

(Uit de afdeling voor Inwendige Geneeskunde van het R. K. Ziekenhuis te 's-Gravenhage).

HET SERUM MET DE EIGENSCHAP TRYPANOSOMEN TE DOODEN EN ZIJN BETEKENIS VOOR DE KLINIEK

DOOR

Dr. J. L. A. PEUTZ, arts te 's Gravenhage.

LAVERAN en MESNIL 1) deden in 1902 mededeeling van een reeks belangwekkende onderzoekingen, waaruit hun gebleken was, dat het serum van den mensch en van anthropoïde apen een stof bevatte, welke sommige trypanosomenstammen kon dooden of hun groei zeer aanzienlijk kon belemmeren. Dat de vrij groote onvatbaarheid van den mensch voor de dier-trypanosomen nu een tenminste aannemelijke verklaring had gevonden, ligt voor de hand. De onderzoekingen werden herhaald en uitgebreid door vele anderen en betrekkelijk spoedig, vooral nadat o. a. PAUL EHRlich en WECHSBERG 2) meenden te hebben opgemerkt, hoe deze overigens nog niet nader bekende stof in het serum bij leverziekten aan het verdwijnen was, werd de aandacht meer gevestigd op de aanwezigheid er van. L. PLATAU 3) trok uit haar waarnemingen het besluit, dat de trypanosomocide werking van het serum steeds zonder uitzondering verminderde, zelfs nagenoeg kon worden opgeheven bij toestanden van diffuse leverziekten, of ook bij mechanischen icterus. H. ZEISS 4) vond daarentegen, dat niet zoozeer de graad en uitbreiding der leverbeschadiging van belang is, dan wel de werkzaamheid van het serum zelf, resp. de weerstandskracht der bepaalde trypanosomensoorten.

ROSENTHAL en KRUEGER 5) gingen verder. Zij verdedigen de waarschijnlijkheid, dat niet alleen de trypanosomocide titer van het menscherserum in nauwe betrekking staat met de goede functie van de lever, maar tevens, dat de lever zelf dat zeer bijzondere serumbestanddeel vormt, een physiologische functie dus heeft, welke tot dusverre nog geheel en al onbekend was. Hoe hoog zij de door hen aangegeven serodiagnostische methodé van onderzoek der leverfunctie aanslaan, blijkt wel hieruit, dat zij deze wijze, bijv. bij den mechanischen icterus, zelfs over het geheel nog al wat beter achten dan de scheikundige onderzoekingsmethoden. LEICHTENTRITT en ZIELASKOWSKI 6) gingen na, hoe het kinderserum

1) *Annales de l'Inst. PASTEUR* 1902, 118, 802, Bd. 11; zie ook L. et M., *Trypanosomes et trypanosomiasés*, 1912.

2) *Beiträge z. experim. Path. u. Chemother.*, Leipzig.

3) *Zschr. f. Hyg.*, 1916, Bd. 81.

4) *Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hygiene*, 1920, Bd. 24, en 1921 Bd. 25.

5) *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1921, nr. 16.

6) *Jahrb. f. Kinderheilk.*, 1926, Juni, H. 5/6.

ten dezen opzichte zich gedroeg. Bij pasgeborenen zou de trypanosomocide werking nog geheel en al ontbreken (ROSENTHAL en KLEEMANN). Terwijl infectie-ziekten het bij jonge zuigelingen echter wel aanwezige bestanddeel vernietigen, schijnen oudere zuigelingen daarentegen hun trypanosomocide vermogen niet daardoor te verliezen. Bij morbus Barlowi zou dit vermogen afnemen om weer terug te keeren, als de ziekte geneest; hetzelfde meenen LEICHTENTRITT en ZIELASKOWSKI te hebben waargenomen bij keratomalacie met hydraemische meelvoedingstoornissen.

Om nu te kunnen nagaan, of het menschen-serum trypanosomen-doodende eigenschappen heeft niet alleen, maar ook onder welke omstandigheden deze eigenschappen verloren gaan en dus misschien winsten voor de diagnostiek verkregen kunnen worden voor de inwendige geneeskunde, en ten slotte van welken aard dat bijzondere serumbestanddeel kan zijn, leek het mij nuttig de boven aangegeven en zich deels tegensprekende onderzoekingen nog eens over te doen en aan een kritische beschouwing te onderwerpen.

Professor LANDSTEINER was zoo vriendelijk mij door zijn bemiddeling aan trypanosomen te helpen. Evenals ROSENTHAL en KRUEGER en ook ZEISS gebruikte ik het *trypanosoma* BRUCEI een der verschillende soorten van trypanosomen, welke ter onderscheiding van de trypanosomen van den mensch uitsluitend dieren besmetten en de bekende oorzaak is der Ngana of Tse-Tse-ziekte, respectievelijk Fly-disease. Vooral deze soort n.l. is uitsluitend geschikt om de kleine laboratoriumdieren, zooals konijnen, marmotten, muizen e. d., te besmetten. Teneinde geruimen tijd en op gemakkelijke wijze trypanosomen in voorraad te hebben, werd telkenmale een konijn als „trypanosomendrager” gebruikt, met het trypanosomenhoudende bloed kon dan telkenmale een witte muis besmet worden. Zoodra nu in het staartbloed van de laatste trypanosomen konden worden aangetoond, werd de muis gedood, uit het hart zooveel mogelijk bloed in een steriele pipet opgezogen en dit onmiddellijk verdund met een oplossing van citras natricus. Eenige malen verdunde ik het bloed ook met een physiologische keukenzout-oplossing, maar keerde spoedig weer terug tot het citraat, wijl mij bleek, dat de virulentie in het laatste een ietsje minder heftig was en daardoor de proefdieren ook minder acuut ziek werden, een maatregel, die volstrekt noodig is, wil men de dieren niet al te snel te gronde zien gaan aan de trypanosomiasis; men moet toch het dier tijd geven om zich — met behulp van het in te spuiten serum — te kunnen verzetten. Om dezelfde reden werd ook steeds ingeschakeld een passage door het konijn; zonder zulk een passage was de virulentie steeds veel meer ongelijk en ook klaarblijkelijk veel te heftig. Met het aldus verdunde muizenbloed werden reeksen van muizen ingespoten in de buikholte onder inachtneming van zoo goed mogelijke steriliteit. Even te voren of onmiddellijk na deze inspuiting ontvingen dezelfde muizen verschillende soorten van menschen-serum. Hierbij werd wederom een voorzorgsmaatregel genomen door een bepaalde reeks der proefdieren steeds te besmetten met bloed verkregen uit een en dezelfde

muis, nimmer met mengbloed van twee of meer muizen. Iedere reeks bevatte telkens ook een dubbele contrôle. Daar het niet van belang is iedere proef afzonderlijk te beschrijven en in tabellen over te brengen, is het voldoende hier allereerst de uitkomsten te vermelden.

Het serum van gezonde menschen bleek *in dezelfde reeks*, dus besmet met het bloed van een en dezelfde muis, *ziekte-remmende* eigenschappen te bezitten. Nimmer is het mij tot nu toe gelukt, een muis in leven te houden niettegenstaande het dier een veel grootere serumhoeveelheid — 1 cm^3 — kreeg dan gewoonlijk bij de bovengenoemde onderzoekers, terwijl het besmettings-materiaal ook slechts 0.1 cm^3 mengsel (bloed plus citraat) bedroeg. Nogmaals moet ik hier drukken op *dezelfde* reeks, daar alleen dan de beschouwing waarde heeft; immers zag ik bijv. in dezelfde reeks serum van een gezond mensch de uitwerking geven, dat de besmette muis tien dagen na de besmetting aan trypanosomiasis te gronde ging, terwijl het serum van een patiënt met cirrhosis hepatis *in deze reeks* niet kon beletten, dat de muis reeds na drie dagen stierf; *in een andere reeks* teekende ik aan, dat een besmette muis met het serum van denzelfden patiënt met cirrhosis nog tien dagen leefde, een andere muis met serum van een gezond mensch in die reeks twaalf à veertien dagen.

Al klopt de eene reeks dus ook *niet* steeds *volkomen* met de andere, uit alle reeksen te zamen genomen verkrijgt men voor vergelijking vatbare uitkomsten, die wettigen tot enkele indrukken. Zoo werd duidelijk, dit in overeenkomst met de uitkomsten door ROSENTHAL c. s. verkregen, dat de lichte ziekte-remmende eigenschappen van het menschen-serum op trypanosomen-besmetting geheel of nagenoeg geheel kunnen worden opgeheven bij *sommige* reeds lang bestaande en *zeer uitgebrede* leveraandoeningen. Dit bleek o. a. overtuigend bij een geval van cirrhosis hepatis zonder icterus maar met sterke ascites, voor welk laatste de patiënt, behalve een operatie van TALMA, drie jaren geleden, nu reeds acht en zestig keeren was gepuncteerd. Het herhaaldelijk afgenomen en op het trypanosomocide vermogen onderzochte serum gaf *in alle* reeksen steeds, vergelijkenderwijze, dezelfde standvastige uitkomsten. Gelijke uitkomsten werden verkregen met serum van een patiënt met reusachtige leverstuwung en oedemen tengevolge van een hartlijden. De muis uit dezelfde proefreeks als de beide genoemde gevallen, bleef echter vier dagen langer dan die twee muizen leven; zij was ingespoten met serum van een patiënt met langdurige en steeds meer toenemende geelzucht tengevolge van kanker van den kop van het pancreas; vergeleken met de contrôle en met andere reeksen was echter ook hier het trypanosomocide-vermogen sterk afgenomen; bij deze patiënt was de haemoclasie omgekeerd, bij de lijkopening bleek de lever te hebben een zgn. pigmentsclerose. Bij een geval met maligne granuloom met groote lever, en nog vóór de weldra optredende geelzucht en geprobeerd in dezelfde reeks als de bovengenoemde, vond ik eveneens een verloren gaan der trypanosomocide kracht, nauwelijks vier en een halven dag na de besmetting trad bij het dier de dood in door

trypanosomiasis. Dit is in tegenstelling met hetgeen ZEISS vond bij de ziekte van HODGKIN; het serum redde hier een muis, besmet met trypanosoma BRUCEI, bleek echter nu onmachtig om een muis, met trypanosoma rhodesiense ziek gemaakt, ook maar iets langer te laten leven dan zonder seruminspuiting.

Geen invloed vond ik bij patiënten met groote kankerknobbels in de lever, evenmin bij galsteenlijden gepaard met icterus en waarbij dus verondersteld mocht worden, dat de lever tot zekere hoogte den invloed had ondergaan van de aanwezige ziekte. Wel werd weer eenige invloed op het trypanosomocide vermogen bespeurd bij serum van een patiënte met een ernstige griepbesmetting, waarbij klinisch werd gevonden een dubbelzijdige pneumonie met haemorrhagische nierontsteking, verwardheid en hooge temperatuur (rectaal 40.5°); de lever was hier niet vergroot en bleek bij de lijkopening ook geen grof tastbare veranderingen te bereiken. Bij andere patiënten vond ik wisselende waarnemingen, welke geen enkel houvast gaven, zoo bij diabetes mellitus, morbus Addisoni, uitgebreide tuberculose e. a. niettegenstaande er aanzienlijke leververanderingen met name vette ontaarding gevonden werd. Nu eens was het doodend vermogen van het serum aanwezig, dan weer verminderd of zelfs nagenoeg afwezig. Een vaste lijn viel er niet in te bespeuren.

Ascitesvocht van leverpatiënten bleek elk trypanosomocide vermogen te missen.

Over de plaats van het ontstaan der trypanosomocide stoffen loopen de meeningen uiteen. ROSENTHAL en KRUEGER sluiten zich bij de opvatting van EHRLICH en WECHSBERG aan, dat de lever deze plaats is. LEICHTENTRITT en ZIELASKOWSKI verleggen de vorming daarentegen naar het geheele reticulo-endotheliale systeem — de stercellen van KUPFER, de milt, de lymphklieren, het beenmerg, de vaatendotheelcellen. Het eerstgenoemde standpunt schijnt mij toe te exclusief te zijn.

Welke is nu de werkelijke aard dezer afweerstoffen? Volgens BRAUN en TEICHMANN 1) schijnen zij in elk geval niet verwant te zijn aan de trypanosomocide immuunlichamen, maar verder is er niets naders van bekend. BIOT, RICHARD en FLEIG 2) zagen, hoe *in vitro* glucose het trypanosoma *Lewisi* als het ware levenskrachtiger kon maken. ZANDBERGEN 3) ging dit ook na bij trypanosoma *Brucei*, maar kon een gunstigen invloed van glucose met betrekking tot den langeren duur der bewegelijkheid niet opmerken; wel meent hij, dat door de glucose de pathogeniteit langer behouden is gebleven. Ik trachtte daarom den invloed van glucose na te gaan, echter nu *in vivo*, door bij het in te spuiten serum glucose toe te voegen en dan de werking te vergelijken met serum van denzelfden patiënt, maar thans zonder glucose. Een tweede reden voor deze proeven vond ik in een „thèse de doctorat: „Action du foie sur les poisons” (1887) van H. ROGER, alsmede in eenige verdere

1) *Versuche z. Immunisierung gegen Trypanosomen*, 1912. FISCHER, Jena. Zie ook *Hdb. d. path. Mikroorg.*, Bd. VII.

2) *Cpt. rendus de la Soc. de B.*, t. LXXI, 1911, bldz. 368 en bldz. 527.

3) *Proefschrift*, Leiden, 1922.

onderzoekingen van dezen en later ook van CHEVRIER e. a. 1). Immers daaruit was gebleken, dat een lever, eenmaal insufficiënt geworden om bijv. vergiften of zelfs ook bacteriën uit de poortader te kunnen tegenhouden, weer gunstigen invloed kon ondervinden en haar oorspronkelijke afweerkracht geheel of gedeeltelijk terug won door glucose toe te voeren, hetzij onderhuids of rechtstreeks in het bloed zelf. Brakingen na operaties, welke zij toeschrijven aan functioneele leverstoornissen tengevolge van de werking van chloorform of aether — mij schijnen deze brakingen toch ook wel verklaard te kunnen worden als een gevolg van den ingreep als zoodanig zonder de lever er bij te halen, — zagen zij genezen of ten minste sterk verminderen door de operatiepatiënten te voren glucose te geven. Mij bleek echter, dat bij normaal serum niet alleen de glucose zonder invloed was op de trypanosomen-besmetting, maar dat ook toevoeging van glucose bij minderwaardig, trypanosomocide-arm serum niets betekende; in drie gevallen was er heelemaal geen invloed te bespeuren, in twee gevallen — van dezelfde reeks, dus bij dezelfde trypanosomengeneratie uit een en hetzelfde dier — leefde de muis zes à acht uren langer, een verschil, dat geen waarde mag hebben.

Nog op een andere wijze heb ik getracht iets naders omtrent deze serumbestanddeelen te weten te komen. Door herhaalde contrôles bleek nu, dat deze afweerstoffen thermolabiel zijn; bij verwarming van het serum bij 56° in een waterbad gedurende een half uur verliest het zijn vermogen trypanosomen te doden voor goed. Uit deze waarneming vloeiden andere proeven voort om na te gaan, of er niet een soort systeem viel op te bouwen zooals o. a. bij de WASSERMANN-reactie met complementbinding; deze zijn echter voorloopig grootendeels mislukt door een in mijn trypanosomenstam plotseling opgetreden verlies aan pathogeniteit, een inconvenient waarmede ook ZANDBERGEN bij zijn onderzoek over „trypasonomen en lage temperatuur” te kampen had. Misschien is deze mislukking ook grootendeels te verklaren door hetgeen reeds destijds JAKOBY 2) opmerkte, dat n.l. trypanosomen tegenover de specifieke afweerstoffen van het serum actief kunnen worden, zoodat dan zelfs meerdere kubieke centimeters van normaal menschen serum niet meer in staat zijn voor infectie te beschutten, bij een gedeelte dezer proeven stierven n.l. ook mijn contrôle-dieren plotseling, geheel en al onverwacht en zeer kort na het inbrengen van het weinig besmette bloed.

Werkt het serum goed in op de trypanosomen, dan ziet men onder het microscoop heel gemakkelijk hoe eerst de bewegelijkheid vermindert en spoedig daarop de innerlijke structuur minder scherp kan worden waargenomen, wasig wordt en ten slotte het geheele organisme verdwijnt, als het ware oplost.

Wanneer wij nu zien met hoeveel factoren wij rekening te houden hebben bij al onze proeven, factoren die blijkbaar noch door ROSENTHAL en KRUEGER, noch door LEICHTENTRITT c. s. in acht werden genomen, — ik noem slechts de toch niet te verwaar-

1) Verg. *La Presse méd.*, 1922, nr. 14.

2) *Med. Klinik*, 1907. Zie ook GULBRANSEN, *Zschv. f. Immun. forschung*, 1909.

loozen *individueele* vatbaarheid der muizen voor de besmetting, de verschillende pathogeniteit der trypanosomen zelfs van één stam en vooral de uiterst onaangename eigenschap, dat deze pathogeniteit zelfs tijden achtereen verloren kan gaan, hetgeen dus dan noodzakelijk maakt of zijn proeven te onderbreken of wel een anderen stam of generatie aan te wenden, hetgeen niet bevorderlijk is voor een goed vergelijkingsmateriaal, — dan blijkt reeds daaruit met hoe groote omzichtigheid men hier moet waken voor te snel gemaakte gevolgtrekkingen. Zien wij bijv., hoe alleen zeer uitgebreide leverstoornissen eenerzijds verschillen in serum geven, stoornissen die ook en veel gemakkelijker zelfs met andere methoden te herkennen zijn, terwijl anderzijds de waarnemingen van de verschillende schrijvers soms uiteen loopen, elkander niet dekken, dan wordt het gevaarlijk zich zonder voorbehoud te scharen aan de zijde van diegenen, die in de meer of mindere hoeveelheid van trypanosomocide stoffen in het mensenserum *een kostbare* onderzoekingsmethode meenen te zien voor de bepaling eener leverinsufficiëntie (ROSENTHAL, KRUEGER e. a.), of denken „mit Hilfe dieser serologischen Reaktion Gruppen” von Krankheiten zu erfassen und ihre Zusammenhänge ätiologisch zu klären” (LEICHTENTRITT, ZIELASKOWSKI e. a.).

Indien er dan ook uit het bovenstaande enkele gevolgtrekkingen gemaakt mogen worden, zou ik ze als volgt willen uitdrukken:

1. Mensenserum bezit een trypanosomocide stof.
2. Deze stof is thermolabiel en werkt op de trypanosomen door deze op te lossen.
3. Glucose is noch in vitro, noch in vivo van duidelijk nut bij de bestrijding der trypanosomiasis van het dier.
4. Ascitesvocht van leverpatiënten mist elk trypanosomocide vermogen.
5. Het trypanosomocide vermogen van het mensenserum kan verminderen of verloren gaan onder invloed van ziekten; deze vermindering geschiedt echter niet steeds bij dezelfde ziekten.
6. Bovendien neemt dit vermogen slechts *merkbaar* af bij zeer *uitgebreide* stoornissen — ten minste wat de lever betreft — zoodat de diagnostische waarde reeds daardoor niet groot wordt, temeer door de zoo juist genoemde onstandvastigheid bij klinisch dezelfde afwijkingen en bovendien de niet steeds scherp te controleren factoren, zooals de individueele vatbaarheid der proefdieren, de grilligheid in pathogeniteit van zelfs een en dezelfde stam enz. aanzienlijke moeilijkheden opleveren voor een juiste beoordeeling.
7. Het geheele verschijnsel is dan ook uitsluitend belangwekkend in de pathologische physiologische voor de theoretische diagnostiek; voor de practische diagnostiek zal het geen rol van groote beteekenis vervullen.
8. Het feit, dat EYRE en MARSHALL 1) onlangs een mensch met slaapziekte konden redden door inspuiting in den lumbaalzak

1) *Brit. M. J.*, 1921, II.

met serum, behoeft *niet alleen* te worden toegeschreven, zooals zij verklaren, aan een „during treatment the blood forms definite antibodies (trypanolysins) as a result of the presence of the dead protoplasma of the trypanosomes”, maar kan ook gevoegelijk worden verklaard door aan te nemen, dat de normaliter in serum aanwezige trypanosomocide kracht het trypanosoma gambiense bovendien nog in zijn schuilplaatsen van het centrale zenuwstelsel heeft kunnen aanpakken behalve reeds in het stroomende bloed zelf 1).

Augustus 1922.

1) *Noot bij de verbetering.* Het laatste konijn, dat als „trypanosomendrager” fungeerde, heeft de infectie na een zwaar ziekteverloop doorstaan en is nu herstellende. Dit is oorzaak, dat ik op het oogenblik geen trypanosomen in voorraad heb en het verdere onderzoek over den aard der boven aangestipte bijzondere serum-eigenschappen tijdelijk moet onderbreken.
