gehoorgangswand volgens R. BÁRÁNY is niet aan te bevelen.

„Die Radikaloperation des Ohres" von Prof. Dr. ROBERT BÁRÁNY. Leipzig und Wien, F. Deuticke, 1923.

IX

De reactie, door een hormon van de achterkwab van de hypophysis, teweeggebracht op de melanophoren van den kikvorsch, maakt het mogelijk de verschillende weefsels en lichaamsvochten op de aanwezigheid van dit hormon te onderzoeken.

Biologie und Pathologie des Weibes. Handbuch der Frauenheilkunde und Geburtshilfe von J. HALBAN und L. SEITZ.

X

Voor de drink- en badwatervoorziening in kleinere plaatsen van Nederlandsch-Indië, is waterreiniging met behulp van kalk het meest aan te bevelen.

Mededeelingen van den Burgerlijken Geneeskundigen Dienst in Nederlandsch-Indië, deel 3, 1920, blz. 2.

XI

Het is niet bewezen, dat een lijder aan bubonenpest een ernstig besmettingsgevaar oplevert voor zijn omgeving.

Swellengrebel. Mededeelingen van den Burgerlijken Geneeskundigen Dienst in Nederlandsch-Indië, 1913 e.v.