Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Glucose-insuline evenwicht

https://hdl.handle.net/1874/285850

A. qu. 192, 1926

GLUCOSE-INSULINE EVENWICHT

K. L. E. LAMERS

A. qu.
192

GLUCOSE - INSULINE EVENWICHT

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT
1408 0943

A. gu. 192, 1926

GLUCOSE - INSULINE EVENWICHT

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. A. NOORDTZIJ, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 26 OCTOBER 1926, DES NAMIDDAGS TEN 5 URE

DOOR

KAREL, LAMBERT, ERNEST LAMERS
ARTS, GEBOREN TE 'S HERTOGENBOSCH.

LEUVEN, — DRUKKERIJ JOS. MEULEMANS. — 1926.

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJNE OUDERS

Bij het voltooien van dit proefschrift maak ik gaarne van de mij geboden gelegenheid gebruik, U mijne Heeren Oud-Hoogleeraren, Hoogleeraren en Lectoren van de Utrechtsche Medische en Philosophische Faculteiten dank te zeggen voor het van U genoten onderwijs.

In de eerste plaats geldt deze dank U, Hooggeleerde ZWAARDEMAKER, *Hooggeachte Promotor, die door Uwe lessen mijne interesse in de Physiologie hebt opgewekt en die mij later met Uwe gewaardeerde raadgevingen en vriendelijke belangstelling terzijde hebt gestaan. De groote vrijheid, die gij mij gelaten hebt, bij het kiezen van een onderwerp en bij het bewerken hiervan in het Physiologisch Instituut te Leuven, waar ik op Uwe aanbeveling assistent werd, heeft mij in hooge mate aan U verplicht.*

Het is mij een voorrecht geweest, Hooggeleerde NOYONS, *onder Uwe leiding in Uw prachtig laboratorium, de in deze dissertatie besproken onderzoekingen te hebben mogen verrichten. De dagelijksche practische aanwijzingen bij mijne experimenten, tot het doen waarvan gij mij zoo ruim in de gelegenheid gesteld hebt, zijn voor mij van groot nut geweest. Het jaar, als Uw assistent in Leuven doorgebracht, hebt gij en* Mevrouw NOYONS, *door de hartelijke ontvangst, die mij steeds in Uwe woning ten deel viel, tot een zeer aangenamen tijd gemaakt.*

Door de vriendschap, waarmede de ASSISTENTEN *van het Physiologisch Instituut te Leuven mij omringden, heb ik mij daar nimmer in den vreemde gevoeld.*

U, Zeergeleerde BOUCKAERT, *dank ik bovendien voor menige goede raadgeving bij mijn werk.*

De zorgvuldigheid, waarmede gij, Mejuffrouw CAPPELLEN, *de gasanalyses voor dit onderzoek verrichtte, heb ik op grooten prijs gesteld.*

Tenslotte een woord van dank aan het technisch personeel.

INLEIDING

Op het einde der 17de eeuw beschrijft Brunner (1) de symptomen, die hij vindt bij honden, aan welke hij het pancreas exstirpeert : verhoogde eetlust, dorst en vermagering, symptomen, die zonder twijfel diabetische geweest zijn.

Klinisch was diabetes toen echter nog niet bekend. Wel had Thomas Willis in 1675 opgemerkt, dat de urine van sommige patienten was :

« wonderfully sweet, as if containing honey or sugar »,

maar eerst 100 jaar later werd dit als suiker herkend : Dobson (1775), Cawley (1788), Chevreuil (1815).

Het verband tusschen pancreas en diabetes bleef duister tot in 1889 de Dominicis (2) in Italië en von Mering en Minkowski (3) in Duitschland aantoonden, dat volledige verwijdering van het pancreas bij honden een intensieve diabetes geeft.

De beide laatste onderzoekers, wier publicaties veel meer bekendheid verwierven dan die van de Dominicis, die in een weinig gelezen Italiaansche revue zijn eerste mededeeling deed, komen tot de conclusie, dat er in het pancreas " iets „ aanwezig is, dat essentieel is voor de koolhydraatstofwisseling en waarvan de afwezigheid, resp. verwijdering het symptomen-complex der suikerziekte veroorzaakt.

Lépine (4) is de eerste, die aan interne secretie van het pancreas denkt :

« A l'état normal le pancréas et le foie formeraient donc à eux deux » l'appareil d'élaboration du glucose normal ; le pancréas ne serait pas » seulement une glande déversant son suc dans l'intestin, mais une sorte de » glande vasculaire sanguine cédant à ses veines qui sont une portion des » racines de la veine porte, le ferment nécessaire au foie.

» La destruction de sept-huitièmes du pancréas ne mettrait pas un » obstacle absolu à la fonction vasculaire sanguine de cet organe ; la » destruction totale empêcherait l'élaboration du sucre hépatique. »

Daar het echter nimmer gelukte door een pancreas-extract de diabetes-symptomen te bestrijden, spraken velen de theorie der interne secretie tegen ; anderen, en zooals later zou blijken terecht, meenden, dat het actieve bestanddeel tijdens de bereiding afgebroken was.

Reeds in 1869 beschreef Langerhans (5) de naar hem genoemde eilandjes als celhoopjes te midden der acini van het pancreas.

Laguesse (6) meende hieraan de eventueele intern-secretoire functie te moeten toeschrijven.

Verschillende vondsten pleitten voor deze interne secretie.

Gelijktijdig en onafhankelijk van elkaar toonden Minkowski (7) en Hédon (8) aan, dat men het geheele pancreas kon verwijderen zonder diabetes-symptomen op te wekken, wanneer men een klein gedeelte van het pancreas onder de huid transplanteerde.

Schultze (9) en Ssobolew (10) vonden, eveneens onafhankelijk van elkaar, dat afsluiting der afvoergangen tenslotte degeneratie geeft van alle kliercellen van het pancreas, behalve der eilandjes van Langerhans, zonder bovengenoemde symptomen.

Zunz en Mayer (11) bevestigden dit na een groote serie experimenten op het Physiologen congres in 1904 te Brussel.

En tenslotte beschreven patholoog-anatomen o. a. Weichselbaum (12) en Opie (13) histologische veranderingen aan de eilandjes bij patienten overleden aan suikerziekte.

Heiberg (14) en later Bensley (15) met een verbeterde techniek, telden in preparaten der alvleeschklier van lijders aan diabetes een geringer aantal eilandjes dan in normale contrôle-preparaten.

Hoe dringend al deze argumenten ook waren, het bewijs der intern-secretoire functie was nog niet overtuigend geleverd door de bereiding van een extract, dat het hormon bevatte noodig voor de koolhydraatstofwisseling, hormon, waaraan de Meyer (16) en Schäfer (17) reeds bij voorbaat den naam „ *insuline* " hadden gegeven.

De eerste succesvolle pogingen in deze richting werden geleverd door Zülzer (18), die in 1908 aantoonde, dat subcutane injectie van een alcoholisch extract van het pancreas, waarvan tevoren de venen waren

afgebonden, in staat was de stijging der bloedsuiker en de glycosurie, veroorzaakt door epinephrine-injectie, te verhinderen.

Pogingen om het preparaat therapeutisch bij patienten toe te passen moesten helaas spoedig gestaakt worden wegens de ernstige toxische werking, die men nu achteraf misschien ten deele aan een te sterke hypoglycæmie mag toeschrijven.

Zeer dicht bij de oplossing van het vraagstuk zijn ook Knowlton en Starling (19) geweest in 1912, die een waterig zuur extract maakten, dat even vóór de inspuiting geneutraliseerd werd. De vermindering der glycosurie hierdoor veroorzaakt werd door hen echter onjuist geinterpreteerd, o. a. omdat zij geen verhooging van het respiratie-quotient vonden. Hun techniek echter in 1923 door Best en Scott (20) herhaald, bleek bruikbaar voor insuline-bereiding.

Reeds in 1905 had Gley met extracten van een pancreas, dat gedegenereerd was door voorafgaande olie-injectie in de afvoergangen, de glycosurie van gedepancreatiseerde honden kunnen doen afnemen. Deze resultaten, die in dat jaar onder zegel bij de Société de Biologie gedeponeerd waren, zijn echter eerst in 1922 gepubliceerd (21).

Ook vele andere onderzoekers (Scott, Murlin, Kramer, Kleiner, enz.) was het niet gelukt een preparaat te bereiden, dat constante resultaten gaf.

Totdat Banting in 1921 zijn onderzoek begint. Hij ging van het idee uit, dat, wanneer het actieve pancreas-hormon door de tegelijk aanwezige proteolytische enzymen tijdens de bereiding werd vernield, de werking hiervan kon worden voorkomen door de cellen, die deze enzymen bereiden, tevoren te laten degenereeren door ligatuur der secretie-gangen. In samenwerking met C. H. Best (22) verwijderde hij bij honden, die deze operatie hadden ondergaan, ongeveer 10 weken later, na ze met chloroform gedood te hebben, snel de gedegenereerde rest van het pancreas en extraheerde dit door het in een mortier met zand in ijskoude Ringer fijn te wrijven.

Na filtratie spoot hij dit extract intraveneus in bij gedepancreatiseerde dieren en kreeg aldus constant een verlaging der bloedsuiker en vermindering der glycosurie zonder verandering van het hæmoglobinegehalte van het bloed.

Dat het dier weer koolhydraten kon gebruiken toonden zij aan uit de suikerbalans na suikertoediening.

Het preparaat had geen werking per os of per rectum toegediend.

Tezamen gebracht met trypsine werd de hypoglycæmische werking opgeheven, zooals hij tevoren verondersteld had.

Om dit moeilijke en kostbare procédé te vermijden, dus de voorafgaande ligatuur der uitvoergangen onnoodig te maken, beproefden zij eerst de externe secretie van het pancreas op te heffen door langdurige prikkeling van den nervus vagus of door injectie van secretine.

Toen ook dit praktisch niet toe te passen bleek, maakten ze met succes gebruik van een vondst van Ibrahim, later door Carlton en Drennan bevestigd, dat de interne secretie van het pancreas in het foetale leven veel vroeger begint dan de externe secretie. Preparaten van foetale kalveren in de eerste vier maanden bleken zeer actief te zijn.

Aldus echter waren uit den aard der zaak eveneens geen groote hoeveelheden van het kostbare hormon te bereiden. Daarvoor moest men het normale volwassen pancreas kunnen gebruiken, zooals dat in groote hoeveelheden door de abattoirs geleverd kon worden. Zij zijn toen op de methode van Zülzer, de alcohol-extractie teruggekomen in de hoop, dat de alcohol, maar nu in zuur milieu, de proteolytische enzymen onschadelijk zou maken.

Toen deze pogingen met succes bekroond werden en nu grootere hoeveelheden „ insuline " ter beschikking stonden, slaagden zij erin gedepancreatiseerde honden gedurende meer dan 2 maanden in het leven te houden. (*)

Ze wendden zich toen tot een chemicus, J. B. Collip, die in korten tijd een methode uitwerkte (23) om door gefractionneerde precipitatie met alcohol een neerslag te maken, dat het antidiabetisch hormon in hooge concentratie bevatte. In waterige oplossing gaf dit bij den mensch geen onaangename bijwerkingen.

(*) Prof. Hédon deelde ons onlangs mede, dat bij hem een gedepancreatiseerde hond reeds gedurende meer dan twee en een half jaar in het leven gehouden wordt door insuline-injecties 2 maal daags. Wordt de insuline-toediening gestaakt, dan is het dier na 5 à 6 dagen in een zwaar diabetisch koma, waaruit het door bicarbonaat en insuline weer spoedig bijkomt.

Als insuline-eenheid werd oorspronkelijk aangenomen de hoeveelheid, die in staat was de bloedsuiker van een konijn, dat 24 uur honger geleden heeft, tot de krampgrens te verlagen in den tijd van 4 uur (Physiologische eenheid van Toronto).

Om praktische redenen, daar men namelijk soms reeds met kleinere doses een effect bij den mensch kon waarnemen, is daarna als „ klinische eenheid " ingevoerd $^1/_3$ van bovengenoemde dosis (24). Als verder van „ eenheden " zonder meer gesproken wordt, is deze laatste bedoeld.

De zuiverste preparaten, die men tenslotte heeft kunnen bereiden, bevatten 8 à 12 klinische eenheden per milligram droge stof (Lilly).

Hiervan uitgaande schijnt Abel er onlangs in geslaagd te zijn kristallijne insuline te bereiden.

In een voorloopige publicatie (25) waren Abel en Geiling tot de conclusie gekomen :

a) Dat het door eenvoudige en weinig ingrijpende methoden mogelijk is door scheiding van kristallijne aminozuren van wisselend zwavel- en laag phosphorus-gehalte en andere van gemiddeld of laag zwavel- en hoog P-gehalte de sterkte van het preparaat op te voeren in „ Fraction IV " tot ±40 eenheden per milligram.

b) Korten tijd koken met 0.1 N, Na_2CO_3 maakt Fraction IV physiologisch onwerkzaam, gepaard met verandering der zwavelverbinding in het hormon. De werking van het preparaat schijnt evenredig te zijn met deze labiele S, die ze noemen „ sodium-carbonate-sulphur ".

c) Phosphor is in zuivere insuline niet aanwezig.

Zooals Abel in een recente publicatie meedeelt (26), moet het hem gelukt zijn uit deze Fraction IV een kristallijn product te bereiden, dat ± 150 klinische eenheden per milligram bevat, een hoeveelheid dus voldoende om 50 konijnen in hypoglycæmische krampen te brengen!

Eén gram Fraction IV (40.000 eenheden) loste hij op in $^1/_6$ N. azijnzuur en verdunde tot 60 ccm. Daaraan voegde hij een 6 % brucine oplossing toe, eveneens in $^1/_6$ N. azijnzuur opgelost, waardoor „ alles " neerslaat behalve insuline. Nadat dit afgecentrifugeerd was, kreeg hij

door aan deze oplossing $^1/_6$ N. pyridine toe te voegen een neerslag van zeer regelmatige en gelijkvormige kristalletjes, die bovengenoemde enorme werkzaamheid hebben.

Ook dit preparaat wordt volkomen onwerkzaam door 15 minuten koken met $^1/_{10}$ N. Na_2CO_3.

De scheikundige samenstelling van dit product wordt bestudeerd. Hij deelt hieromtrent o. a. reeds mede, dat de reacties van Millon en Pauly en de biureetreactie positief zijn.

Mochten deze mededeelingen bevestigd worden en later de samenstelling der „ kristallijne insuline " misschien bekend worden, dan behoort wellicht synthetische insuline in de toekomst niet tot de onmogelijkheden.

HOOFDSTUK I

BEPALING VAN HET GLUCOSE-INSULINE EVENWICHT

A. Vroegere onderzoekingen. Critische Litteratuur-bespreking.

Zooals we in de inleiding zagen, is de invloed op de koolhydraatstofwisseling reeds van den beginne af als het essentieele der insulinewerking beschouwd. Het zou daarom van groot belang zijn, indien men in cijfers zou kunnen uitdrukken hoeveel grammen koolhydraat, speciaal glucose, met één eenheid insuline overeenkwam.

De beteekenis hiervan drukt Choay in zijn boek over : „ La sécrétion interne du pancréas et l'insuline " (27) aldus uit (bl. 260) :

« *Équivalent glucose-insuline.* Nous n'avons pas jusqu'ici envisagé de rapports quantitatifs entre la masse du sucre disparu du sang sous l'action de l'insuline et la dose d'insuline employée à cet effet. Cette question, en plus de son intérêt théorique, présente un intérêt pratique considérable : au clinicien, qui traite un diabétique par l'insuline, il importe en effet de connaître l'augmentation de regime auquel peut correspondre une dose donnée d'insuline, sans que la glycémie s'élève. Des tables donnent les équivalents en glucose de différents aliments hydrocarbonés et même des aliments albuminoïdes susceptibles de fournir des hydrates de carbone par hydrolyse. La question se ramène donc à la détermination de l'équivalent glucose-insuline. »

Hieraan zou ik nog twee dingen toe willen voegen.

Op de eerste plaats zou een methode, die ons in staat stelde groote hoeveelheden glucose en insuline in het dierlijk organisme te brengen, die elkaar volkomen neutraliseerden, o. a. dus de bloedsuiker op het normale niveau hielden, theoretisch de ideale manier zijn om insuline te standariseeren, aldus zou men als het ware de insuline tegenover glucose titreeren met als indicator het levende organisme. Immers, wanneer men b. v. een verschil van één eenheid kan aantoonen, dan maakt dit bij de gewone wijze van ijking, waarbij men ongeveer 3 eenheden inspuit, een fout van meer dan 30 °/₀ ; bij toediening echter van b. v. 12 eenheden een fout van ruim 8 °/₀.

En op de tweede plaats zou men aldus in staat zijn de werking van groote doses insuline te bestudeeren, die zonder glucose ingespoten het dier binnen weinige uren zouden dooden en vooral om na te gaan, wat met de daarmee correspondeerende hoeveelheid glucose, die in het lichaam verdwijnt, gebeurt.

Om het glucose-insuline evenwicht te bepalen moet men, daar insuline in vitro de glycolyse niet verandert (28, 29), zich tot het levende organisme wenden en staan er daarvoor drie wegen open :

1° diabetes-patienten,
2° diabetisch gemaakte dieren en
3° normale dieren.

1° Het principe der eerste methode, die door vele clinici is toegepast, is het volgende :

Men geeft aan suikerzieken, van wie de tolerantie nauwkeurig bekend is, een onderhuidsche inspuiting van insuline en gaat dan na hoeveel meer glucose er verdwijnt

óf door vermindering der glycosurie per 24 uur vergeleken met de voorafgaande 24 uur bij gelijk blijvend dieet (Woodyatt ; hij zoekt hiervoor patienten uit, die 20 à 25 gram glucose per dag met de urine uitscheiden).

óf door bij lichte glycosurie 100 à 120 gram glucose aan het overigens gelijk blijvend dieet toe te voegen en te trachten door insuline de glycosurie van dezelfde orde te houden (Wilder, c. s.)

In het eerste geval berekent men dus uit de verminderde glycosurie, in het tweede geval uit de hoeveelheid koolhydraten in het voedsel toegediend, verminderd met de bekende tolerantie (bij negatieve tolerantie natuurlijk ermee vermeerderd) de hoeveelheid koolhydraten, die de ingespoten hoeveelheid insuline heeft doen verdwijnen. Deze hoeveelheid, in grammen glucose uitgedrukt en gedeeld door het aantal eenheden gebruikte insuline, is dan het glucose-insuline æquivalent.

Priesel en Wagner (30), vooral den nadruk leggend op het belang der klinische ijking van insuline-preparaten (zooals ook Laqueur (31) steeds verdedigde), meenen dat vooral kinderen met ernstige diabetes hiervoor zeer geschikt zijn. Zij geven echter niet aan, hoeveel gram glucose bij hun methode overeenkomt met één eenheid insuline.

De onderzoekers, die bij suikerzieken het glucose-insuline æquivalent bepaalden, komen tot zeer verschillende uitkomsten :

Woodyatt (32) vindt 1 à 1 $^1/_2$ gram glucose per eenheid insuline.

Wilder c.s. (33) geeft als gemiddelde 1.45 gr. met als grenzen 0.9 en 3.1; in een latere publicatie (34) gemiddeld 1.7 gram voor één oude klinische eenheid en 2 gram voor een nieuwer Lilly-preparaat.

Mac Phédran en Banting (35)	2.5	gram
Lefever (36)	2	„
Russel, Bowen, Pucher (37)	2 à 3	„
Mac Cann, Hannen en Dood (38)	0.5 à 3.6	„
Olmsted en Kahn (39)	1 à 2	„
Campbell en Fletcher (40)	2 à 2.5	„

2° Nog grooter verschillen vindt Allan (41), die van de tweede methode gebruik maakt. Aan 2 gedepancreatiseerde honden werd een constant dieet van 500 à 600 gram vleesch en 100 gram rietsuiker per dag gegeven.

De hoeveelheid suiker per dag toegediend, verminderd met hetgeen daarvan in de 24-uurs urine verschijnt en gedeeld door het aantal eenheden insuline dagelijks ingespoten, geeft ons het æquivalent. Hij vindt hiervoor hoeveelheden, die wisselen van 3 tot 20 gram glucose per eenheid insuline.

Allan komt tot de conclusie, dat bij constante dosis insuline het glucose-æquivalent stijgt, naarmate men meer glucose toedient en dat omgekeerd bij constant koolhydraat-dieet het evenwicht per eenheid vermindert bij het geven van grootere doses insuline.

Door zijn cijfers in kromme te zetten komt hij tot de formule :

$$\log g = 1.86 \overset{-0.85}{\log u}.$$

waarin g het aantal grammen glucose is en

u de dosis insuline in eenheden.

Aan dengene, die weet aan hoe groote schommelingen de bloedsuiker van den hond onderhevig is, zegt Aubertin (42) :

« il apparaît clairement qu'il est particulièrement difficile d'obtenir avec des doses égales d'insuline des chutes de glycémie constantes. Les mêmes variations observées chez les animaux normaux se retrouvent, accrues, chez le chien dépancréaté. Et c'est pourquoi Allan, essayant d'établir la quantité de glucose, qu'une unité d'insuline peut permettre de métaboliser à un chien dépancréaté, est arrivé à des valeurs pouvant aller de 3 à 20 ! »

Bovendien geeft Allan zelf toe, dat het niet onmogelijk is, dat bij de belangrijke stoornis in de eiwit-assimilatie van den gedepancreatiseerden hond, een gedeelte der suiker langs het darmkanaal verdwijnt. Immers ook von Mering en Minkowski (l.c.) zeggen reeds in hun eerste artikel over gedepancreatiseerde honden :

« dass die diabetischen Thiere Neigung zu Erbrechen und Durchfällen zeigten, namentlich auch nach der Zufuhr von Kohlehydraten in der Nahrung. »

3° De derde methode, op normale dieren dus, is het eerst door Eadie en Mac Leod (43) toegepast.

Eadie had aangetoond, dat onderhuidsche inspuiting van 1 gram glucose per Kgr. lichaamsgewicht bij konijnen een stijging der bloedsuiker geeft, die na een half uur maximaal is, maar na ongeveer 3 uur weer verdwenen. Bij verdubbeling van deze dosis is de stijging grooter en daalt eerst weer na 3 à 5 uur.

De invloed van insuline op deze bloedsuiker-krommen is toen bestudeerd door tegelijk met de glucose of $^1/_2$ à 1 $^1/_2$ uur tevoren insuline in te spuiten. Schrijvers zien dan een effect, zoowel op de hoogte als op den duur der hyperglycaemie, en wel het sterkst bij gelijktijdige inspuiting van glucose en insuline.

Ze stellen hun methode voor ter standariseering van insuline en wel aldus toegepast :

« As one unit might then be considered the amount of insulin capable of preventing a rise of blood sugar to above the normal level of 0.115 °/₀ within half an hour after the injection subcutaneously of 2 grams glucose per kilo body weight ; the insulin being injected one hour prior to the glucose. »

Men kan hiertegen belangrijke bezwaren aanvoeren :

De ingespoten hoeveelheid glucose is veel te klein. De hyperglycaemie stijgt, wanneer daarbij geen insuline wordt gegeven, tot hoogstens 2.30 °/₀₀ en is $^1/_2$ à 1 uur na de inspuiting alweer aan het dalen. Het is dus een hoeveelheid, die gemakkelijk door de interne secretie van het dier zelf kan overwonnen worden. En dan wat vooral noodig is om insuline en glucose te compenseeren : de maximale werkingen van beide moeten ongeveer samenvallen. Het maximum effect der insuline komt echter veel later : bij kleine doses na ongeveer 4 uur ; bij grootere, zooals in dergelijke experimenten na nog langeren tijd.

Een inspuiting van glucose ineens is dus niet bruikbaar.

Minder om het evenwicht tusschen glucose en insuline te bepalen, dan wel om den invloed van groote doses insuline op de bloedsuiker te bestudeeren en deze eventueel voor toepassing in de kliniek geschikt te maken, hebben de Jongh en Laqueur (45) in een serie van 15 experimenten een onderhuidsche inspuiting van 3 à 12 eenheden insuline laten volgen door herhaalde toediening van glucose per os of subcutaan in totale hoeveelheid van 6 à 12 gram bij konijnen.

Hier blijkt duidelijk, dat de werking van groote doses insuline langer duurt dan enkele uren : krampen treden op na 6 $^1/_2$ à 11 uur. Bij één konijn is dan het bloedsuiker-gehalte reeds weer boven de

krampgrens (0.45), waarop het eenige uren gebleven was, gestegen tot 0.53 °/₀₀ :

« Bij dit konijn schijnt het, dat de *voortgezette* toestand van glucose-armoede de *oorzaak* der krampen was. »

Door deze herhaalde glucose-toediening (b. v. 4 maal om het uur 10 ccm glucose-oplossing 20 °/₀ onderhuids) gelukt het reeds veel beter om de bloedsuiker in de buurt van de normale waarde te houden. De laatste bloedsuiker-waarden zijn echter slechts 6 uur na de insuline-inspuiting genomen. (*)

Een techniek in 1915 door Woodyatt uitgewerkt om met behulp van een electrisch gedreven pompje een vloeistof gedurende uren met constant debiet in te spuiten, is verleden jaar door Boyd, Hines en Leese (46) gebruikt om groote hoeveelheden glucose in de bloedbaan te brengen.

Zij spuiten bij honden intraveneus een oplossing van 30 °/₀ glucose in Locke of Ringer gedurende 2 à 4 uur in met een constant debiet van 4 gram per kilo per uur.

De bloedsuiker stijgt onmiddellijk, blijft dan gedurende de geheele inspuiting op een niveau van 3 à 6 °/₀₀, maar daalt terstond na het einde der inspuiting tot de normale glycaemie. Het haemoglobine-gehalte blijft vrij constant. De invloed van insuline op deze hyperglycaemische curve is echter niet bestudeerd.

De moeilijkheid bij het glucose-insuline vraagstuk was dus, dat men geen methode bezat om een constante langdurige hyperglycaemie bij het dier te bereiken.

Deze moeilijkheid werd in 1924 door Bouckaert en Stricker (48) opgelost, die op het idee kwamen om door een langdurige subcutane inspuiting van glucose-oplossing de reactie van het pancreas te over-

(*) Koref en Rigler (47) vinden bij injectie van glucose met insuline een sterker bloedsuiker-daling dan na dezelfde hoeveelheid insuline alleen. Ze geven echter een veel te kleine dosis glucose (0.3 à 0.4 gr. per Kgr.) en hebben slechts aan 2 dieren glucose met insuline toegediend. Het genoemde resultaat verklaren zij door summeeren van endogeen en exogeen insuline.

winnen en aldus tevens een glucose-depôt onder de huid achter te laten.

Uit de curven, die ik uit hun publicatie overneem *(fig. 1)* blijkt duidelijk, dat dit eerst gelukt bij toediening van 4 gram glucose per Kg. konijn per uur gedurende 2 uur ingespoten :

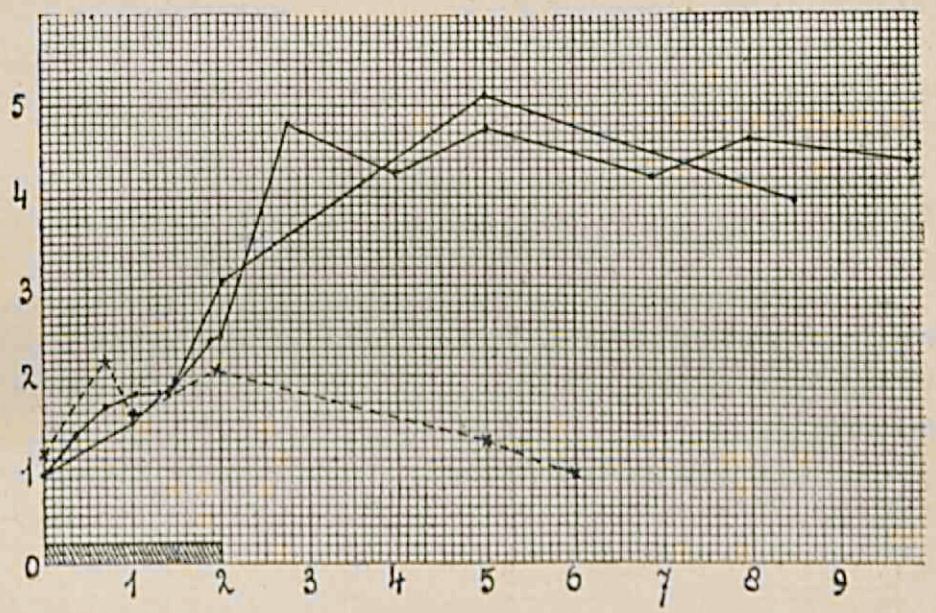


FIG. 1

Courbe de la glycémie du Lapin après injection permanente de glucose.

////////// Durée de l'injection.

..... Effet de l'injection de 3 gr. par kgr. et par heure, concentration à 6 p. 100.

——— Effet de l'injection de 4 gr. par kgr. et par heure, concentration à 10 p. 100.

Abscisse : Temps en heures.

Ordonnée : Taux de glucose du sang p. 1.000.

(naar Bouckaert en Stricker, 48)

A. Inspuiting van 3 gram per Kg. per uur gedurende 2 uur geven als maximum een hyperglycaemie tusschen 1.8 °/₀₀ en 2.5 °/₀₀ op het einde der inspuiting, die na ±6 uur weer tot de normale waarde gedaald is :

B. Inspuiting op gelijke wijze van 4 gram glucose per Kg. per uur brengt de bloedsuiker na de injectie tot een maximum van 4 à 5 °/₀₀, welk niveau zéér lang behouden wordt : de daling naar de normale glycaemie komt eerst na ± 12 uur.

De stijging begint vooral nà het eerste uur der inspuiting, waaruit Bouckaert en Stricker besluiten :

« L'organisme réagit donc également pendant le début de l'injection, après quoi sa résistance est vaincue et l'hyperglycémie monte graduellement continuant son ascension après la fin de l'injection. »

Laat ik tenslotte nog de meening van autoriteiten op insuline-gebied als Laqueur en Grevenstuk (l.c. bl. 184) over deze methode aanhalen :

« In ingeniöser Weise haben Bouckaert und Stricker wenigstens einen der Faktoren konstant gemacht. Durch ununterbrochene Glukose-infusion bewirkten Sie eine sehr gleichmässige, bis 12 Stunden dauernde Hyperglykaemie. »

Deze methode hebben Bouckaert en Stricker vervolgens gebruikt om het glucose-insuline-evenwicht te bestudeeren en wel door de glucose-oplossing te mengen met insuline (49).

Een hoeveelheid van 2 $^1/_2$ eenheid insuline (Connaught Laboratories, University of Toronto N° 266-267, 16 Jan. 1924) met 4 gram glucose per uur gedurende 2 uur met constant debiet ingespoten op aseptische wijze geeft aan het einde der inspuiting een verhooging van 77 à 120 °/₀ der bloedsuiker.

Vermeerdert men de hoeveelheid insuline tot 3 eenheden, dan vinden zij constant een bloedsuiker-daling gevolgd door crisis na 4 à 7 uur *(fig. 2)*.

Volgens schrijvers ligt dus het aequivalent tusschen $\frac{4}{3}$ en $\frac{4}{2^1/_2}$ dus tusschen 1.33 en 1.60. Zij besluiten aldus :

« En somme les variations individuelles disparaissent avec notre méthode. Elle présente l'avantage de se servir d'animaux normaux. Elle paraît donc pouvoir être employée pour doser pratiquement l'unité d'insuline. »

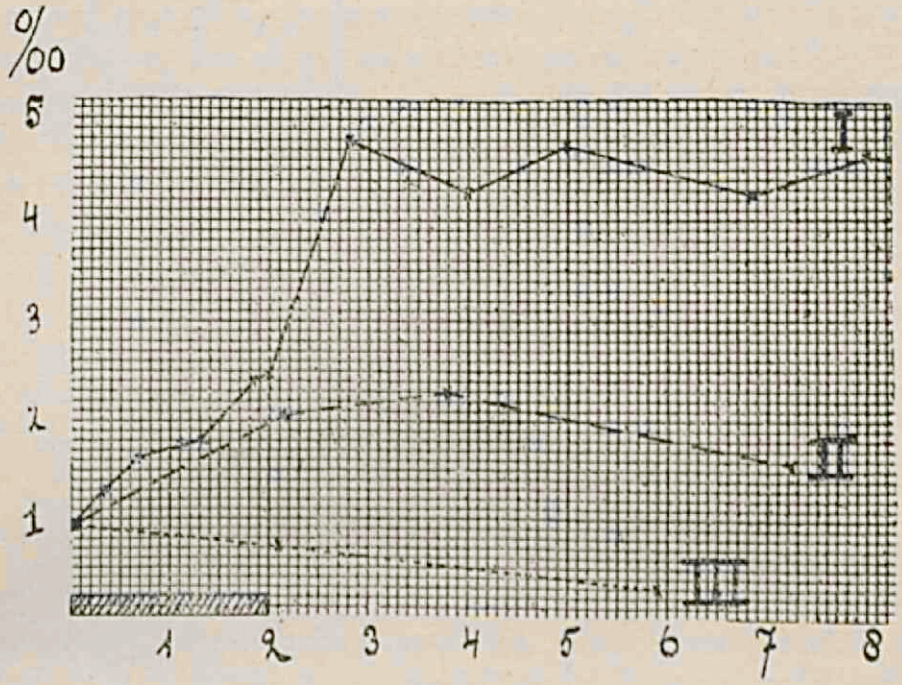


FIG. 2.

L'ordonnée marque le taux du sucre du sang en o/oo.

L'abscisse donne le temps en heures et la durée de l'injection.

I. Sucre du sang chez un Lapin injecté pendant 2 heures, avec 4 gr. de glucose par kgr. et par heure ;

II. Sucre du sang chez un Lapin injecté pendant 2 heures, avec 4 gr. de glucose par kgr. et par heure, mélangés avec 2 1/2 unités d'insuline par kgr. et par heure :

III. Sucre du sang chez un Lapin injecté pendant 2 heures, avec 4 gr. de glucose par kgr. et par heure, mélangés avec 3 unités d'insuline par kgr. et par heure.

(naar Bouckaert en Stricker, 49)

Toen ik met Bouckaert over deze onderzoekingen sprak, deelde hij mij mede, dat het herhaaldelijk gebeurd was, dat het gebruikte konijn den volgenden dag dood gevonden werd. Oorspronkelijk werd dit aan infectie of andere bijkomstige omstandigheden toegeschreven, maar toen er eens toevallig (nadat hunne publicaties reeds verschenen waren) op den tweeden dag een bepaling volgens Folin en Wu gedaan werd, bleek er een niet onbelangrijke hypoglycaemie ontstaan te zijn,

ofschoon het dier slechts 2 $^1/_2$ eenheid insuline met 4 gram glucose per Kg. per uur gehad had en dus den eersten dag na een lichte hyperglycaemie tot de normale bloedsuiker was teruggekeerd. Verder onderzoek is toen hierover door toevallige omstandigheden niet meer gedaan.

B. Eigen onderzoek.

Deze mededeeling was voor mij de aanleiding dit onderzoek weer op te vatten :

1° om na te gaan of de insuline-werking zooveel langer kan duren, dan men oorspronkelijk meende,

2° om te trachten een methode te vinden, die de bloedsuiker blijvend op het normale niveau hield na glucose-insuline-toediening en daarbij dus minstens gedurende 24 uur de glycaemie te vervolgen en

3° om, wanneer dit mogelijk zou blijken daarbij het lot der verdwenen suiker te bestudeeren onder den invloed der insuline.

Ik heb daarom bij een groot aantal konijnen met verschillende methoden van glucose-insuline toediening gedurende 24 uur bestudeerd :

a. de bloedsuiker-kromme en de glycosurie,

b. de stofwisseling langs gas-analytischen weg :

CO_2 — afgave, O_2 — opname en respiratie-quotient,
calorie-afgave,
koolhydraat en vetverbranding,

c. de alcalische reserve van het bloed en
de aciditeit der urine in 24-uurs porties vóór en na de inspuiting.

Alvorens echter tot de bespreking hiervan over te gaan wil ik de bezwaren weerleggen, die Choay (l. c. bl. 262) heeft tegen het gebruik van normale dieren bij de studie der werking van glucose en insuline :

« Le principe même de cette méthode appelle certaines objections. Au moins deux facteurs étrangers aux termes du rapport peuvent intervenir pour le fausser : d'une part l'état des réserves hydrocarbonés du foie que l'insuline peut mobiliser en partie si la glycémie tend à tomber au-dessous de la normale, d'autre part, l'existence et l'activité de la sécrétion interne du propre pancréas de l'animal normal en expérience ; or, l'activité endocrine du pancréas est mise en jeu par l'hyperglycémie provoquée. »

Schrijver geeft dus toe, dat wanneer de bloedsuiker gedurende het experiment aan dezelfde zijde van de normale lijn blijft, slechts één van de beide mechanismen in werking komt. Welnu, als we de resultaten van Bouckaert en Stricker in dit licht nog eens beschouwen, dan zien we, dat bij een æquivalent van 1.60 er een hyperglycæmie ontstaat : het organisme zal dus zelf wat insuline er bij voegen, het æquivalent is dus in werkelijkheid iets lager.

Bij een aequivalent van 1.33 echter daalt de bloedsuiker terstond en blijft onder den norm : het dier zal dan dus het tegenovergestelde doen, n. l. zijn koolhydraat-reserve aanspreken om zijn bloedsuiker en zijn leven te redden. In dat geval moet dus het evenwicht een getal zijn, iets grooter dan 1.33. Hieruit volgt dus dat, hetgeen Choay als bezwaar noemt, de methode juist gevoeliger maakt : een bepaalde hyper- of hypoglycæmie is dichter bij de normale bloedsuiker-waarden dan met de werkelijkheid overeenkomt. Tusschen deze beide waarden moet dus het evenwicht liggen.

Verder vergete men niet, dat in tegenstelling met vroegere onderzoekingen bij deze methode zéér groote hoeveelheden glucose (8 gr. p. Kg.) en insuline (5 à 6 eenh. p. Kg.) ingespoten worden, hoeveelheden, die het lichaam slechts voor een klein gedeelte zou kunnen compenseeren en die ik in een serie experimenten (XXXIII-XXXIX) nog verdubbeld en verdrievoudigd heb.

1° TECHNIEK

Bloedsuiker - bepaling.

Alle bloedsuiker-bepalingen werden gedaan volgens Folin en Wu. Het bloed werd met enkele uitzonderingen, waar hartpunctie noodig was, genomen uit de vena marginalis van het oor van het konijn. In de gevallen, waarin de glucose of insuline intraveneus toegediend werd, waarbij eveneens van dit bloedvat gebruik gemaakt werd, kwam natuurlijk alleen het andere oor in aanmerking. Na het wegknippen der haren en nadat de oorvenen voldoende verwijd waren door verwarming met een 100-kaars lamp of in sommige gevallen met xylol, werd met een scheermes een sneedje gegeven en ruim één ccm. bloed opgevangen in een klein glazen bakje, waarin een paar milligram neutraal, zeer fijn gepoederd kalium-oxalaat aanwezig was. Door het mengen hiermee wordt de stolling voorkomen ; men mag echter niet te veel oxalaat (2 mgr. p. ccm.) en in het geheel geen citraat gebruiken, omdat dit het onteiwitten zou kunnen belemmeren.

De techniek van Folin en Wu werd gevolgd, zooals aangegeven in Abderhaldens handboek (51) op bl. 852 en 879.

In een gecalibreerd reageerbuisje van 10 ccm. (te voren geijkt !) wordt aan 7 ccm. gedestilleerd water met een pipet 1 ccm. van het opgevangen bloed toegevoegd en gemengd.

Na volledige haemolyse voegt men 1 ccm 10 % oplossing van natrium-wolframaat (pro analyse " Merck „) en 1 ccm $^2/_3$ N. zwavelzuur toe. Het buisje wordt met een gummi stop gesloten, enkele malen geschud en gefiltreerd.

Slechts 2 of 3 maal op de ruim 500 bloedsuiker-bepalingen, die ik deed, was het filtraat niet volkomen helder en kleurloos. Men filtreere dan opnieuw na nog enkele druppels $^2/_3$ N. H_2SO_4 toegevoegd te hebben.

In dit onteiwitte filtraat is het bloed dus 10 maal verdund.

Voor de bloedsuikerbepaling heeft men de volgende oplossingen noodig :

OPL. A. Alcalische koperoplossing :

40 gram zuiver watervrij Na-carbonaat oplossen in
400 ccm gedest. water in een liter-maatkolf. Toevoegen :
7,5 gram wijnsteenzuur en na volledige oplossing hiervan
4,5 gram kopersulfaat.
Nadat ook dit opgelost en gemengd is wordt aqua dest. toegevoegd tot een volume van één liter bereikt is.
2 ccm moeten bijna geheel ontkleurd worden door 2 ccm van oplossing B (afwezigheid van koper-oxydule).

OPL. B. 20 gram zuiver natriumhydroxyde oplossen in
400 ccm aqua dest. Daarna toevoegen :
35 gram molybdeenzuur en
5 gram natriumwolframaat.
Daarna 20 à 40 minuten krachtig koken tot alle NH_3 verdreven is, afkoelen en verdunnen tot $\pm$350 ccm.
125 ccm phosphorzuur 85 % worden nu hiermee gemengd en daarna gedest. water toegevoegd tot een volume van 500 ccm.

OPL. C. Een 1 % oplossing van volkomen zuivere glucose wordt als standaard-oplossing bewaard onder een dikke laag toluol of xylol en is onbeperkt houdbaar.
De vergelijkingsoplossingen worden hiervan gemaakt door verdunning van :

1 ccm op 50 ccm water (2 mgr. p. 10 ccm) en
1 ccm op 100 „ „ (1 mgr. p. 10 ccm)

Deze beide laatste oplossingen maakte ik minstens éénmaal per week versch, ofschoon aangegeven wordt, dat ze een maand houdbaar zijn.

Als standaard-oplossing heb ik voor het geheele onderzoek, dat 6 $^1/_2$ maand duurde, steeds dezelfde vloeistof gebruikt.

Alle gebruikte pipetten zijn nauwkeurig geijkt met gedestilleerd water bij 15° C. Dat dit noodig is blijkt hieruit, dat men soms fouten tot 18 °/o vindt bij pipetten uit den handel betrokken.

De belangrijkste pipet, die van 1 ccm ter verdunning der standaard-oplossing, bleek bij herhaalde ijking slechts een fout van 0.1°/o te hebben.

Tijdens het geheele onderzoek zijn alle pipetten slechts voor hetzelfde doel gebruikt en is er geen enkele gebroken, zoodat alle waarden dus onderling vergelijkbaar zijn.

Voor de koperreductie gebruikt men speciale buizen, zooals door de auteurs aangegeven zijn. Deze hebben een vernauwing op zoodanige hoogte, dat 4 ccm in de buis gebracht, juist zijn oppervlak in deze vernauwing brengt. De bedoeling hiervan is de reoxydatie van het ontstane koperoxydule tijdens de verwarming zoo gering mogelijk te doen zijn door een zoo klein mogelijk contact met de lucht.

Om een grooter aantal bepalingen tegelijk te kunnen doen zonder gevaar voor verwarring, gebruikte ik als deksel voor het kookpannetje een koperen plaat, waarin in een kring 10 gaten geboord zijn, op elk waarvan een koperen buisje van ±7 cM. lengte gebraseerd is. De wijdte hiervan is zoo gemaakt, dat de bovenbeschreven buizen gemakkelijk erin passen. Om de buizen worden caoutchouc ringen geschoven, die evenals de koperen buisjes een nummer hebben, zoodat elk zijn vaste plaats heeft. De ring is zoo hoog aangebracht, dat, wanneer de reageerbuis hiermee op de koperen buis hangt, het bolvormige gedeelte in het kookpannetje ruim onder water komt.

In het midden van het deksel is een koperen staafje van ±20 cM. lengte met haakvormig gebogen uiteinde aangebracht. Het voordeel van een dergelijk deksel is, dat men aldus 8 bloedsuikers en 2 vergelijkingsvloeistoffen tegelijk kan koken en daarna het geheel zoowel kan ophangen aan een draad boven het koelbad, als naast den colorimeter op tafel kan zetten ; daar de koperen buisjes van voldoende hoogte zijn, kunnen de reageerbuizen niet omvallen.

De bepaling wordt aldus uitgevoerd : in elke buis worden aan 2 ccm van het onteiwitte filtraat of van de vergelijkingsvloeistof 2 ccm van Opl. A toegevoegd. Het geheel wordt gedurende 6 minuten in kokend water geplaatst. Daarna hangt men ze gedurende 2 à 3 min. in een koud waterbad. Vervolgens laat men bij elk 2 ccm Opl. B druppelen, echter juist boven de vernauwing van de buis, daar anders deze zware vloeistof langs den wand naar onder zakt. Het opborrelende CO_2 zorgt nu voor voldoende menging. Nadat alle koperoxydule opgelost is, wordt water toegevoegd tot 25 ccm (op de buis aangegeven).

Ik gaf er echter de voorkeur aan met een pipet 20 ccm toe te voegen (dus tot 26 ccm aan te vullen), omdat dit sneller gaat en bovendien nauwkeuriger is, daar in de vrij wijde reageerbuis de vloeistof-meniscus lastig af te lezen is. De fout gemaakt door de verdamping tijdens de verwarming mag men verwaarloozen, omdat het verdampende oppervlak zeer klein is en bij alle buizen ongeveer even groot.

Na mengen kunnen de vloeistoffen in den colorimeter vergeleken worden.

Wij maakten gebruik van een colorimeter volgens Duboscq en wel uitsluitend in de donkere kamer. De verlichting geschiedde met een 400-kaars Argenta lamp en werd gefiltreerd door blauw glas tot ongeveer de kleur van daglicht.

Aldus is men onafhankelijk van de wisselende sterkte van het daglicht en bovendien is het instellen in het donker na adaptatie veel zuiverder.

Oorspronkelijk werd de bloedsuiker berekend, alsof de dikte van de beide vloeistoflagen na instelling op gelijke kleur direct omgekeerd evenredig is met de concentratie. Spoedig bleek mij echter, dat men aldus enkele factoren verwaarloost :

1° bij instelling rechts en links op een gelijk cijfer is de afstand van den onderkant der glazen staafjes tot den bodem der vloeistofbakjes niet precies gelijk.

2° er is een klein verschil in kleur links en rechts, misschien wel onvermijdelijk in een Duboscq, waar men door een glaslaag van ± 10 cM. dikte kijkt.

3° blijft de vraag of de intensiteit der blauwe kleur werkelijk direct evenredig is met de glucose-concentratie der vloeistof.

Na de eerste serie konijnen heb ik daarom een paar dagen eraan besteed een aantal glucose-oplossingen volgens Folin en Wu te bepalen. Iedere oplossing werd 3 maal uit de standaard-oplossing gemaakt, waarvan elk weer 3 maal afgelezen werd. Uit deze 9 cijfers werd dan telkens het gemiddelde genomen.

De vergelijkingsvloeistof werd steeds op 20 mM. dikte met een loupe ingesteld, zoodat men steeds dezelfde kleurintensiteit heeft. De gevonden cijfers werden op millimeterpapier uitgezet en aldus verkregen we 2 geheel regelmatig verloopende krommen, één bij vergelijking met 0.1 °/₀₀ glucose-oplossing en één voor 0.2 °/₀₀. Verder werd nog een kromme gemaakt voor de zéér lage waarden door de 0.1 °/₀₀ oplossing niet op 20, maar op 10 mM in te stellen.

Men kan dus iedere bloedsuiker nu volgens 2 krommen bepalen en het gemiddelde nemen. De afwijkingen bleken nu zeer gering.

Daar verschillende waarnemers bij een gering kleurverschil links en rechts niet op dezelfde wijze instellen, hebben dergelijke curven de meeste waarde voor dengene, die ze gemaakt heeft.

Onderzoek der urine op glucose en aceton.

De urine werd steeds, ook vóór de inspuiting, onderzocht op de aanwezigheid van glucose volgens Benedict (52).

De 24-uurs urine werd verzameld in een $^1/_2$ L. Erlemeyerkolf, geplaatst onder de afvoerbuis van de kooi. In de eerste serie werd uitsluitend thymol als conserveeringsmiddel hieraan toegevoegd, later een fijn gepoederd mengsel van 90 °/₀ fluornatrium en 10 °/₀ thymol en wel 1 gram per 24 uur. (*)

(*) Dit mengsel is het eerst door Sanders aanbevolen (53) om bloed gedurende eenige dagen onveranderd te bewaren, en wel door 10 mgr. per ccm toe te voegen.

Was de qualitatieve reactie van Benedict positief, dan werd ook volgens zijn quantitatieve methode de uitgescheiden hoeveelheid glucose per 24 uur bepaald.

A. Qualitatieve methode

173 gram natriumcitraat en
100 gram watervrij natriumcarbonaat worden opgelost in
±600 ccm gedestilleerd water.
17.3 gram kopersulfaat wordt opgelost in
±150 ccm aqua dest. en daarna bij de eerste oplossing gevoegd, die nu tot 1000 ccm verdund wordt.

Reactie :

5 ccm van deze oplossing worden gedurende anderhalve minuut krachtig gekookt met
8 druppels urine.
Bij aanwezigheid van glucose krijgt men een rood neerslag ; is er minder dan 0.3 °/₀, dan komt dit eerst na eenigen tijd staan (enkele minuten).
Bij negatieve reactie blijft de vloeistof helder of licht troebel blauw.

B. Quantitatieve methode

18 gram kopersulfaat (zéér zuiver)
100 gram watervrij natriumcarbonaat
200 gram kalium- of natriumcitraat
125 gram kaliumsulfocyanuur
5 ccm 5 °/₀ ferrocyaankali-oplossing
aqua dest. ad 1000 ccm.

Bereiding als A, dus het opgeloste $CuSO_4$ het laatst toevoegen.

Bepaling : De gefiltreerde urine wordt in een buret gebracht.

25 ccm van deze oplossing B worden in een
150 ccm Jena-kolfje met
5 à 10 gram natriumcarbonaat en een
mespunt puimsteenpoeder of talk

op een asbest-gaasje boven een Bunsen-brander aan de kook gebracht.

Men laat dan vrij snel urine bijloopen tot er een wit kalkachtig praecipitaat ontstaat en kookt door tot de blauwe kleur niet meer lichter wordt.

Nu laat men al kokende langzaam urine bijdruppelen tot de blauwe kleur geheel verdwenen is. De omslag is veel scherper dan bij titreeren met Fehling of met de qualitatieve oplossing van Benedict.

De gebruikte hoeveelheid urine bevatte 50 mgr. glucose.

Wanneer men niet geheel zeker is, dat het gebruikte kopersulfaat 100 % $CuSO_4$ is en men wel over zuivere glucose beschikt, kan men beter de vloeistof daarmee ijken.

Meerdere urines heb ik volledigheidshalve op aceton onderzocht. Daar deze reactie echter steeds negatief was, heb ik dit niet in de tabellen opgenomen, om ze niet onnoodig gecompliceerd te maken.

Gebruikt werd de reactie van Legal :

In enkele ccm urine wordt een weinig gepoederd nitroprussidnatrium zonder verwarmen opgelost en daaraan een gelijk aantal ccm 10 % NaOH toegevoegd.

De roode kleur (kreatinine) van de vloeistof, aldus verkregen, verdwijnt bij toevoegen van ijsazijn.

Was er echter aceton aanwezig, dan wordt de roode kleur daardoor juist intensiever en krijgt een fraaie Bourgogne-tint.

Diermateriaal.

Als proefdieren zijn konijnen gebruikt van beiderlei geslacht en ongeveer 2 Kg gewicht.

Alle 45 dieren werden slechts voor één experiment gebezigd en waren tevoren nooit voor andere onderzoekingen gebruikt.

Met uitzondering van de eerste paar experimenten werden ze aan de volgende constante voorwaarden onderworpen :

Het dier was minstens reeds een week in de stallen van het Instituut en kreeg daar een vrij constante, gemengde voeding.

Daarna werd het, na gewogen te zijn, 24 uur vóór de inspuiting in een kooi met glazen wanden overgebracht, die bij mij in het laboratorium stond. De bodem daarvan was bedekt met een fijn rooster, zoodat de urine in de eronder geplaatste Erlemeyer kon afvloeien. Als voedsel kreeg het dan 150 gram bieten per Kg lichaamsgewicht, welke gewoonlijk na enkele uren opgegeten waren, zoodat de dieren 18 à 20 uren vóór de inspuiting niet gegeten hadden (54).

Na de inspuiting werd alleen water tot hun beschikking gesteld gedurende de eerste 24 uur. Eerst daarna kregen ze weer 150 gram bieten per kilo.

Aldus waren de dieren gedurende het geheele experiment bij kamertemperatuur (17 à 20° C.).

Zoogenaamde „ Russische " konijnen zijn niet gebruikt, omdat ze zeer onrustig zijn.

Gebruikte glucose en insuline.

Als glucose is uitsluitend gebruikt : „ Glucose pur anhydre Poulenc ". Dit preparaat bleek, toen men bij de indertijd in het Physiologisch Instituut te Leuven gedane onderzoekingen over het „ glucosehart " zeer zuivere druivensuiker noodig had, aan hooge eischen te voldoen.

In het proefschrift van Verrijp (55) lees ik, dat prof. Schoorl een aschgehalte vond van slechts 0.02 °/₀, terwijl een 5 °/₀ oplossing gaf : $K_{18} = 1.2 \times 10^{-5}$.

Verrijp vindt met Na-oxalaat volgens methode Boehm minder dan 5 mgr. Ca per 100 gram ; terwijl kalium met de zeer gevoelige methode van de Koninck-Bousser niet aan te toonen is.

Dr. Putzeys te Leuven, die zoo vriendelijk was eveneens deze glucose te onderzoeken, vond ;

bij verbranding van 10 gram geen zichtbaar aschgehalte ;

bij onderzoek op chloriden met $AgNO_3$ geen troebeling ;

bij de smeltpuntbepaling in een capillair buisje volgens Roth en op het blok van Maquenne : hetzelfde cijfer dat Beilstein geeft voor zuivere watervrije glucose (146° C.)

Daar ik de glucose in een exsiccator boven zwavelzuur bewaarde, mocht ik dus veilig aannemen, dat een hiervan afgewogen hoeveelheid practisch inderdaad 100 °/o glucose was, wat vooral bij de bereiding der standaard-oplossing voor de bloedsuikerbepaling van groot belang is.

Met uitzondering van de eerste serie experimenten werd steeds een 20 °/o -oplossing gebruikt en wel als volgt bereid :

20 gram (of een veelvoud hiervan) werd afgewogen en vervolgens in een iets te geringe hoeveelheid, versch, over tin gedestilleerd water in een Erlemeyer onder verwarming opgelost. Na afkoeling werd deze oplossing overgebracht in een maatkolf van 100 ccm (of een veelvoud), de Erlemeyer 3 maal nagewasschen met een kleine hoeveelheid water en de maatkolf daarna bijgevuld tot de streep.

Als insuline werden twee preparaten gebruikt :

ALLAN-HANBURY. Ampullen van 5 ccm bevattende 20 eenheden per ccm en wel :

3 fleschjes van Batch n° 334 (geldig tot Nov. '26) en

1 fleschje van Batch n° 331 (geldig tot Juni '26).

In de hierbijgaande *tabel n° 1* zijn deze aangeduid als AB 1 — 4. Tevens vindt men daarin de nummers der konijnen waarvoor elk fleschje gebruikt werd en de data dezer experimenten.

INSULINUM-NEERLANDICUM. Als tweede preparaat had ikhet voorrecht sedert Februari te kunnen beschikken over het standaardpreparaat in poedervorm, dus zeer houdbaar, der Nederlandsche insuline ; „ Organon 331 " (*).

Dit preparaat dient als standaard bij de ijking van de Nederlandsche insuline. De sterkte hiervan is dus nauwkeurig bekend en behalve door Laqueur te Amsterdam, ook door Dale te Londen bepaald :

0.36 mgr. = één internationale eenheid (= 0.9 oude kramgrensdosis)

(*) Voor de welwillendheid, waarmede Prof. Laqueur een belangrijke hoeveelheid van dit waardevolle preparaat tot onze beschikking stelde, betuig ik hier gaarne mijnen hartelijken dank.

TABEL I

GEBRUIKTE INSULINE

NUMMERS EN DATA DER EXPERIMENTEN		MERK DER INSULINE BATCH		
I-IV	4 Dec. '25-10 Dec. '25	Allan-Hanbury N° 334	geldig tot Nov. '26	AB[1]
IV-IX	11 Dec. '25-21 Dec. '25	„ 331	„ Juni '26	AB[2]
X-XVI	22 Dec. '25-1 Febr. '26	„ 334	„ Nov. '26	AB[3]
XVII	3 Febr. '26	„ 334	„ „	AB[4]
XVIII-XXX	3 Febr. '26-12 Maart '26	Ins. Neerlandic. Organon N° 331	91,7 mgr. in 25,5 ccm	IN[1]
XXXI-XLII	29 April '26-31 Mei '26	„ „	95,2 mgr. in 26,4 ccm	IN[2]

De gebruikte insuline zal verder alleen worden aangegeven met de teekens in de laatste kolom vermeld.

Het poeder werd na afwegen opgelost (volgens opgave van Laqueur) in $^1/_{100}$ N. HCL, waaraan als antisepticum 0.3 % tricresol is toegevoegd.

Daar ik het van belang achtte telkens een zoo groot mogelijke hoeveelheid tegelijk op te lossen, om bij eene groote serie proeven dezelfde oplossing te kunnen gebruiken, heb ik een speciaal fleschje van ruim 25 ccm inhoud laten maken (*fig. 3*), waarin het mogelijk is de oplossing steriel, ook bij geregeld openen, en vrij van verdampen te bewaren.

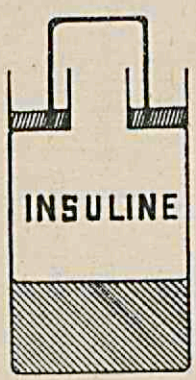


FIG. 3
Fleschje voor het steriel- en verdampingsvrij bewaren van een grootere hoeveelheid insuline-oplossing.

Het fleschje met het glazen dekseltje worden in filtreerpapier gedraaid en droog gesteriliseerd.

Op een chemische balans wordt het nu nauwkeurig getarreerd; ±90 mgr. droog insuline (in den exsiccator bewaard) erin geschud en daarna op $^1/_{10}$ mgr. nauwkeurig gewogen.

Vindt men b.v. 91.7 mgr., dan bevat deze hoeveelheid 91.7, gedeeld door 0,36 = 254.7 eenheden. Lost men deze nu op in 25.47 ccm steriel $^1/_{100}$ N. HCL + 0.3 % tricresol, dan bevat iedere ccm 10 eenheden.

Giet men nu in den rand om den hals van het fleschje een weinig ± $^1/_2$ % tricresol-oplossing en vult dit bij verdamping steeds weer bij, dan kan men het fleschje herhaaldelijk steriel openen en sluiten, zonder gevaar dat er stof, zooals bij watten-sluiting, invalt of dat er verdamping plaats vindt.

Het werd in het donker onder een omgekeerd bekerglas bewaard. In tabel I ziet men, dat het voor een groote serie experimenten slechts 2 maal noodig was deze oplossing te bereiden.

De benoodigde hoeveelheid insuline werd met een steriele gecalibreerde 1 of 2 ccm pipet eruit genomen en dan overgebracht óf in de glucose-oplossing (Serie A), óf in een steriel bakje met enkele ccm

physiologische zout-oplossing. Hieruit dan opgezogen met een 5 of 10 ccm injectiespuit, waarna het bakje nog 2 maal met een weinig pk werd nagespoeld, totdat de spuit 5 à 6 ccm bevatte, waarin dus de verlangde hoeveelheid insuline aanwezig was.

Wijze van inspuiten.

Aan een buret, die van onder tot een dun buisje is uitgetrokken, wordt een dunne caoutchouc slang van 40 à 50 cM. lengte (ventielslang uit den rijwielhandel) bevestigd.

Van een gewone, roestvrije injectienaald wordt de kop zoover afgedraaid tot ze in het andere einde van deze ventielslang past.

Het geheel wordt tezamen met een gecalibreerde pipet van 1 of 2 ccm in een lang, smal, linnen zakje geschoven en dan het onderste boven in een stoomsterilisator geplaatst.

Daarbij worden dan gevoegd :

a. de 20 % glucose oplossing in de maatkolf met een glazen kapje bedekt (oorspronkelijk werd met een prop watten afgesloten, maar dit geeft vezels in de vloeistof, die het systeem kunnen verstoppen). Om den hals hangt aan een draad een passend gummi stopje.

b. een uit elkaar genomen injectiespuit van 5 of 10 ccm eveneens in een linnen zakje.

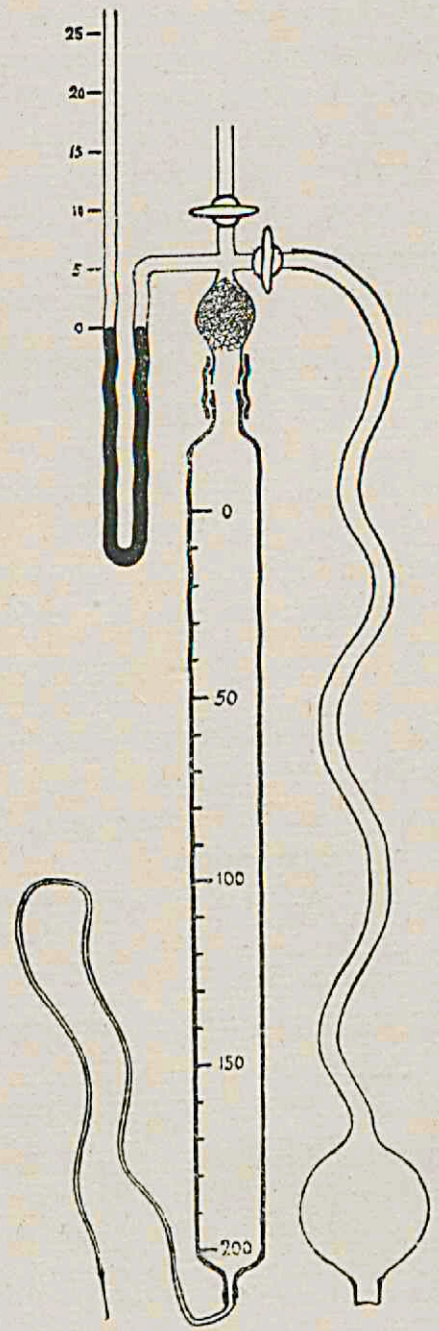
c. een paar glazen bakjes tusschen 2 glazen deksels.

d. eventueel nog een hoeveelheid glucose-oplossing met een groote injectiespuit om wanneer noodig bij crisis in te spuiten.

Er wordt gesteriliseerd gedurende ongeveer één uur in stoom zonder overdruk. Daarna wordt alles er uit genomen.

Na afkoeling blijkt, dat er van de glucose oplossing in de maatkolf geen waarneembare hoeveelheid verdampt is, omdat deze voortdurend in een verzadigde waterdamp-atmospheer is geweest en daarna vrij snel afgekoeld.

De hals wordt dan met een gummi stopje gesloten.



De verlangde hoeveelheid insuline wordt met de pipet, die men voorzichtig zonder de buret aan te raken uit het zakje schuift, al naar de bedoeling overgebracht in de maatkolf met de glucose-oplossing en daarmee gemengd, of zooals reeds eerder beschreven in een glazen bakje en daarna in de injectiespuit opgezogen.

De glucose-oplossing wordt dan in een buret gegoten en deze kan nu, omdat ze boven een weinig vernauwd is, zooals men in bijgaande teekening ziet, door een stukje wijde caoutchouc slang verbonden worden met het manometer systeem.

De injectiesnelheid wordt uitsluitend geregeld door vermeerdering of vermindering van den druk op de vloeistof.

Hiervoor maakte ik gebruik van de opstelling, zooals in *fig. 4* aangegeven. Vier glazen buisjes komen in één punt in kruisvorm samen.

De onderste is via een met steriele watten opgevulde verwijding met een stukje caoutchouc slang met de buret verbonden.

FIG. 4. Buret voor het gedurende langen tijd met constant debiet inspuiten van glucose-oplossing.

De linksche is verbonden met een manometer, die tot 25 cM positieven en 5 cM negatieven kwikdruk aangeeft.

De rechtsche is door een kraan met een gummislang en -ballon (zooals door kappers gebruikt) verbonden, waarmee men het systeem onder druk kan brengen.

De bovenste geeft langs een kraan verbinding met de buitenlucht, waardoor men lucht kan doen ontsnappen of binnenlaten.

Aldus kan de snelheid der injectie naar believen geregeld worden. Gaat de injectie te langzaam, dan geeft men wat overdruk : de wattenprop belet het infecteeren der vloeistof. Gaat de inspuiting te snel, dan sluit men beide kranen, de druk vermindert geleidelijk en wordt negatief, tenslotte daalt het debiet tot nul.

Om tijdens de inspuiting voortdurend te weten, hoeveel ccm men bij aflezing der buret moet vinden, wordt tevoren op millimeterpapier op de abscis de tijd der inspuiting in minuten, op de ordinaat de in te spuiten hoeveelheid vloeistof in ccm uitgezet. Door het begin- (= o) en het eindpunt (b.v. 85 ccm.) der inspuiting door een rechte lijn te verbinden, kan men b. v. elke 5 minuten aflezen, hoever de injectie gevorderd moet zijn.

Gewoonlijk werd slechts zeer weinig van dit ideaal verloop der injectie afgeweken ; is er een klein verschil, dan is dit echter door verandering van den druk in enkele minuten weer ingehaald.

Als onderlaag om het dier te bevestigen is een gewone platte operatietafel af te raden, omdat het konijn tijdens een langdurige inspuiting daarop wegens de ongemakkelijke houding niet rustig blijft liggen, wat ook invloed heeft op de bloedsuiker.

Als operatietafel gebruikten we daarom een zeer praktisch bankje, zooals in het Leuvensche Instituut in gebruik :

Een dikke lap caoutchouc is op een rechthoekig houten rekje uitgespannen, dat op 4 vrij hooge pooten op tafel staat. In de caoutchouc zijn 4 gaten aangebracht om de pooten van het konijn door te schuiven en deze daarna op de gewone wijze aan de pooten van het bankje te bevestigen.

Tusschen de achterpooten is in den gummilap nog een driehoekige opening geknipt, waardoor urine in een eronder staand bakje kan afvloeien.

Het voordeel van deze wijze van opbinden is, dat het konijn in een gemakkelijke houding op een veerende onderlaag ligt en geen steun heeft voor zijn pooten. Het gebeurde slechts zelden, dat het dier zich tijdens de inspuiting ernstig verweerde, niettegenstaande deze gewoonlijk 2 uur duurde.

Nadat het dier aldus opgebonden is, wordt eerst op de beschreven wijze bloed afgenomen ter analyse en daarna de injectienaald in de oorvene of onder de huid gebracht. Is er geen insuline aan de glucose toegevoegd, dan wordt onmiddellijk hierna de insuline met de injectiespuit intraveneus of subcutaan ingespoten.

Bij de intraveneuse glucose-injecties is het noodzakelijk den kop van het konijn in een stevige klem vast te maken en het gebruikte oor en ook het slangetje, dat naar de naald gaat, aan een statief te bevestigen.

In fig. 5 en 6 ziet men foto's van een dergelijke inspuiting van 2 verschillende afstanden genomen.

Op de tweede foto ziet men duidelijk hoe de naald in de tevoren door verwarming of xylol verwijde vena marginalis van het oor is gebracht.

Bij vele experimenten is tijdens de inspuiting een thermometer à demeure in het rectum aangebracht. (Bij een konijn moet men, om een betrouwbare temperatuur te krijgen, deze 8 à 10 cM in het rectum schuiven.)

Om voortdurend de temperatuur te kunnen volgen werd geen maximaal-, maar een gewone thermometer gebruikt.

Om afkoeling van het dier te voorkomen werd tijdens de inspuiting steeds een electrisch verwarmd matje over zijn rug gelegd. Ook de rustigheid van het konijn wordt hierdoor ten zeerste bevorderd.

LANGZAME
INTRAVENEUSE
INJECTIE
VAN EEN
MENGSEL
GLUCOSE EN
INSULINE.

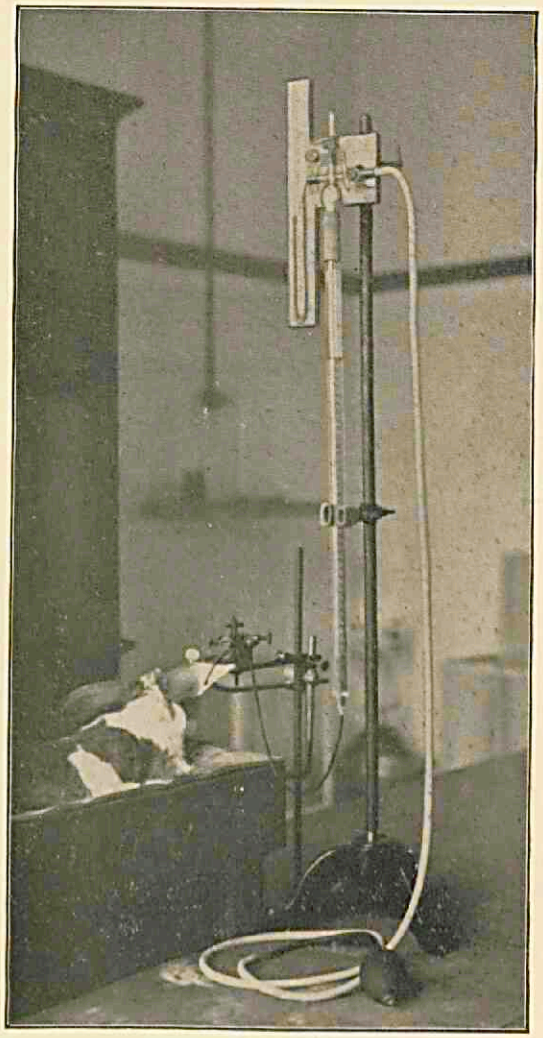


FIG. 5.

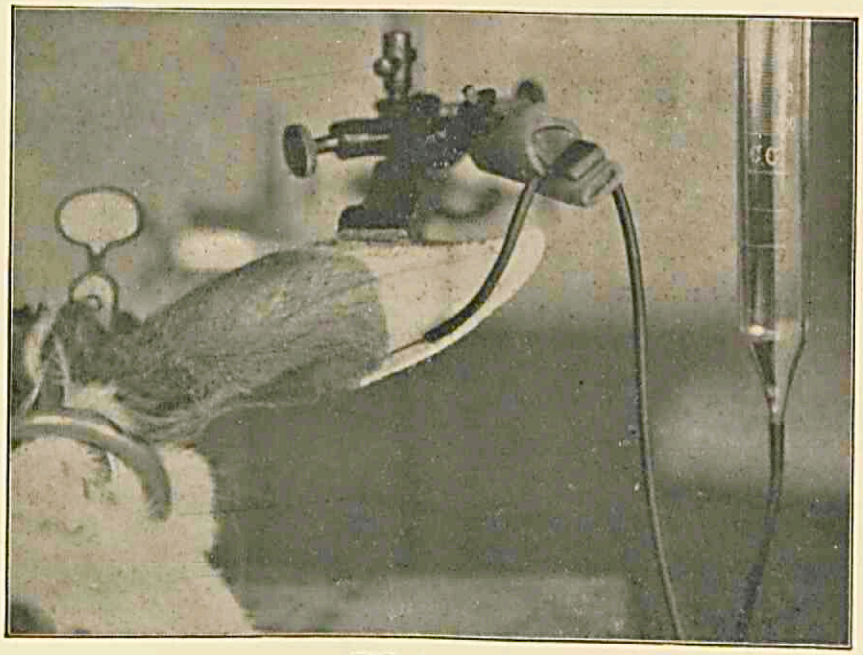


FIG. 6.

2° Normale bloedsuikers. Contrôle-experimenten.

In *tabel II* zijn opgegeven de resultaten der bloedsuikerbepalingen van alle konijnen vóór de inspuiting, dus de normale waarden.

Het gemiddelde der eerste tien experimenten is misschien wat hooger, omdat bij deze bepalingen nog geen gebruik gemaakt werd van de eerst hierna vervaardigde nauwkeurige ijkingskrommen, zooals boven beschreven is.

TABEL II

NORMALE BLOEDSUIKERS

I - 1.52	XVI - 1.35	XXXI - 1.07
II - 1.15	XVII - 1.15	XXXII - 1.39
III - 1.52	XVIII - 1.29	XXXIII - 1.52
IV - 1.21	XIX - 1.15	XXXIV - 1.23
V - 1.55	XX - 1.25	XXXV - 1.26
VI - 1.60	XXI - 1.30	XXXVI - 1.30
VII - 1.83	XXII - 1.32	XXXVII - 1.23
VIII - 1.58	XXIII - 1.32	XXXVIII - 1.38
IX - 1.65	XXIV - 1.28	XXXIX - 1.29
X - 1.49	XXV - 1.30	XL - 1.20
XI - 1.09	XXVI - 1.36	XLI - 1.26
XII - 1.24	XXVII - 1.24	XLII - 1.40
XIII - 1.35	XXVIII - 1.24	XLIII - 1.19
XIV - 1.46	XIX - 1.36	XLIV - 1.23
XV - 1.26	XXX - 1.10	XLV - 1.28

Gemiddelde van alle cijfers : 1.32^{8}.

Gemiddelde van N° XI-XLV : 1.27^{6}.

Bij weglaten van deze cijfers vinden we als gemiddelde 1.27^6 ;
Bij meetellen ervan 1.32^8.

Men ziet dus ook vrij groote verschillen bij konijnen, die onder zooveel mogelijk dezelfde voorwaarden van voeding gehouden zijn.

Het laagste cijfer is 1.07, het hoogste 1.83 ; bij weglaten van de eerste serie echter is het hoogste cijfer slechts 1.52.

Eadie (44) vindt als grenzen onder 157 waarden (bij $\pm$40 konijnen) 0.83 en 1.54, met als gemiddelde 1.16. Hij bepaalde de bloedsuiker volgens de methode van Hartmann en Schaffer.

Scott en Ford (56) geven als gemiddelde van 85 bepalingen bij 27 konijnen : 1.18 °/oo.

De bloedsuikers der contrôle-experimenten (Serie F), die ik op het einde van het onderzoek deed, wil ik liever hier mededeelen om den invloed van andere factoren dan de inspuiting te vermelden.

Deze dieren werden op geheel dezelfde wijze behandeld. Gedurende denzelfden tijd, dat de andere dieren een injectie kregen ('s morgens van 10 tot 12 uur), werden deze konijnen op de caoutchouc tafel gebonden met als bedekking het electrisch verwarmde matje. Bloedsuiker-bepalingen werden op dezelfde uren gedaan, n. l. om 10, 11, 12, 13, 15, 19 uur, middernacht en den volgenden morgen $\pm$10 uur.

Als eerste contrôle-dier werd een gewoon tam konijn(XLIII)genomen, zooals voor bijna alle inspuitingen gebruikt is.

In *tabel III* ziet men, dat de glycaemie op constant niveau blijft. Het dier bleef rustig op het bankje liggen.

Voor de beide andere contrôle-experimenten werden uit de stallen een paar zgn. „ haaskonijnen " uitgezocht(*). Deze dieren, waarvan voor de andere experimenten er slechts enkele gebruikt zijn, zijn onrustig en schrikachtig, ofschoon niet zoo erg als de zgn. „ Russen " (die in het geheel niet gebezigd zijn, zooals reeds vermeld is).

(*) Ook vermeld door Richet (57) bij de opsomming der konijnen-rassen :
" VIII. *Lièvre-lapin*. Certains lapins domestiques ont une coloration rappelant celle du lièvre ; ils tiennent le milieu entre les deux espèces, n'ont pas de caractères nets : les extrémités postérieures sont développées. „

TABEL III

SERIE F.

CONTROLE - EXPERIMENTEN

KONIJNEN VAN 10 U. TOT 12 U. V. M. OP DE CAOUTCHOUC TAFEL GEBONDEN

N°	Gewicht	BLOEDSUIKER OM :							
		10 u.	11 u.	12 u.	13 u.	15 u.	19 u.	24 u.	10 u.
♀ XLIII	1.77	1.19	1.25	1.21	1.21	1.24	1.23	1.28	1.33
♂ XLIV	1.97	1.23	1.49	1.43	1.30	1.08	1.08	1.19	1.19
♀ XLV	2.10	1.28	1.31	1.62	1.59	1.11	1.10	1.26	1.26
Gemiddeld	1.95	1.23	1.35	1.42	1.37	1.08	1.14	1.21	1.26

TABEL IV

HAEMOGLOBINE-BEPALINGEN VOLGENS SAHLI

N°	Gewicht	10 u.	11 u.	12 u.	13 u.	15 u.	19 u.	10 u.
XLII	2.12	72	70	71	70	73	73	68
XLIII	1.77	67	66	63	65	61	61	62
XLIV	1.97	70	71		68	67	67	61
XLV	2.10	69		71	62	63		

Beide dieren waren gedurende de twee uren, die ze op het bankje gebonden waren, zeer onrustig en trachtten zich telkens door wilde bewegingen los te rukken. Het gevolg op de bloedsuiker bleef niet uit : er komt een duidelijke stijging.

N° XLIV stijgt van 1.23 na 1 uur tot 1.49 en is na 2 uur op 1.43 ;

N° XLV van 1.28 op 1.31 na één uur en 1.62 nog een uur later. Dit dier was tijdens het eerste uur vrij rustig.

Bij beide dieren volgt hierop een daling tot even onder den norm, zooals we dat gewoon zijn na een hyperglycaemie. (*)

Zooals men in tabel III ziet, blijven echter alle cijfers binnen normale grenzen. Laat ik hier echter nog aan toevoegen, dat deze twee konijnen de onrustigste waren van alle gebezigde proefdieren. Ook bij andere experimenten kwam het voor, dat het dier zich trachtte te bevrijden, maar dan slechts 2 of 3 maal tijdens de geheele inspuiting.

Bij 4 dieren heb ik haemoglobine-bepalingen gedaan volgens de methode van Sahli (donkere vergelijkingsvloeistof), om na te gaan of het herhaaldelijk afnemen van 1 ccm bloed hierop invloed kon uitoefenen.

Uit *tabel IV* blijkt, dat het gehalte aan bloedkleurstof weinig of niet daalt. Konijn XLIV echter had 's avonds in de respiratiekamer het klemmetje, dat altijd op de oorvene gezet werd ter stelping der bloeding, afgeschud en aldus naar schatting 15 à 20 ccm bloed extra verloren.

Misschien is hieraan de lichte daling van het haemoglobine-cijfer te danken.

(*) Ook bij den mensch ziet men bij de „ belastingsproef ", dwz. na toediening van een groote hoeveelheid glucose per os, dat. na afloop der hyperglycaemie, de bloedsuiker onder de normale waarde daalt (57a).

3° Verloop der glycaemie bij verschillende wijzen van glucose- en insuline toediening.

Serie A. *(zie tabel V.)*

Bij deze groep werd een mengsel van glucose en insuline op de bovenbeschreven wijze intraveneus ingespoten.

4-12-'25. KONIJN I. 8 gram gluc. + 5 eenh. ins. AB[1] p. K° gedurende 2 uur. (*) Sterke stijging der bloedsuiker, 3 uur na het einde der inspuiting weer belangrijk gedaald, 8 uur erna weer aan de normale lijn. Van de 26.8 gram ingespoten glucose verschijnt 5,7 gram in de urine.

7-12-'25. KONIJN II. 8 gram gluc. + 6 eenh. ins. AB[1] p. K° gedurende 2 uur. Bloedsuiker stijgt iets minder.
Van de 18.2 gram ingespoten glucose verschijnt ± 1 gram in de urine.

9-12-'25. KONIJN III. 8 gram gluc. + 8 eenh. ins. AB[1] p. K° gedurende 2 uur. Sterke bloedsuikerstijging, 3 uur na de inspuiting echter onder zijn normale waarde en blijft tot den volgenden dag op dit lage niveau. In de urine 4 gram van de 19.2 gram glucose.

Daar met de in de eerste experimenten gebruikte hoeveelheid glucose intraveneus geen evenwicht te bereiken was, werd het met kleinere doses geprobeerd :

11-12-'25. KONIJN V. 3 gram gluc.+3 eenh. ins AB[2] p. K° gedurende 2 uur. Minder sterke hyperglycaemie, 3 uur later normaal, na 8 uur nog verder gedaald, daarna weer stijging.

In de urine 1.2 gr. van de ingespoten 9.1 gram.

Ter contrôle werd nu een experiment gedaan, waarbij op geheel dezelfde wijze, insuline, opgelost in vloeistof volgens Locke, ingespoten werd :

(*) Omdat er later ook inspuitingen gedaan zijn, die korter dan 2 uur duurden, is glucose en insuline steeds per K° uitgedrukt en niet zooals door Bouckaert-Stricker per K°-uur.

8 gr. gluc. + 5 eenh. ins. p. K° gedurende 2 uur beteekent dus :

4 gr. gluc. + 2½ eenheid p. K° per uur gedurende 2 uur.

Wanneer verder gezegd wordt bloedsuiker na x uur, wil dit zeggen : x uur na het *einde* der inspuiting.

TABEL V

SERIE A

Langzame intraveneuse inspuiting van een mengsel glucose - insuline

N°	Gewicht	VERHOUDING GLUC.-INS.	INSUL.	BLOEDSUIKER								
				Vóór	Tijdens		0 u.	1 u.	3 u.	5 u.	8 u.	24 u.
							na het einde der inspuiting					
♀ I	3.35	$^{8}/_{5}$ - 1.60	AB[1]	1.52	4.18	5.84	5.78		2.15		1.58	1.63
♂ II	2.27[5]	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.15		4.45	3.49			1.59		1.09
♂ III	2.40	$^{8}/_{8}$ - 1.00	„	1.52	5.16	5.49	5.87		1.14		1.26	1.19
♀ V	2.70	$^{3}/_{3}$ - 1.00	AB[2]	1.55	3.33	3.68	4.00		1.85		1.01	1.38
♂ VII	2.35	$^{2}/_{4}$ - 0.50	„	1.83	2.13	2.05	1.87	1.00		1.47	1.23	1.47
♀ VIII	3.00	$^{3}/_{4}$ - 0.75	„	1.58	2.63	2.17	2.04	0.76	0.93	1.42	1.37	1.55
♀ IX	2.15	$^{4}/_{4}$ - 1.00	„	1.65	3.02	3.46	3.45	1.00	1.24			
♂ VI	2.50	$^{0}/_{4}$	„	1.60	1.00	0.95	0.92	0.88	1.17		1.38	1.46

14-12-'25. KONIJN VI. 0 gr. gluc. + 4 eenh. ins. AB^2 p. K° gedurende 2 uur. De glycaemie daalt en is één uur na het einde der inspuiting aan het laagste punt, n. l. ongeveer de helft van de beginwaarde. Daarna weer een langzame stijging, blijft echter na 24 uur nog onder zijn normale cijfer.

De 10 eenheden, die hier langzaam intraveneus ingespoten zijn, waren dus niet in staat de bloedsuiker tot de krampgrens te doen dalen. Ik meende daarom, dat de insuline Allan-Hanbury niet de opgegeven sterkte vertegenwoordigde.

In het volgende experiment werd de verhouding tusschen insuline en glucose verdubbeld:

17-12-'25. KONIJN VII. 2 gr. gluc. + 4 eenh. ins. AB^2 p. K° gedurende 2 uur. Gedurende de inspuiting geringe stijging der bloedsuiker, die $^1/_2$ uur later echter tot ver onder den norm gedaald is, en ook na 24 uur nog niet tot zijn uitgangswaarde is teruggekeerd.

De urine geeft geen reductie van de oplossing van Benedict.

Vermeerdering der hoeveelheid glucose geeft echter weer een versterkte hyperglycaemie, eveneens gevolgd door een scherpe daling:

18-12-'25. KONIJN VIII. 3 gr. gluc.+4 eenh. ins. AB^2 p. K° gedurende 2 uur. Urine bevat geen aantoonbare glucose.

21-12-'25. KONIJN IX. 4 gr. gluc. + 4 eenh. ins. AB^2 p. K° gedurende 2 uur. Hyperglycaemie nog hooger, daling daarna minder.

Als we nu tabel V nog eens bezien, blijkt duidelijk, dat met deze methode de bloedsuiker niet in de buurt van haar uitgangswaarde is te houden.

Dit was eigenlijk wel te verwachten geweest.

Immers een intraveneuse glucose-toediening brengt de bloedsuiker vrijwel onmiddellijk op een zeer hoog niveau, waarop deze gedurende de geheele inspuiting blijft om bijna terstond daarna weer te dalen, zooals blijkt uit het reeds geciteerde werk van Boyd, Hines en Leese.

De insuline echter werkt veel later, temeer daar tot het laatste oogenblik der inspuiting nog steeds insuline het organisme binnengevoerd wordt.

Serie B en C.

Ik was dus verplicht terug te komen op de subcutane inspuitingen, zooals door Bouckaert en Stricker toegepast. Het maximum der werking der insuline ten opzichte van het maximum der glucose-werking werd echter door mij vervroegd. In het ideale geval zouden de bloedsuikerkrommen, die elk dezer stoffen alleen zou geven, elkaars spiegelbeeld moeten zijn.

Op de eerste plaats moest dus de insuline (in plaats van met de glucose gemengd langzaam gedurende 2 uur subcutaan ingespoten te worden) *ineens* onmiddellijk vóór de langzame glucose-injectie gegeven worden.

Op de tweede plaats kon de werking nog meer vervroegd worden door de insuline ineens *intraveneus* te geven, eveneens terstond gevolgd door een langzame onderhuidsche glucose-toediening. Immers vele auteurs hebben aangetoond (litteratuur-opgave bij Laqueur op bl. 152), dat na intraveneuse injectie de bloedsuikerdaling vroeger optreedt en eerder zijn maximum bereikt en aan den anderen kant weer spoediger tot de normale glycaemie stijgt dan na subcutane injectie. Volgens de meesten is de diepte der daling in beide gevallen ongeveer even groot ; volgens Sordelli c. s. (58) sterker na intraveneuse toediening.

En op de derde plaats zou tenslotte de *duur* der onderhuidsche glucose-inspuiting van 2 uur op 3 of meer gebracht kunnen worden. Dit laatste is echter nooit noodzakelijk gebleken, integendeel, na intraveneuse insuline-toediening is de duur der injectie vaak verkort op één of anderhalf uur.

In de *tabellen VI* en *VII* zijn de resultaten gerangschikt volgens deze beide methoden ; met uitzondering van N° X en N° XI is steeds 8 gram glucose per K° gegeven :

Serie B (13 experimenten) : Intraveneuse insuline-injectie, onmiddellijk gevolgd door een subcutane glucose-injectie gedurende 1, 1 $^1/_2$ of 2 uur.

TABEL VI

SERIE B

Intraveneuse insuline-injectie, onmiddellijk gevolgd door een langzame onderhuidsche glucose-toediening

N°	Gewicht	DUUR DER INSPUITING	VERHOUDING GLUC.-INS.	INSUL.	GLYCAEMIE: Vóór	Tijdens	0 u.	1 u.	3 u.	5 u.	7 u.	17 u.	24 u.
							na het einde der inspuiting						
♂ XI	2.10	2 u.	$^{3}/_{2\cdot4}$ - 1,26	AB[3]	1.09	1.78	1.31	1.30	0.99	1.02	1.11		0.87
♀ XIII	2.23	2 u.	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.35	1.43	1.62	1.98	1.71	1.60	1.65		1.44
♂ XVII	1.90	2 u.	$^{8}/_{6}$ - 1.33	AB[4]	1.15	0.82	0.92	1.48	1.26	1.44			1.27
♂ XVIII	2.40	2 u.	$^{8}/_{5}$ - 1.60	IN[1]	1.29	1.52	2.04	2.67	2.41	1.74	1.85		1.24
♂ XIX	2.36	2 u.	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.15	0.94	1.07	1.35	1.31		1.75	2.00	1.58
♂ XX	1.95	1 u. 30	$^{9}/_{6\cdot75}$ - 1.33	„	1.25	1.03	1.12	1.63	1.61	1.75		2.10	1.66
♂ XXI	2.06	1 u.	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.30	1.38	1.39	2.55	1.55	1.53		1.39	1.31
♀ XXII	2.03	1 u.	$^{8}/_{7}$ - 1.14	„	1.32	1.61	1.59	2.37	2.02	1.83	1.75		1.45
♂ XXIII	2.12	1 u.	$^{8}/_{8}$ - 1.00	„	1.32	1.71	1.99	2.26	1.54	1.19	1.35		1.36
♀ XXIV	2.40	1 u. 30	$^{8}/_{8}$ - 1.00	„	1.28	1.43	1.69	2.36	1.73	1.66	1.63		1.76
♀ XXV	1.85	1 u. 30	$^{8}/_{10\cdot5}$ - 0.77	„	1.30	1.33	1.37	1.89	1.53	1.27		1.41	1.46
♂ XXVI	2.35	1 u. 30	$^{8}/_{13\cdot5}$ - 0.59	„	1.36	1.38	1.37	1.73	1.37	1.08	1.02		1.68
♂ XXVII	2.20	2 u.	$^{8}/_{12}$ - 0.67	„	1.24	1.15	1.30	1.37	1.24	1.23	1.48		1.62

TABEL VII

SERIE C

Subcutane insuline-injectie, onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche glucose-toediening gedurende 2 uren

	N°	Gewicht	VERHOUDING GLUC.-INS.	INSUL.	GLYCAEMIE: Vóór	Tijdens	0 u.	1 u.	3 u.	7 u.	12 u.	19 u.	24 u.
							na het einde der injectie						
♂	X	2.10	$^{3}/_{4}$ - 0.75	AB[3]	1.49	2.06	1.65	0.71	0.40	cr.	†		
♂♀	XII	2.33	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.24	1.04	1.08	1.33	1.05	0.94	0.92		1.52
♀	XV	2.25	$^{8}/_{6}$ - 1.33	„	1.26	1.08	1.06	1.37	1.17	0.74	0.77		1.27
♂♀	XVI	2.25	$^{8}/_{5\cdot5}$ - 1.45	„	1.35	1.36	1.51	1.69	1.53	1.16	0.84		1.59
♀	XXVIII	1.82[5]	$^{8}/_{12}$ - 0.67	IN[1]	1.24	0.93	1.05	1.01	0.73	0.64		0.35	(1.90)
♀	XXIX	1.95	$^{8}/_{8}$ - 1.00	„	1.36	1.65	1.81	1.71	1.30	0.99	0.94	(cr)	1.27
♀	XXX	1.80	$^{8}/_{7}$ - 1.14	„	1.10	1.34	1.60	2.45	1.69	0.95	†		
♀	XXXI	1.87	$^{8}/_{6\cdot95}$ - 1.15	IN[2]	1.07	1.44	1.54	1.80	0.98	0.76	0.71		1.63
♂	XXXII	1.77	$^{8}/_{6\cdot95}$ - 1.15	„	1.39	1.29	1.21	1.21	0.95	0.69	0.63	cr. †	
♀	XL	1.68	$^{8}/_{6\cdot15}$ - 1.30	„	1.20	1.30	1.23	1.19	0.96	0.79	0.51	cr.	(1.29)
♀	XLI	1.93	$^{8}/_{5\cdot52}$ - 1.45	„	1.26	1.17	1.18	1.56	1.11	1.07	1.27		1.33
♀	XLII	2.12	$^{8}/_{5\cdot52}$ - 1.45	„	1.40	1.46	1.38	2.11	1.55	1.18	1.26		1.42
	C[1]. Subcutane injectie van mengsel glucose-insuline gedurende 2 uren												
♂	XIV	2.20	$^{8}/_{6}$ - 1.33	AB[3]	1.46	2.02	2.24	2.40	1.85	1.22		cr.	†

Serie C (12 experimenten) : Subcutane insuline injectie, onmiddellijk gevolgd door een subcutane glucose-injectie gedurende 2 uur.

Hier echter zal ik de experimenten in volgorde bespreken, daar bij het zoeken naar het evenwicht, dus in het ideale geval de rechte lijn der bloedsuiker-curve gedurende 24 uur, beide methoden herhaaldelijk afgewisseld werden.

Daar bij deze methoden van inspuiten nooit meer quantitatief te bepalen hoeveelheden glucose in de urine verschenen, niettegenstaande de bloedsuiker herhaaldelijk boven de 2 °/₀₀ komt en slechts enkele malen de urine een weinig reduceerde, is verder hiervan geen melding gemaakt. Steeds echter werd de urine vóór de inspuiting en de beide daarop volgende dagen volgens Benedict op reductie onderzocht.

De verhouding tusschen glucose en insuline wordt weer aangegeven in grammen glucose per K°, gedeeld door eenheden insuline eveneens per K°, b. v. G/I = $^3/_4$ = 0.75.

Nog steeds in de meening verkeerend een zwak insuline-preparaat te gebruiken, heb ik het eerste konijn van deze serie te veel insuline toegediend.

22-12-'25. KONIJN X. Ins. AB³ subcut. G/I = $^3/_4$ = 0.75.

Bloedsuiker 3 uur na het einde der inspuiting onder de krampgrens (0.40), gevolgd door crisis en dood onder heftige krampen.

Wegens te lang wachten was het dier niet meer te redden door intraveneuse glucose- en intracardiale adrenaline-injectie.

19-1-'26. KONIJN XI. Ins. AB³ intraven. G/I = $^3/_{2{\cdot}4}$ = 1.26.

Na een stijging tijdens de inspuiting blijft de bloedsuiker verder binnen normale grenzen.

Om nu de cijfers beter vergelijkbaar te maken met die van Bouckaert en Stricker is verder steeds eveneens 8 gram glucose per K° lichaamsgewicht ingespoten.

22-1-'26. KONIJN XII. Ins. AB³ subcut. G/I = $^8/_6$ = 1.33.

Geringe daling, blijft gemiddeld onder het punt van uitgang ; na 24 uur echter lichte stijging er boven. Dus iets te veel insuline.

25-1-'26. KONIJN XIII. Ins. AB^3 intraven. G/I = $^8/_6$ = 1.33.

Dezelfde verhouding dus als de vorige, maar nu de insuline intraveneus in plaats van subcutaan. De bloedsuiker blijft gedurende 24 uur steeds boven den norm : te weinig insuline dus.

27-1-'26. KONIJN XIV is nu ter contrôle met dezelfde verhouding, maar gemengd, subcutaan gedurende 2 uur ingespoten, dus de techniek van Bouckaert en Stricker nauwkeurig herhaald.

Resultaat hetzelfde als zij vinden : na een aanvankelijke stijging daalt de bloedsuiker na ± 7 uur tot den norm en sterft het dier na ± 24 uur in typische hypoglycaemische crisis.

Herhaling der inspuiting, zooals op konijn XII toegepast, geeft bij het volgende konijn weer dezelfde bloedsuiker-kromme.

29-1-'26. KONIJN XV. Ins. AB^3 subcut. G/I = $^8/_6$ = 1.33.

Weer iets te veel insuline dus.

Vermindering der insuline-dosis met 0,5 eenheid per K° (slechts ruim 8°/₀ verschil) geeft een duidelijk hoogere bloedsuiker-curve :

1-2-'26. KONIJN XVI. Ins. AB^3 subcut. G/I = $^8/_{5,5}$ = 1.45.

In dit geval mag men dus zeggen, dat het evenwicht ongeveer bereikt is.

Tot zoover klopt dus alles, met uitzondering van Konijn XIII, dat intraveneus ingespoten een hoogere bloedsuiker houdt dan de dieren, die subcutaan zelfs met een kleinere dosis insuline geinjecteerd zijn.

De vraag was dus of werkelijk intraveneus een grootere dosis insuline gegeven moest worden dan subcutaan om hetzelfde effect te bereiken.

De volgende experimenten geven hierop een volkomen bevestigend antwoord.

3-2-'26. Konijn XVII. Ins. AB^4 intraven. G/I = $^8/_6$ = 1.33,

Ook hier ongeveer een evenwicht met een hoeveelheid insuline, grooter dan in exp. XVI en waarschijnlijk zelfs iets sterker insuline, daar het een nieuw fleschje was, direct van de fabriek gekregen op ons verzoek een groote hoeveelheid insuline (1000 eenh.) van nauwkeurig dezelfde sterkte te sturen.

Op hetzelfde tijdstip kregen we echter de beschikking over het Nederlandsche gedroogde standaard-preparaat, waaraan we de voorkeur gaven o.a. omdat hiervan een groote hoeveelheid tegelijk kon worden opgelost, reden waarom in de volgende experimenten hiervan uitsluitend gebruik gemaakt is.

4-2-'26. KONIJN XVIII. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{5}$ = 1.60.

Veel te weinig insuline : stijging tot 2.67 °/oo.

9-2-'26. KONIJN XIX. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{6}$ = 1.33.

Tijdens de inspuiting aanduiding van een daling der bloedsuiker, daarna verhooging tot 2 °/oo na 7 uur.

We krijgen daarom den indruk, dat de werking der insuline te vroeg komt ten opzichte van het maximum-effect der glucose, het tegenovergestelde dus als in de proefnemingen van Bouckaert en Stricker.

De duur der glucose-inspuiting wordt daarom verkort tot $1^{1}/_{2}$ uur.

11-2-'26. KONIJN XX. Ins IN[1] intraven. G/I = $^{9}/_{6,75}$ = 1,33.

Ook hier nog een lichte daling tijdens de inspuiting, die bij verkorting tot één uur verdwijnt :

16-2-'26. KONIJN XXI. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{6}$ = 1.33.
Duur 1 uur.

18-2-'26. KONIJN XXII. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{7}$ = 1.14.
Duur 1 uur.

22-2-'26. KONIJN XXIII. Ins IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{8}$ = 1.00.
Duur 1 uur.

In deze drie experimenten is de hoeveelheid insuline telkens vermeerderd. De hyperglycaemische top, één uur na het einde der inspuiting, wordt er wel lager door (resp. 2.55, 2.37 en 2.26) maar een evenwicht is nog niet bereikt.

In de volgende 3 experimenten is de duur der glucose-inspuiting weer op anderhalf uur gebracht en de insuline-dosis nog geleidelijk vermeerderd.

24-2-'26. KONIJN XXIV. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{8}$ = 1.00.
Duur 1 $^{1}/_{2}$ uur.

1-3-'26. KONIJN XXV. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{10,5}$ = 0.77.
Duur 1 $^{1}/_{2}$ uur.

3-3-'26. KONIJN XXVI. Ins IN[1] intraven G/I = $^{8}/_{13,5}$ = 0.59.

Duur 1 $^{1}/_{2}$ uur.

De curve der glycaemie komt steeds dichter bij de rechte lijn.

N° XXVI heeft al iets te veel insuline gehad.

Het volgende konijn krijgt nu iets minder :

5-3-'26. KONIJN XXVII. Ins. IN[1] intraven. G/I = $^{8}/_{12}$ = 0.67.

Duur 2 uur.

De bloedsuiker blijft nu vrijwel op een rechte lijn. De kleine top 1 uur na het einde der inspuiting is weg, maar aan den anderen kant is er een lichte verhooging na 24 uur.

In de beide laatste experimenten echter blijven alle bloedsuikerwaarden binnen de normale variaties (zie contrôle-experimenten).

Het evenwicht ligt hier dus tusschen 0.59 en 0.67 en zou ik willen schatten op 0.65.

Ik heb natuurlijk, na in deze serie de insuline steeds te hebben moeten vermeerderen en tenslotte een zoo laag cijfer als aequivalent te hebben bereikt, gemeend, dat de insuline sterk in werkzaamheid was afgenomen.

De bloedsuiker daalde echter terstond, toen ik dezelfde verhouding als bij het laatste experiment, maar nu subcutaan, inspoot :

8-3-'26. KONIJN XXVIII. Ins. IN[1] subcut. G/I = $^{8}/_{12}$ = 0.67.

Duur 2 uur.

7 uur na de injectie is er een hypoglycaemie van 0.64, terwijl het dier ongeveer 19 uur na het einde der injectie in crisis gevonden wordt. Het is volkomen atonisch ; rectaaltemp. 27,5°C, bloedsuiker 0.35. Ofschoon het bijna dood is, wordt nog 20 ccm 20°/₀ glucose intraveneus en dezelfde hoeveelheid subcutaan gegeven, benevens 0.25 ccm adrenaline $^{1}/_{1000}$ intracardiaal, daar het hart nog slechts zeer onregelmatig en flauw klopt. Verder wordt het konijn in een electrisch verwarmd matje gerold. De temp. stijgt na 30 min. tot 29.3 ; na 45 min. tot 30.1 ; na 1 uur : 31.4 ; na 2 uur : 33.8 en is na 5 uur weer aan 37.5. De verwarming wordt dan opgeheven ; de bloedsuiker is aan 1.90 en het dier lijkt weer geheel normaal.

Bij de beide volgende experimenten wordt de dosis insuline daarom verminderd :

10-3-'26. KONIJN XXIX. Ins. IN^1 subcut. G/I = $^8/_8$ = 1.00,
Duur 2 uur.

12-3-'26. KONIJN XXX. Ins. IN^1 subcut. G/I = $^8/_7$ = 1.14.
Duur 2 uur.

Uit de laatste drie experimenten blijkt wel heel duidelijk het verschil tusschen intraveneuse en subcutane inspuiting :

We komen nu met dezelfde insuline en later gebruikt (dus eerder in werking afgenomen dan versterkt) tot een glucose-insuline evenwicht van ± 1.15 bij subcutane toediening der insuline.

We zullen hierop nog uitvoeriger terugkomen, wanneer we meer cijfers met elkaar zullen kunnen vergelijken.

Daar het eerste fleschje Insul. Neerl. nu opgebruikt was, moest er een nieuwe oplossing gemaakt worden, die voor alle verdere proeven gebruikt is (IN^2).

30-4-'26. KONIJN XXXI. Ins. IN^2 subcut. G/I = $^8/_{6,95}$ = 1.15.
Duur 2 uur.

De bloedsuiker-kromme geeft aan, dat er ongeveer een evenwicht is.

Even na de inspuiting kwam ik echter tot de onaangename ontdekking, dat er een gedeelte der insuline niet opgelost was, maar onder tegen den hals van het fleschje kleefde(*). Het effect van deze hoeveelheid bleek duidelijk bij de volgende inspuiting (het fleschje was nu nauwkeurig met een loupe bekeken en er was nergens meer een spoor vaste stof zichtbaar), waarbij dezelfde verhouding gegeven werd :

3-5-'26. KONIJN XXXII. Ins. IN^2 subcut. G/I = $^8/_{6,95}$ = 1.15.
Duur 2 uur.

Dadelijk inzettende bloedsuiker-daling met dood in crisis ± 19 uur na het einde der inspuiting.

(*) Deze vergissing kan geen waarneembaren invloed op de volgende experimenten hebben. Het aequivalent immers nemende op 1.40 is aan konijn XXXI ingespoten : 1.15 / 1.40 = 10.7 eenheden in plaats van 13.

In de overblijvende vloeistof in het fleschje is dus 13 − 10,7 = 2.3 eenh. te veel. Dit maakt op de daarin aanwezige 260 eenheden een fout van minder dan 1 o/o, welke fout, als zijnde onaantoonbaar, verder verwaarloosd is.

Zelfs door de verhouding op 1.30 te brengen, kwam het volgende konijn in crisis :

26-5-'26. KONIJN XL. Ins. IN² subcut. G/I = $^{8}/_{6,15}$ = 1.30.

Duur 2 uur.

Eerst door nog verdere vermindering der insuline-dosis was een goed evenwicht te bereiken :

28-5-'26. KONIJN XLI. Ins. IN² subcut. G/I = $^{8}/_{5,52}$ = 1.45.

Duur 2 uur, en

31-5-'26. KONIJN XLII. Ins. IN² subcut. G/I = $^{8}/_{5,52}$ = 1.45.

Duur 2 uur.

In beide gevallen is ongeveer een evenwicht bereikt, misschien is hier de ingespoten hoeveelheid insuline reeds iets te klein.

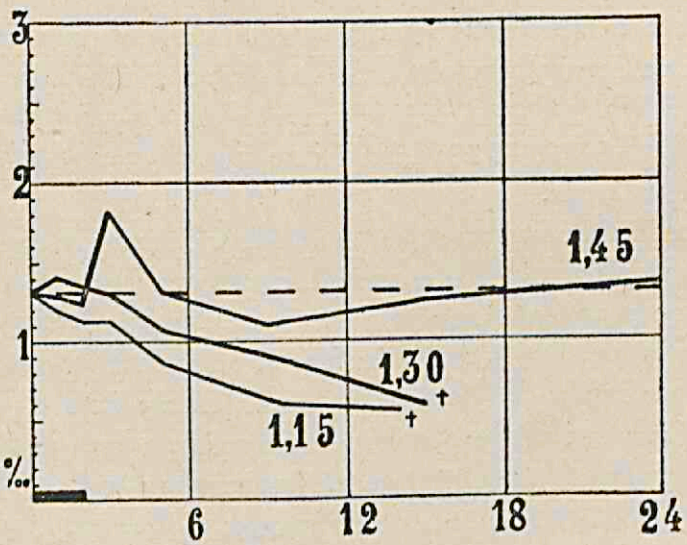


FIG. 7

Bloedsuiker-krommen na inspuiting van verschillende hoeveelheden insuline subcutaan, gevolgd door een onderhuidsche glucose-injectie van 8 gram per K° gedurende 2 uur.
De getallen geven de verhouding glucose-insuline.
Abscis : tijd in uren.
Ordinaat : bloedsuiker in °/oo.
Het zwarte blokje links onder geeft den duur der inspuiting aan.

Ook hier zien we weer de gevoeligheid der methode, vooral, wanneer we de cijfers in kromme zetten.

In alle gevallen hebben we steeds gezien, dat een verandering van ± 10 % in de insuline-dosis een duidelijken invloed op de bloedsuiker-kromme heeft. Het schijnt alsof individueele factoren vrijwel geheel wegvallen, waardoor dus de methode misschien bruikbaar zou zijn voor standaardisatie.

In *fig. 7* ziet men de bloedsuiker-krommen der 4 laatst genoemde experimenten. De cijfers geven op de gewone wijze de verhouding glucose-insuline aan. De curve, aangeduid met 1.45, is de gemiddelde bloedsuiker-kromme van exp. XLI en XLII.

(Als uitgangspunt is de gemiddelde bloedsuiker van deze 4 experimenten genomen, de overige punten der kromme zijn vervolgens evenveel omhoog of omlaag geschoven als hun beginpunt).

Een *overzicht* van de met de verschillende toegepaste methoden verkregen resultaten meen ik het best te kunnen geven aan de hand van een in *fig. 8* weergegeven schema (59).

In I is een voorstelling gegeven van het verloop der glycaemie tijdens en na inspuiting van een mengsel glucose-insuline onder de huid volgens de methode Bouckaert-Stricker. De stippellijn geeft (ook in de andere 3 schema's) het effect van een grootere hoeveelheid insuline aan dan de getrokken lijn. In beide gevallen komt het dus tot hypoglycaemie en wel eerder, naarmate er meer insuline gegeven wordt.

In II ziet men het effect van een dergelijk mengsel bij intraveneuse inspuiting op de bloedsuiker. Steeds, ook bij groote hoeveelheden insuline is er een zeer sterke stijging der bloedsuiker tijdens de inspuiting, gevolgd door een steilen val, dieper naarmate er meer insuline aan de vloeistof was toegevoegd. Volgens deze methode kan men zich dus nog minder een oordeel vormen over het aequivalent.

In het met IV aangeduide schema zien we de resultaten in Serie C bereikt: subcutane injectie dus van de geheele hoeveelheid insuline ineens, gevolgd door een onderhuidsche inspuiting van 8 gram glucose per K° gedurende 2 uur, namelijk een geringe stijging aan het einde der

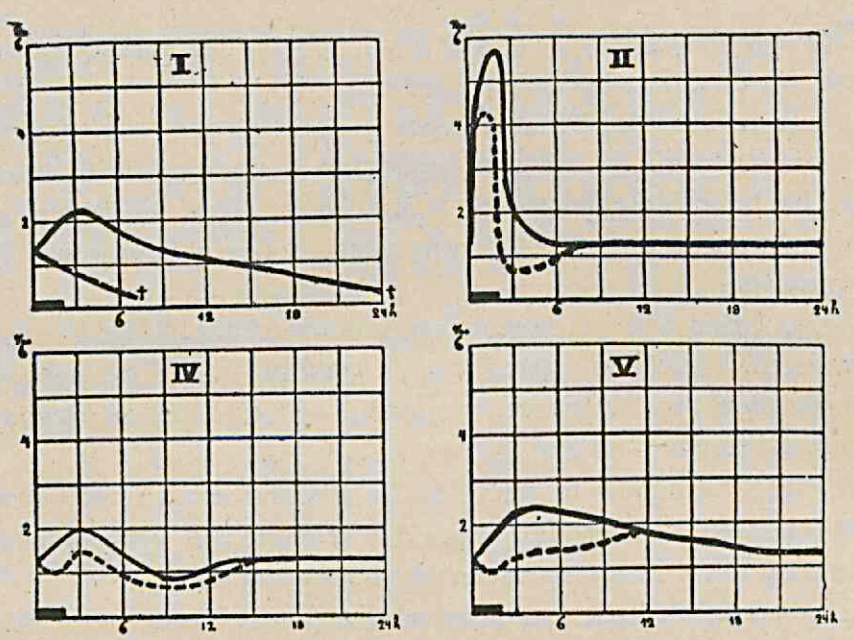


FIG. 8

Schematische voorstelling van het verloop der glycaemie bij verschillende methoden van glucose-insuline toediening.

I. Mengsel gluc.-ins. subcut. gedurende 2 uur.
II. „ „ intraven. „
IV. Ins. subcut., gluc. subcut. „
V. Ins. intraven., gluc. subcut „

De gestippelde lijn geeft de werking aan van een grootere hoeveelheid insuline dan de volle lijn. Cijfers als in fig. 7.

inspuiting gevolgd door een lichte daling der bloedsuiker, die 9 à 10 uur later maximaal is. Met deze methode is het echter mogelijk deze schommelingen binnen normale waarden te houden.

Nog dichter bij de ideale lijn kwamen we in Serie B, voorgesteld door schema n° V. We zien hier dus het effect der toediening der geheele dosis insuline ineens intraveneus, onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche glucose-inspuiting van 8 gram per K° gedurende 2 uur. De gestippelde lijn, dus de grootere hoeveelheid insuline, is hier het dichtst bij het evenwicht. De stijging, die we in de vorige curve aan het einde der inspuiting zagen, komt nu later, b. v. na 10 uur, omdat het

maximum der insuline-werking hierbij vervroegd is. We hebben gezien, dat we dezen top nog kunnen wegkrijgen door den duur der inspuiting te verkorten tot anderhalf uur.

De beste methode om glucose en insuline ten opzichte van elkaar te compenseeren is dus : intraveneuse inspuiting van de totale dosis insuline, onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche toediening van een glucose-oplossing met constant debiet gedurende $1^1/_2$ uur.

Natuurlijk is een absoluut gelijk blijven der bloedsuiker niet te bereiken ; ook bij de niet ingespoten contrôle-dieren vinden we niet onbelangrijke schommelingen.

Om de proeven onderling vergelijkbaar te maken, heb ik de volgende werkwijze toegepast (60) :

De gevonden bloedsuiker-waarden worden nauwkeurig op millimeter-papier uitgezet en wel op de ordinaat is 5 cM een bloedsuikerverschil van 1 °/₀₀, op de abscis is één cM één uur. De punten worden door rechte lijnen verbonden en vanuit de beginwaarde, dus de voor dat bepaalde dier normale bloedsuiker, wordt een horizontale lijn getrokken. Een hyperglycaemie van 1 °/₀₀ boven den norm gedurende 5 uur geeft dus een oppervlak van $5 \times 5 = 25$ cM² ; 1 cM² komt dus overeen met een verhooging of verlaging der bloedsuiker van 0.2 °/₀₀ gedurende 1 uur.

Van de veronderstelling uitgaande, dat men bij niet te groote schommelingen mag spreken van een evenwicht als het totale oppervlak boven de normale lijn gelijk is aan het totale oppervlak daaronder gedurende 24 uur. heb ik met een planimeter deze oppervlakken berekend.

Ik kwam aldus het gemiddelde nemend van de in Serie B en C gerangschikte experimenten tot de volgende cijfers voor het glucose-insuline evenwicht :

AB	intraveneus :	1.10 gram
	subcutaan :	1.50 gram
IN^1	intraveneus :	0.65 gram
	subcutaan :	1.15 gram
IN^2	subcutaan :	1.40 gram

Als we het tweede cijfer voor het Nederlandsche preparaat als juist aannemen, (*) zien we dat dit bij subcutane inspuiting ± 1,4 gram glucose in het lichaam kan doen verdwijnen ; de insuline van Allan en Hanbury ± 1,5 gram.

Verschil in effect tusschen intraveneuse en subcutane insuline-injecties.

Wat het meest in het oog springt is het groote verschil in effect naarmate de insuline onder de huid of direct in de bloedbaan gebracht wordt, hetgeen we bij beide preparaten opmerken.

In *fig 9.* ziet men b. v. het verloop der glycaemie van de konijnen n° XXVII en XXVIII. Beide kregen dezelfde hoeveelheid glucose op dezelfde wijze toegediend, n. l. subcutaan 8 gram per K° gedurende 2 uur.

De hoeveelheid insuline was eveneens voor beide gelijk, n. l. 5 eenheden per K°, echter n° XXVII kreeg het intraveneus, terwijl n° XXVIII het subcutaan kreeg, in de curve aangeduid als „ i " en „ s ".

Beide konijnen begonnen toevallig met dezelfde bloedsuiker, n. l. 1.24 °/₀₀. Uit de kromme ziet men duidelijk het verschil in werking.

Hoe dit te verklaren ?

Misschien geven de experimenten in 1924 door Fisher en Noble (61) gepubliceerd hiervoor wel de oplossing. Bij bepaling der met de urine uitgescheiden hoeveelheid insuline vonden zij :

(*) Waarom ik voor het eerste fleschje Nederlandsche insuline een kleiner getal vind, is mij niet duidelijk. Daar er echter nergens experimenten elkaar tegenspreken, moet ik wel aannemen, dat de tweede oplossing sterker werkte dan de eerste.

Misschien is de volgende verklaring niet onmogelijk : De eerste maal werd in den rand van het fleschje wat kwik gegoten i. p. v. tricresol-opl. om het verdampen der insuline-opl. te beletten (zie fig. 3). Er is toen een druppeltje kwik in de insuline-opl. gevallen. Deze heb ik toen echter direct aseptisch overgepipetteerd in een steriel bakje en na schoonmaken en droog steriliseeren van het insuline-fleschje daar weer in teruggebracht. Waarschijnlijk hebben er zich toch sporen $HgCl_2$ gevormd, omdat de insuline in 0.01 N. HCl opgelost was. Of dit zout een afbrekende werking op insuline heeft, heb ik echter in de litteratuur niet kunnen vinden.

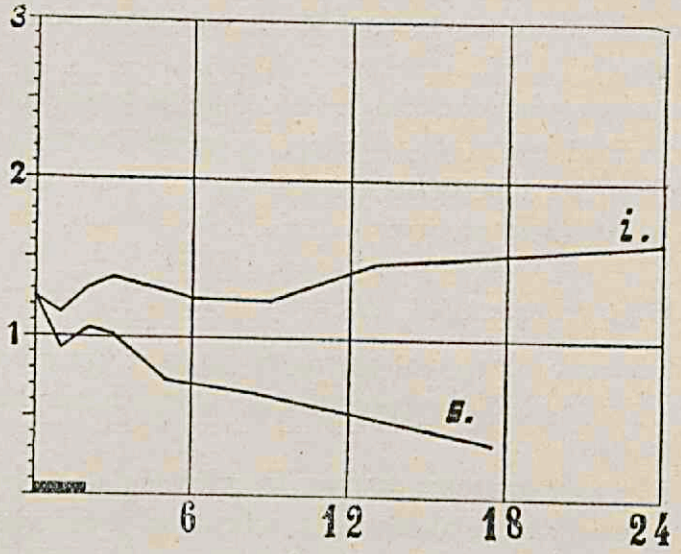


FIG. 9

Verschillende invloed op de bloedsuiker van gelijke doses insuline (5 eenh. per Ko) intraveneus en subcutaan toegediend, gevolgd door een glucose-injectie onder de huid van 8 gram per Ko gedurende 2 uur.

„ i " = intraveneus. „ s " = subcutaan.

Cijfers als in fig. 7.

1° bij 2 honden, die 40 eenheden intraveneus gekregen hadden, ongeveer 35 eenheden in de urine terug ;

2° bij 2 honden aan welke de insuline onder de huid gespoten was, konden ze slechts ongeveer $^1/_6$ van deze hoeveelheid in de urine aantoonen, terwijl ook

3° een diabetes-patient, die 38 eenheden subcutaan had gehad, er slechts $\pm$ 6 langs de nieren had uitgescheiden.

Ik acht het daarom niet onmogelijk, dat bij de konijnen hetzelfde gebeurd is, n.l. dat, bij inspuiting althans van groote hoeveelheden insuline, een belangrijk gedeelte hiervan met de urine verdwijnt.

Misschien is hierdoor ook de mindere gevoeligheid der intraveneuse methode te verklaren. Men ziet n. l., dat een verschil, van 10°/o

bijvoorbeeld, in de toegediende quantiteit insuline een veel duidelijker effect heeft op de bloedsuiker-kromme na subcutane, dan na intraveneuse toediening.

Ik heb daarom, ofschoon met de laatste methode een meer constante glycaemie te verkrijgen is, de voorkeur gegeven aan de subcutane ter bestudeering van het glucose-insuline aequivalent bij vergrooting der toegediende hoeveelheid glucose.

Series D en E. *(zie tabel VIII.)*

Het leek mij n.l. interessant om na te gaan of het glucose-insuline evenwicht zich wijzigde bij vergrooting der toegediende hoeveelheden glucose en insuline.

Ik heb daarvoor gebruikt de tweede oplossing der Nederlandsche insuline (IN^2), waarvan, wanneer het, subcutaan ingespoten, gevolgd werd door een onderhuidsche glucose-injectie van 8 gram per K° gedurende 2 uur, het glucose-aequivalent 1.40 gevonden was.

De concentratie der glucose-oplossing is dezelfde gehouden als bij de voorafgaande proefnemingen n. l. 20 °/₀ ; het toegediende volume is verdubbeld in Serie D, verdriedubbeld in Serie E.

In *Serie D* is aan twee groepen van 3 konijnen gedurende 2 uur subcutaan 16 gram glucose per K° lichaamsgewicht toegediend, voorafgegaan door een onderhuidsche injectie bij de eerste groep van 13.9 eenheden insuline per K° (verhouding G/I dus $^{16}/_{13{\cdot}9} = 1.15$) ; bij de tweede groep door 12.3 eenheden per K° (G/I = $^{16}/_{12{\cdot}3} = 1.30$) :

5-5-'26.	KONIJN	XXXIII.	Ins. IN^2 subcut.	G/I = $^{16}/_{13{\cdot}9} = 1.15$.
6-5-'26.	„	XXXIV.	„	G/I = $^{16}/_{13{\cdot}9} = 1.15$.
10-5-'26.	„	XXXV.	„	G/I = $^{16}/_{13{\cdot}9} = 1.15$.
12-5-'26.	„	XXXVI.	„	G/I = $^{16}/_{12{\cdot}3} = 1.30$.
17-5-'26.	„	XXXVIII.	„	G/I = $^{16}/_{12{\cdot}3} = 1.30$.
19-5-'26.	„	XXXIX.	„	G/I = $^{16}/_{12{\cdot}3} = 1.30$.

Duur 2 uur.

De compensatie is minder mooi dan bij de vorige experimenten, maar toch worden er geen erg hooge bloedsuikers bereikt.

TABEL VIII

SERIE D.

Subcutane insuline-injectie,
onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche glucose-toediening van 16 gr. p. K°, gedurende 2 uren

N°	Gewicht	VERHOUDING GLUC.-INS.	INSUL.	GLYCAEMIE: Vóór	Tijdens	0 u.	1 u.	3 u.	7 u.	12 u.	20 u.	24 u.
						na het einde der inspuiting						
♀ XXXIII	2.22	$^{16}/_{13\cdot9}$ - 1.15	IN²	1.52	1.39	1.72	2.14	1.74	1.17	0.80		1.27
♀ XXXIV	2.15	$^{16}/_{13\cdot9}$ - 1.15	„	1.23	1.53	1.80	2.11	1.95	1.46	1.44		1.61
♀ XXXV	2.03	$^{16}/_{13\cdot9}$ - 1.15	„	1.26	1.19	1.56	1.54	1.50	1.22		0.87	0.69†
♀ XXXVI	2.08	$^{16}/_{12\cdot3}$ - 1.30	„	1.30	1.37	1.78	2.02	1.71	1.53	1.28		1.37†
♀ XXXVIII	2.07	$^{16}/_{12\cdot3}$ - 1.30	„	1.38	1.65	1.48	1.55	1.51	1.35			†
♂ XXXIX	1.97	$^{16}/_{12\cdot3}$ - 1.30	„	1.29	1 88	2.00	2.51	2.41	2.17	2.12		†

SERIE E.

Subcutane insuline-injectie,
onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche glucose-toediening van 24 gr. p. K°, gedurende 2 uren.

♂ XXXVII	1.77	$^{24}/_{18\cdot5}$ - 1.30	„	1.23	1.73	2.50	3.57	3.09	2.58			4.23

Als we van beide groepen de gemiddelde bloedsuikers op millimeterpapier uitzetten *(fig 10)*, zien we, dat bij de verhouding 1.30 te weinig insuline is toegediend, maar dat bij een verhouding van 16 gram glucose en 13.9 eenheden insuline per K°, dus 1.15, de glycaemie niet ver van de normale lijn blijft.

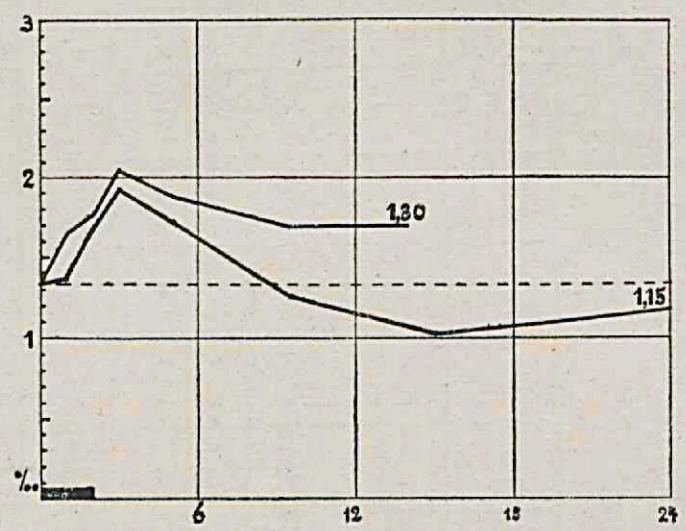


FIG. 10

Gemiddelde bloedsuiker-krommen, elk van 3 dieren, na verschillende hoeveelheden insuline subcutaan, gevolgd door een subcutane glucose-injectie van 16 gram per K° gedurende 2 uur. Cijfers als in fig. 7.

Ik moet echter hier wel aan toevoegen, dat dergelijke hoeveelheden glucose in 20 °/₀-oplossing wat al te veel van het dier vergden. Als het dier na de inspuiting in zijn kooi gezet werd begon het onmiddellijk te drinken; de anurie gedurende meer dan 24 uur en ook de moeilijkheid om 's avonds bloed af te nemen, waardoor vaak hartpunctie noodig was, wijzen er naar mijn meening op, dat de aanwezigheid dezer groote hoeveelheid hypertonische glucose-oplossing onder de huid de waterbalans geheel uit haar evenwicht bracht: 4 van de 6 dieren zijn dan ook na ruim 24 uur gestorven, onder welke 4, misschien niet toevallig, de 3 waren, die de kleinste insuline-dosis gehad hadden.

In ieder geval mag men echter uit deze serie wel besluiten, dat naarmate men meer glucose geeft het aequivalent daalt, men dus in evenredigheid meer insuline moet geven. Dit is in overeenstemming met de besproken resultaten van Allan bij gedepancreatiseerde honden.

Waarschijnlijk is dit nog in sterker mate het geval, dan onze cijfers (een aequivalent van 1.40 bij 8 gr. gluc. en van 1.15 bij 16 gr. gluc. per K°) aangeven. Immers de insuline (die steeds op een andere plaats onder de huid gespoten werd dan de glucose) mag men gerust veronderstellen na 24 uur reeds lang geabsorbeerd te zijn. Met de glucose is dit echter niet het geval. Na 24 uur is er op de plaats, waar de glucose geinjecteerd was, steeds nog een gering oedeem aanwezig, waaruit bij punctie gewoonlijk zonder moeite $^1/_2$ ccm vloeistof te verkrijgen was, die in Serie B en C meestal, in Serie D steeds een positieve reactie van Benedict gaf.

Bovendien was in de laatste serie het oedeem steeds veel sterker, dus een grootere hoeveelheid glucose niet geabsorbeerd, waaruit volgt, dat het glucose-insuline evenwicht bij grootere doses nog iets lager moet liggen dan het gevonden getal van 1.15.

Tenslotte *(Serie E)* is gepoogd een evenwicht te bereiken bij inspuiting op overigens gelijke wijze van de geweldige quantiteit van 24 gram glucose per K°.

Hiervoor geldt bovenstaand betoog natuurlijk a fortiori.

14-5-'26. KONIJN XXXVII. Ins. IN[2] subcut. G/I = $^{24}/_{18{\cdot}5}$ = 1.30.
Duur 2 uur.

De hoeveelheid insuline was veel te klein. De bloedsuiker stijgt tot 3.57 °/₀₀, één uur na het einde der inspuiting.

's Avonds om half acht ($7^1/_2$ uur na het einde der insp.) : 2.58 °/₀₀.

's Nachts om half drie is het onmogelijk bloed af te nemen ; ook bij hartpunctie zijn door de groote viscositeit van het bloed slechts enkele druppels bloed in de spuit te krijgen.

Den volgenden morgen is de bloedsuiker weer gestegen tot 4.23°/₀₀.

's Middags om 4 uur sterft het dier in sterke dyspnoe, nadat de rectaaltemperatuur reeds uren 32 à 33° geweest is.

Deze groote hoeveelheid glucose is dus practisch onbruikbaar om het evenwicht te bepalen. Zonder twijfel is echter de hoeveelheid insuline veel te klein geweest.

Ook in isotonische concentratie toedienen der glucose leek mij onbruikbaar wegens de groote hoeveelheid vloeistof, die men daarvoor zou moeten inspuiten.

Deze serie experimenten is daarom niet verder voortgezet.

C. Conclusies.

1. Intraveneuse glucose-toediening is practisch niet bruikbaar ter bepaling van het glucose-insuline aequivalent.

2. Het beste evenwicht verkrijgt men bij het konijn door intraveneuse injectie der insuline, onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche inspuiting van een glucose-oplossing en wel 8 gram per K° lichaamsgewicht gedurende ongeveer $1^1/_2$ uur met constant debiet.

3. Subcutane injectie der insuline, eveneens onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche glucose-injectie van 8 gram per K° in 20%-oplossing, geeft hoogere cijfers voor het glucose-insuline evenwicht, waarschijnlijk omdat een belangrijk deel der intraveneus toegediende insuline met de urine verdwijnt.

De resultaten der subcutane methode hebben daarom meer waarde.

Het aequivalent aldus gevonden is ongeveer 1.40 gram.

4. Bij het gebruiken dezer methoden blijkt, dat betrekkelijk kleine verschillen in de toegediende hoeveelheid insuline zijn aan te toonen en dat individueele factoren weinig invloed hebben, waardoor ze misschien voor standaardisatie bruikbaar zouden zijn.

De subcutane methode bleek het gevoeligst te zijn.

5. Bepalingen van het glucose-insuline evenwicht met glucosedoses belangrijk kleiner dan 8 gram per K° hebben geen of weinig waarde. Bij vergrooting der dosis daalt het glucose-aequivalent.

6. Bij inspuiting van groote hoeveelheden hypertonische glucoseoplossing sterft het dier o. a. door indikken van het bloed.

HOOFDSTUK II

HET METABOLISME

NA TOEDIENING VAN

GLUCOSE EN INSULINE

Bij 32 van de 45 gebruikte proefdieren zijn bepalingen gedaan van de gas- en energie-wisselingen vóór en na de inspuiting en 24 uur later, terwijl bij het grootste deel hiervan dit ook in het tijdsverloop daartusschen één of meerdere malen gedaan is.

De eerste bepaling, in de tabellen aangeduid met „ a ", geschiedde zoo kort mogelijk vóór het begin der inspuiting. Het konijn had dan, zooals reeds vermeld, gedurende 18 à 20 uur gevast.

De tweede bepaling „ b " gebeurde ongeveer $^1/_2$ uur na het einde der inspuiting (in Serie A echter ongeveer één uur na het einde der injectie). Als n.l., onmiddellijk na ophouden der injectie bloed ter analyse was afgenomen, werd het dier gedurende 5 à 10 minuten in zijn kooi gezet en vervolgens in de gaskamer overgebracht.

De volgende bepalingen, aangeduid met „ c^1, c^2, enz. ", werden 's middags, 's avonds of 's nachts gedaan, terwijl de „ sample " voor de laatste gas-analyse „ d " den volgenden morgen, ongeveer 24 uur na de inspuiting, genomen werd.

A. TECHNIEK.

Er werd gebruik gemaakt van de methode, die in 1925 beschreven is door Mejuffr. Cappellen en Prof. Noyons (62). Het groote voordeel hiervan is, dat het dier zich in een afgesloten ruimte bevindt, waarin het zich vrij kan bewegen en men geen gebruik behoeft te maken van meer of minder slecht afsluitende maskers of van tracheotomie. Bovendien is deze methode snel en weinig kostbaar.

Het principe der methode berust hierop, dat men door de afgesloten ruimte, waarin zich mensch of dier bevindt, met constant debiet een stroom buitenlucht zuigt, waarvan de door het ademhalende levende organisme veranderde samenstelling, wanneer deze constant geworden is, bepaald wordt volgens de methode van Haldane.

In *fig. 11* zien we een schematische voorstelling der hiervoor benoodigde opstelling :

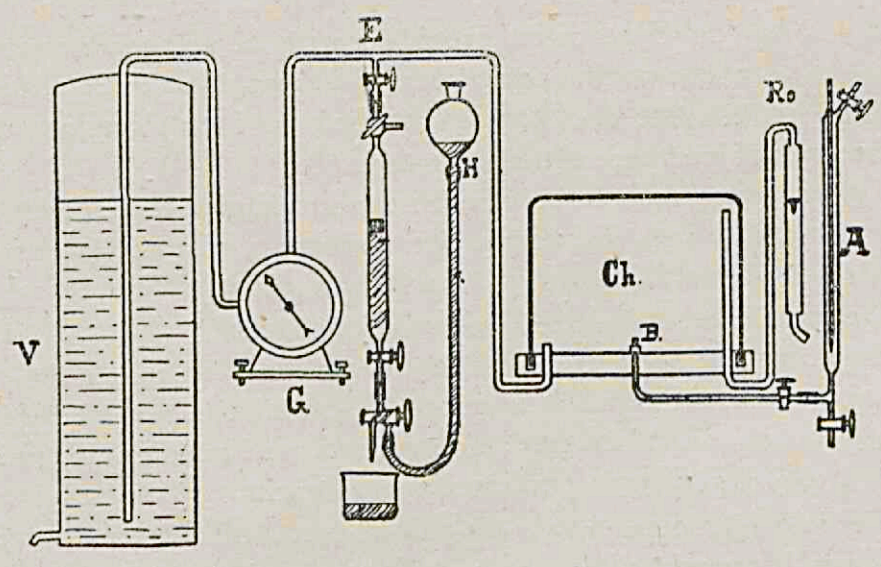


FIG. 11.

Schematische voorstelling der gas-analytische methode Cappellen-Noyons (62). Verklaring zie tekst.

De gaskamer Ch bestaat uit een omgekeerden glazen bak (een groot rechthoekig aquarium, rustend in een met kwik gevulde richel van den geparaffineerden houten bodem. Het geheel is dus absoluut luchtdicht. De inhoud is ongeveer 10 × het volume van het dier.

Onder links wordt de lucht weggezogen door een over de geheele breedte der gaskamer aangebrachte, met een groot aantal gaatjes doorboorde, koperen buis. Aldus wordt rechts boven door een dergelijke buis (met een grooter aantal gaatjes om geen negatieven luchtdruk te krijgen) buitenlucht binnengezogen, die een rotameter Ro gepasseerd heeft. (*)

Nadat de buitenlucht dus in diagonale richting door de gaskamer gestroomd is, waarvan de inhoud aldus goed gemengd wordt, passeert ze den gasmeter G, waarop men met een chronometer nauwkeurig de gedurende een bepaalden tijd verplaatste hoeveelheid lucht kan meten. Het doorzuigen der lucht geschiedt met een vat van 150 L. inhoud, dat als flesch van Mariotte is ingericht. Door de afvoerbuis hiervan hooger of lager te plaatsen kan men het daarin aanwezige water met verschillende, doch constante snelheid laten wegloopen, waardoor ook het debiet der lucht, die men aldus in het vat zuigt, gedurende het geheele experiment constant blijft. Daar men ongeveer 50 L. lucht per K° lichaamsgewicht van het proefdier moet laten doorstroomen is deze hoeveelheid water voldoende bij een konijn van 2 K° voor $1^1/_2$ uur. Men kan ook in plaats van deze flesch van Mariotte een gewone waterstraalluchtpomp gebruiken (deze kan tot 400 L. lucht per uur zuigen), maar men is dan afhankelijk van den steeds eenigszins wisselenden druk der stadswaterleiding, waardoor het debiet niet volkomen constant is.

In de gaskamer is een, in de teekening niet aangegeven, thermometer aangebracht en bovendien een lange dunne koperen buis, die eenige malen langs de wanden rondloopt en waardoor men naar

(*) Een rotameter is een glazen buis, die boven iets wijder is dan onder, waarin zich een ebonieten tolletje met een scheef geplaatst gleufje in den kop bevindt. Wanneer er nu door deze buis van onder naar boven lucht gezogen of geblazen wordt, begint dit tolletje te draaien en wordt hooger meegezogen naarmate er meer lucht passeert. Deze buizen, die onder den naam „ Rotameters " in den handel zijn (Deutsche Rotawerke, Aachen) zijn nauwkeurig geijkt, zoodat men dus steeds het debiet der doorstroomende lucht kan controleeren.

believen warm of koud water kan laten stroomen om de temperatuur in de kamer op ± 20° te houden.

Het „ sampelen " of lucht afzuigen geschiedt nu als volgt :

Het dier wordt onder de glazen klok geplaatst. welke met een riem op den bodem wordt bevestigd. Op bovenbeschreven wijze wordt nu het debiet der door den rotameter stroomende lucht geregeld op ± 100 L. per uur voor een konijn van 2 K°.

Daar de binnenstroomende lucht buitenlucht is, is de samenstelling constant en nauwkeurig bekend. De uit de kamer stroomende lucht zal echter door de ademhaling van het dier van samenstelling veranderen : het koolzuur zal toenemen, het zuurstof-gehalte zal afnemen. Na eenigen tijd zal de samenstelling der uitstroomende lucht constant geworden zijn, omdat het dier iedere seconde dezelfde hoeveelheid CO_2 en O_2 produceert, resp. verbruikt. Om op dit oogenblik een hoeveelheid der uitstroomende lucht ter analyse te kunnen afzonderen is tusschen gaskamer en gasmeter een T-buis aangebracht. De hieraan met caoutchouc slang bevestigde sample-buis is 1.8 cM wijd en heeft ongeveer een inhoud van 50 ccm. De uiteinden hiervan zijn afgesloten, boven door een capillaire drieweg-kraan, onder door een gewone capillaire kraan. Dit einde wordt met een gummibuisje op een tweeweg-kraan geschoven, waarvan de eene weg tot een zeer nauwe capillair is uitgetrokken, de andere door een lange gummislang met het kwikreservoir H in verbinding staat. Door alle kranen te openen vult men de sample-buis met kwik vanuit H en wel zoover, dat het oppervlak hiervan bij E de horizontale buis bereikt, waarlangs de lucht uit de kamer weggezogen wordt. Aldus is er in het geheel geen schadelijke ruimte.

Nadat de temperatuur in de gaskamer en ook de barometerstand zijn afgelezen, wordt de onderste kraan zoover gedraaid, dat het kwik door de nauwe capillair kan wegstroomen (dus 180° verder dan den vorigen stand). Hierdoor wordt van de langsstroomende lucht een gedeelte in de sample-buis gezogen. De kwik afvoerende capillair is zoo nauw gemaakt, dat dit zéér langzaam gaat en wel ongeveer 10 minuten duurt, voordat al het kwik in het eronder staande bakje is geloopen en dus de geheele sample met lucht gevuld is. De kranen worden dan gesloten en de

lucht kan in het toestel van Haldane geanalyseerd worden.(*) Gedurende den tijd van het „ sampelen " bepaalt men op den gasmeter G met een chronometer nauwkeurig de hoeveelheid lucht gedurende dezen tijd gepasseerd. Bovendien leest men nog enkele malen de temperatuur af om hiervan later het gemiddelde te nemen.

Na analyse der gassen is dus bekend het percentage CO_2, O_2 en N_2, dat de lucht, die uit de gaskamer kwam, bevatte. Om hieruit het respiratie-quotient te berekenen moet men eerst een correctie aanbrengen, daar bij een respiratie-quotient van minder dan 1 het volume der uitstroomende lucht kleiner is dan dat der binnenstroomende lucht, immers er is meer O_2 opgenomen dan CO_2 geproduceerd.

Voorbeeld (Konijn XLIII, Sample n° 1) :

Buitenlucht :	Analyse :
$CO_2 = 0.03$ °/₀	$CO_2 = 0.76^5$
$O_2 = 20.93$ °/₀	$O_2 = 20.07$
$N_2 = 79.04$ °/₀	$O_2 = 79.16^5$

Het volume der binnenstroomende lucht was dus in °/₀ :

$\frac{79.165}{79.04} \times 100$, deze zou dus bevatten :

$$20.93 \times \frac{79.165}{79.04} \text{ volume-deelen } O_2 = 79.165 \times \frac{20.93}{79.04}$$

$$= 79.165 \times 0.265 \text{ (**)} = 20.978.$$

De verbruikte hoeveelheid O_2 is dus $20.978 - 20.07 = 0.908$°/₀.

(*) Alle in dit proefschrift vermelde gas-analyses zijn gedaan door de gas-analyste van het Physiol. Instituut te Leuven, Mejuffrouw L. Cappellen. Ik kan niet nalaten hier nogmaals mijn erkentelijkheid te betuigen voor de nauwgezetheid, waarmede zij dit groote aantal bepalingen verrichtte.

Alle respiratie-quotienten zijn door haar met gebruikmaking van bijgaande *tabel IX* berekend en daarna door mij met een rekenlineaal gecontroleerd.

(**) Daar deze factor $\frac{O_2}{N_2}$ der buitenlucht steeds dezelfde blijft n.l. 0.265, kan men eenvoudig steeds de gevonden N_2 met dit getal vermenigvuldigen.

We hebben daarvoor steeds gebruik gemaakt van tabel IX, waarin links de som der gevonden percentages CO_2 en O_2 is aangegeven en rechts de daarmee correspondeerende gecorrigeerde buitenlucht-zuurstof. Men behoeft dan ook niet meer de N_2 te berekenen en deze met 0.265 te vermenigvuldigen.

TABEL IX

ZUURSTOF - CORRECTIE

$$X = CO_2 + O_2$$

$$Y = (100 - X) \times 0.265.$$

X	Y	X	Y
20.60	21.041	20.80	20.988
20.61	21.038	20.81	20.985
20.62	21.036	20.82	20.982
20.63	21.033	20.83	20.980
20.64	21.030	20.84	20.977
20.65	21.028	20.85	20.975
20.66	21.025	20.86	20.972
20.67	21.022	20.87	20.969
20.68	21.020	20.88	20.967
20.69	21.017	20.89	20.964
20.70	21.014^5	20.90	20.961^5
20.71	21.012	20.91	20.959
20.72	21.009	20.92	20.956
20.73	21.006	20.93	20.954
20.74	21.004	20.94	20.951
20.75	21.001	20.95	20.948
20.76	20.999	20.96	20.946
20.77	20.996	20.97	20.943
20.78	20.993	20.98	20.940
20.79	20.991	20.99	20.938

Voor CO_2 mag men, daar het zeer kleine percentage koolzuur in de buitenlucht hierdoor practisch niet verandert, dit ineens zonder correctie aftrekken van het in de sample gevonden percentage.
Het geproduceerde CO_2 in dit experiment was dus: $0.765 - 0.03 = 0.735$.

Het respiratie-quotient is dus : $\frac{0.735}{0.908} = 0.809$.

Het respiratie-quotient kan dus gevonden worden door eenvoudig het °/₀ CO_2 door het percentage O_2 te deelen. Om echter te berekenen hoeveel CO_2 en O_2 het dier per tijdseenheid heeft geproduceerd, resp. verbruikt en daaruit het metabolisme te berekenen moet men correcties aanbrengen voor temperatuur, barometer en waterdampspanning in de uitstroomende lucht, d. w. z. het gedurende een bepaalden tijd met den gasmeter gevonden volume reduceeren op O° C., 760 mM barometer-kwikdruk en op het volume van droge lucht. Daar we aan mogen nemen, dat deze lucht ongeveer verzadigd is met waterdamp, omdat het dier in een kleine ruimte zit, welke betrekkelijk langzaam ververscht wordt en men vaak condensatiewater aan de wanden ziet, kunnen we de dampspanning aflezen uit *tabel X* (63), waarin deze voor verschillende temperaturen is uitgedrukt in mM. kwik. De afgelezen barometerstand, hiermee verminderd en gedeeld door 760, geeft dus de correctie voor barometer en voor waterdampspanning tegelijk.

TABEL X.

Dampspanning bij verschillende temperatuur

Temp.	Dampsp.	Temp.	Dampsp.
10	9.2	19	16.5
11	9.8	20	17.5
12	10.5	21	18.7
13	11.2	22	19.8
14	12.0	23	21.1
15	12.8	24	22.4
16	13.6	25	23.8
17	14.5	37	47.1
18	15.5	38	49.7

De temp. is aangegeven in graden Celsius; de waterdampspanning in mM kwik. (naar Douglas en Priestly (63).

Een correctie voor de temp. wordt aangebracht door vermenigvuldiging met $\frac{273}{273 + t}$, waarin t de afgelezen temp. is.

We krijgen dus voor de gepasseerde lucht in L. per minuut :

$$\frac{L}{m} \times \frac{B - d}{760} \times \frac{273}{273 + t}$$

L = aantal liters door het apparaat gestroomd gedurende
m = minuten (afgelezen op den gasmeter met een chronometer).
B = afgelezen barometer-stand in mM Hg.
d = waterdampspanning bij de afgelezen :
t = temperatuur.

Daar 273 in den teller en 760 in den noemer constant zijn, kan men, om de berekening te vergemakkelijken, de formule aldus schrijven:

$$\frac{L}{m} \times \frac{B - d}{273 + t} \times \frac{273}{760} \quad \text{of} \quad \frac{L \times (B-d) \times 0.3592}{m \times (273 + t)}$$

TABEL XI.

Metabolisme bij verschillende respiratie-quotienten.

Resp. quot.	Per liter geabsorbeerde zuurstof : Koolhydr. in grammen	Vet in grammen	Calorieën	Grammen afgebroken lichaamsstoffen
0.71	0.000	0.503	4.795	0.503
0.75	0.154	0.438	4.829	1.056
0.80	0.365	0.351	4.875	1.811
0.85	0.576	0.263	4.921	2.565
0.90	0.786	0.175	4.967	3.320
0.95	0.997	0.880	5.012	4.074
1.00	1.207	0.000	5.058	4.828

(naar Zuntz en Loewy's Lehrbuch der Physiologie des Menschen, 1920.)

Door het getal, dat men nu gevonden heeft, te vermenigvuldigen met de percentages CO_2 en O_2 weet men dus hoeveel ccm CO_2 en O_2 het dier per minuut afgestaan, resp. verbruikt heeft.

Daar men het respiratie-quotient kent, kan men nu het metabolisme berekenen, omdat één liter verbruikte zuurstof bij een bepaald resp.-quotient overeenkomt met een zeker aantal calorieën (f), grammen verbrande koolhydraten (K) en vetten (V). Hiervoor is gebruik gemaakt van de nieuwere cijfers uit Zuntz en Loewy's Lehrbuch der Physiologie (64), welke in *tabel XI* zijn overgenomen. Deze cijfers had ik, evenals ook die van tabel X voor de dampspanning, uitgezet op millimeter-papier, zoodat ik uit de aldus verkregen geheel regelmatige curven gemakkelijk en nauwkeurig de verlangde cijfers kon aflezen.

De geheele formule wordt dus :

$$\frac{L \times (B - d) \times 0.3592}{m \times (273 + t)} \begin{cases} \times CO_2 = X \\ \times O_2 = Y \end{cases} \begin{cases} \times f = \text{calor. per minuut.} \\ \times K = \text{gr. KH} \quad \text{„} \\ \times V = \text{gr. vet} \quad \text{„} \end{cases}$$

Nemen we weer Konijn XLIII, Sample n° 1 als voorbeeld. Hierbij was :

de barometerstand :	762.1 mM Hg
de gemiddelde temp :	17.3°C.
het debiet :	22.5 L. in 13 min. 4 sec. (= 13.07 min.)
CO_2 analyse - CO_2 buitenlucht :	0.735 °/₀
O_2 buitenl. (gecorr.) - O_2 analyse :	0.908 °/₀
Respiratie-quotient dus :	0.809

We vinden uit de tabellen :

Waterdampspanning bij 17.3°C. :	14.8 mM Hg.
Calorie-afgave per L. O_2 bij een resp. quot. van 0.809:	4.883
KH-verbranding „ „ „ „ „	0.400 gr.
Vet- „ „ „ „ „ „	0.334 gr.

We krijgen dus als we deze cijfers in bovenstaande formule zetten (*) :

$$\frac{22.5 \times (762.1 - 14.8) \times 0.3592}{13.07 \times (273 + 17.3)} \begin{cases} \times 0.735 = 11.7 \\ \times 0.908 = 14.4 \end{cases} \begin{cases} \times 4.883 = 0.0705 \\ \times 0.400 = 0.00578 \\ \times 0.334 = 0.00482 \end{cases}$$

dus:

CO_2-productie	per minuut :	11.7 ccm.
O_2-opname	„	14.4 ccm.
calorie-afgave	„	0.070^5 groote cal.
KH-verbranding	„	5.78 mgr,
vet- „	„	4.82 mgr.

(*) Daar het te veel tijd zou nemen al deze cijfers gewoon te berekenen of met een logarithmentafel, heb ik ze steeds tweemaal op een rekenlineaal (Faber n° 375) uitgerekend, waarmee men een nauwkeurigheid van 3 cijfers heeft, wat ruim voldoende is.

Om de nauwkeurigheid van hun methode te onderzoeken hebben Mej. Cappellen en Prof. Noyons een bekende hoeveelheid zuiveren alcohol in de gaskamer laten verbranden, zooals tevoren Benedict deed. Er werd echter om den alcohol met een zeer klein en toch constant debiet toe te voeren gebruik gemaakt van de in de teekening (fig. 11) aangegeven nauwe buret A, die als flesch van Mariotte is ingericht, waarbij het verdampen van den alcohol is uitgesloten. In den bodem der gaskamer is een klein capillair buisje aangebracht, voorzien van een asbest pitje. Door de buret A, die ongeveer 5 ccm inhoud heeft, hooger of lager te plaatsen, kan men het alcohol-vlammetje zeer klein regelen. Één gram zuivere alcohol geeft bij berekening 972.9 ccm. CO_2 en verbruikt 1459.5 ccm O_2 ; het „ respiratie-quotient " is dus 0.667.

Bij analyse der uit de gaskamer stroomende lucht werd gevonden :

Experiment N°	Alcohol verbrand per sec. in mM3.	Hoeveelheid O2 in ccm. die men theoretisch moet vinden	Gevonden hoeveelheid O2 door gas-analyse	Verhouding tusschen gevonden en berekende zuurstof
I	1.0693	1.247	1.269	101.6
II	0.94066	1.097	1.099	100.1
III	0.97198	1.134	1.165	102.7
			Gemiddeld :	101.5

De nauwkeurigheid van hun methode is dus zeer groot ; de gemiddelde fout is slechts 1,5 °/₀.

B. RESULTATEN.

1° Normale cijfers en contrôle-dieren.

Alvorens over te gaan tot het bespreken van den invloed van glucose-insuline inspuitingen op respiratie-quotient en metabolisme, zal ik eerst een tabel geven der cijfers gevonden vóór de inspuiting, dus bij normale konijnen, evenals ik dat bij de bloedsuikers deed. Daar dit een betrekkelijk groot aantal cijfers is, alle in dezelfde omstandig-

heden van voeding, enz. met een nauwkeurige methode bepaald, heeft deze tabel misschien eenige waarde om aan te toonen de groote individueele verschillen, die konijnen vertoonen. *(Tabel XII.)*

Het respiratie-quotient wisselt van 0.737 tot 0.901, over het algemeen blijft het echter dicht bij het gemiddelde : 0.806.

De schommelingen in de calorie-afgave zijn echter grooter. Dat deze lang niet uitsluitend afhankelijk zijn van de meerdere of mindere bewegingen van het dier blijkt uit de in de tabel opgenomen kolom getallen, waarin de mate van rust van het dier tijdens het experiment aldus is uitgedrukt : 5 = zéér rustig ; 4 = rustig ; 3 = vrij rustig ; 2 = onrustig ; 1 = zéér onrustig. Als we de cijfers der calorie-afgave rangschikken volgens de mate van rust der dieren, dan vinden we als gemiddelden :

Mate van rust tot 2 :	39.8	kleine	calor.
„ „ „ „ 3 :	43.8	„	„
„ „ „ „ 4 :	45.1	„	„
„ „ „ „ 5 :	38.4	„	„

We zien dus, dat het gemiddelde metabolisme niet daalt, naarmate het dier rustiger is, wat natuurlijk bij ieder dier afzonderlijk wel het geval moet zijn.

Evenmin zien we een duidelijken invloed van het gewicht of het geslacht op de calorie-afgave per K°-minuut :

gemiddelde voor de mannelijke dieren : 45.4,
voor de vrouwelijke : 41.4.

De individueele verschillen overwegen dus in die mate, dat zelfs de rustfactor niet meer waarneembaar is. Als minimum vonden we 0.0306, als maximum 0.061, als gemiddelde 0.043 groote calor. per K° per minuut = 2.58 gr. cal. per K°-uur ; (*) Laufberger vindt gemiddeld 2.5 cal. p. K° p. uur (65), Loewy (gecit. n. Laufberger) 3.1 cal. p. K° per uur.

Voor CO_2-productie vonden we gemiddeld 7.13 ccm, voor O_2-opname 8.8 ccm per minuut per K° lichaamsgewicht.

(*) Prof. Grijns deelde mij op het Physiologen-congres te Stockholm mede, dat hij bij normale ratten eveneens groote verschillen vond in het metabolisme, vaak meer dan 50%.

TABEL XII

NORMALE METABOLISME - CIJFERS

N°	DATUM	Resp. quot.	Kleine cal. per m.	per K°	mgr. KH p. min.	mgr. vet p. minuut	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. minuut	Mate van rust	Gewicht in K°
II	7-12-'25	0.817	103	45	9.20	6.75	17.3	21.2	?	2.27[5]
III	9-12-'25	0.877	118	49	16.40	5.11	21.0	23.9	?	2.40
V	11-12-'25	0.803	106	39	8.20	7.51	17.5	21.8	?	2.70
VII	17-12-'25	0.797	116	49	8.33	8.45	19.0	24.8	?	2.35
VIII	18-12-'25	0.748	109	36	3.28	9.96	16.9	22.6	?	3.00
IX	21-12-'25	0.873	85	40	11.60	3.84	15.1	17.3	$2^1/_2$	2.15
X	22-12-'25	0.782	99	47	5.85	7.77	16.0	20.4	4	2.10
XVIII	4- 2-'26	0.901	82	34	13.07	2.91	14.9	16.6	2	2.40
XX	11- 2-'26	0.772	105	54	5.33	8.64	16.8	21.8	$3^1/_2$	1.95
XXI	16- 2-'26	0.802	126	61	9.58	8.93	20.7	25.8	4	2.06
XXII	18- 2-'26	0.770	105	52	5.11	8.67	16.7	21.6	$3^1/_2$	2.03
XXIII	22- 2-'26	0.860	112	53	13.95	5.55	19.5	22.6	3	2.12
XXIV	24- 2-'26	0.895	115	48	17.70	4.23	20.8	23.2	4	2.40
XXVI	3- 3-'26	0.718	94	40	5.08	9.60	14.0	19.5	$4^1/_2$	2.35
XXVIII	*8- 3-'26*	*0.807*	*101*	*55*	*8.10*	*6.96*	*16.7*	*20.7*	$2^1/_2$	*1.82[5]*
XXIX	10- 3-'26	0.816	74	38	6.53	4.88	12.2	15.0	$3^1/_2$	1.95
XXX	12- 3-'26	0.804	69	38	5.35	4.88	11.4	14.2	$2^1/_2$	1.80
XXXI	30- 4-'26	0.754	65	35	2.26	5.78	10.0	13.3	$4^1/_2$	1.87
XXXII	3- 5-'26	0.774	82	47	4.28	6.70	13.1	16.9	3	1.77
XXXIII	5- 5-'26	0.804	97	44	7.60	6.83	16.0	19.9	2	2.22
XXXIV	6- 5-'26	0.847	80	37	9.20	4.30	13.8	16.6	2	2.15
XXXV	10- 5-'26	0.829	91	45	9.05	5.55	15.5	18.4	3	2.03
XXXVI	12- 5-'26	0.786	84	40	5.20	6.45	13.6	17.3	3	2.08
XXXVII	14- 5-'26	0.837	69	39	7.25	3.97	11.7	13.9	4	1.77
XXXVIII	17- 5-'26	0.768	99	48	4.67	8.31	15.8	20.6	$2^1/_2$	2.07
XXXIX	19- 5-'26	0.779	75	38	4.26	5.99	12.1	15.5	5	1.97
XL	26- 5-'26	0.737	51	31	1.07	4.88	7.8	10.7	4	1.68
XLI	28- 5-'26	0.814	84	44	7.31	5.62	14.1	17.3	$1^1/_2$	1.93
XLII	31- 5-'26	0.836	78	37	8.21	4.55	13.3	15.9	$3^1/_2$	2.12
XLIII	7- 6-'26	0.809	70	40	5.78	4.82	11.7	14.4	5	1.77
XLIV	15- 6-'26	0.806	66	34	5.25	4.58	10.9	13.6	3	1.97
XLV	17- 6-'26	0.788	80	38	5.14	6.09	13.0	16.4	3	2.10
Gemiddelden :		0.806	90		7.47	6.22	15.0	18.5		2.10[5]
„ per K° :				43	3.55	2.96	7.1	8.8		

TABEL XII

NORMALE METABOLISME - CIJFERS

N°	DATUM	Resp. quot.	Kleine cal. per m.		mgr. KH p. min.	mgr. vet p. minuut	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. minuut	Mate van rust	Gewicht in K°
				per K°						
II	7-12-'25	0.817	103	45	9.20	6.75	17.3	21.2	?	2.27⁵
III	9-12-'25	0.877	118	49	16.40	5.11	21.0	23.9	?	2.40
V	11-12-'25	0.803	106	39	8.20	7.51	17.5	21.8	?	2.70
VII	17-12-'25	0.797	116	49	8.33	8.45	19.0	24.8	?	2.35
VIII	18-12-'25	0.748	109	36	3.28	9.96	16.9	22.6	?	3.00
IX	21-12-'25	0.873	85	40	11.60	3.84	15.1	17.3	$2^1/_2$	2.15
X	22-12-'25	0.782	99	47	5.85	7.77	16.0	20.4	4	2.10
XVIII	4- 2-'26	0.901	82	34	13.07	2.91	14.9	16.6	2	2.40
XX	11- 2-'26	0.772	105	54	5.33	8.64	16.8	21.8	$3^1/_2$	1.95
XXI	16- 2-'26	0.802	126	61	9.58	8.93	20.7	25.8	4	2.06
XXII	18- 2-'26	0.770	105	52	5.11	8.67	16.7	21.6	$3^1/_2$	2.03
XXIII	22- 2-'26	0.860	112	53	13.95	5.55	19.5	22.6	3	2.12
XXIV	24- 2-'26	0.895	115	48	17.70	4.23	20.8	23.2	4	2.40
XXVI	3- 3-'26	0.718	94	40	5.08	9.60	14.0	19.5	$4^1/_2$	2.35
XXVIII	*8- 3-'26*	*0.807*	*101*	*55*	*8.10*	*6.96*	*16.7*	*20.7*	$2^1/_2$	*1.82⁵*
XXIX	10- 3-'26	0.816	74	38	6.53	4.88	12.2	15.0	$3^1/_2$	1.95
XXX	12- 3-'26	0.804	69	38	5.35	4.88	11.4	14.2	$2^1/_2$	1.80
XXXI	30- 4-'26	0.754	65	35	2.26	5.78	10.0	13.3	$4^1/_2$	1.87
XXXII	3- 5-'26	0.774	82	47	4.28	6.70	13.1	16.9	3	1.77
XXXIII	5- 5-'26	0.804	97	44	7.60	6.83	16.0	19.9	2	2.22
XXXIV	6- 5-'26	0.847	80	37	9.20	4.30	13.8	16.6	2	2.15
XXXV	10- 5-'26	0.829	91	45	9.05	5.55	15.5	18.4	3	2.03
XXXVI	12- 5-'26	0.786	84	40	5.20	6.45	13.6	17.3	3	2.08
XXXVII	14- 5-'26	0.837	69	39	7.25	3.97	11.7	13.9	4	1.77
XXXVIII	17- 5-'26	0.768	99	48	4.67	8.31	15.8	20.6	$2^1/_2$	2.07
XXXIX	19- 5-'26	0.779	75	38	4.26	5.99	12.1	15.5	5	1.97
XL	26- 5-'26	0.737	51	31	1.07	4.88	7.8	10.7	4	1.68
XLI	28- 5-'26	0.814	84	44	7.31	5.62	14.1	17.3	$1^1/_2$	1.93
XLII	31- 5-'26	0.836	78	37	8.21	4.55	13.3	15.9	$3^1/_2$	2.12
XLIII	7- 6-'26	0.809	70	40	5.78	4.82	11.7	14.4	5	1.77
XLIV	15- 6-'26	0.806	66	34	5.25	4.58	10.9	13.6	3	1.97
XLV	17- 6-'26	0.788	80	38	5.14	6.09	13.0	16.4	3	2.10
Gemiddelden :		0.806	90		7.47	6.22	15.0	18.5		2.10⁵
„ per K° :				43	3.55	2.96	7.1	8.8		

Bij de contrôle-dieren *(tabel XIII)*, die zooals op bl. 42 beschreven gedurende 2 uur op het bankje gebonden werden, zagen we het volgende :

1. Het respiratie-quotient daalt door het vasten langzaam en regelmatig van gemiddeld 0.801 tot 0.727 na 24 uur (de regelmaat dezer curven draagt bij tot het beoordeelen der nauwkeurigheid der gebruikte methode).

2. De calorie-afgave, de CO_2-productie en de O_2-opname stijgen na het experiment, waarschijnlijk te verklaren door het opbinden gedurende 2 uur en dalen daarna weer langzaam tot gemiddeld even onder de beginwaarde.

3. De koolhydraat-verbranding daalt langzamerhand tot bijna 0 na 24 uur, terwijl :

4. De vetverbranding ongeveer constant blijft, misschien iets stijgt. (zie tabel XIII en de gemiddelden in tabel XIX, Groep F).

2° Respiratie-quotient na glucose-insuline toediening.

Reeds een zeer groot aantal onderzoekers heeft een stijging aangetoond van het respiratie-quotient na insuline-toediening. Een overzicht hiervan geven Grevenstuk en Laqueur in hun reeds geciteerde monographie(50)in tabel C.In het algemeen vindt men,dat de stijging vrij snel begint, maar gevolgd is door een daling onder den norm bij het optreden van hypoglycaemische verschijnselen.

Wij meenden daarom, dat het interessant zou zijn ook bij onze experimenten, waarbij insuline steeds min of meer gecompenseerd door glucose werd ingespoten, de gaswisseling na te gaan. Op deze wijze vermijden we echter de complicatie van het hypoglycaemisch symptomen-complex, zooals temperatuursdaling en vooral de krampen, waardoor de longventilatie volgens Dickson c. s. (66) belangrijk kan stijgen en kunnen toch groote doses insuline injecteeren.

De gevonden respiratie-quotienten zijn in *tabel XIV* gerangschikt volgens de wijze der glucose-insuline toediening (67). Van elke serie zijn de gemiddelden berekend om de experimenten, waarbij te veel en

TABEL XIII.

SERIE F. CONTROLE-DIEREN.

N°		Resp. quot.	Kleine cal. per minuut		mgr. KH p. m.	mgr. vet p. m.	ccm CO_2 p. m.	ccm O_2 p. m.	Mate van rust	Gewicht in K°
				per K°						
XLIII	a.	0.809	70	40	5.78	4.82	11.7	14.4	5	1.77
	b.	0.789	84	48	5.50	6.38	13.7	17.3	$3^1/_2$	
(4 u.)	c^1.	0.744	71	40	1.90	6.53	10.9	14.6	$2^1/_2$	
(9 u. 15')	c^2.	0.752	67	38	2.24	6.06	10.5	14.0	4	
(12 u.)	c^3.	0.737	61	35	1.30	5.82	9.4	12.7	4	
	d.	0.732	56	31	0.95	5.39	8.4	11.5	$2^1/_2$	
XLIV	a.	0.806	66	34	5.25	4.58	10.9	13.6	3	1.97
	b.	0.761	84	43	3.44	7.24	13.2	17.4	$4^1/_2$	
(4 u.15')	c^1.	0.775	88	45	4.64	7.09	14.0	18.1	3	
(12 u.)	c^2.	0.719	79	40	0.51	8.06	11.8	16.4	4	
	d.	0.700	72	36	0	7.50	10.5	15.0	3	
XLV	a.	0.788	80	38	5.14	6.09	13.0	16.4	3	2.10
	b.	0.796	102	49	7.26	7.48	16.7	21.0	2	
(4 u.)	c^1.	0.776	103	49	5.51	8.26	16.4	21.2	3	
(9 u.)	c^2.	0.769	98	47	4.68	8.14	15.6	20.2	3	
(12 u.30')	c^3.	0.755	89	42	3.20	7.90	14.0	18.5	3	
	d.	0.750	81	39	2.60	7.40	12.7	16.9	$3^1/_2$	

TABEL XIV.

RESPIRATIE - QUOTIENT

Serie:	Konijn N°	Vóór de injectie	½ uur na het einde der injectie	3½ à 16 uur na het einde der injectie	24 uur na de injectie
A.	II	0.817	0.864		
	III	0.877	1.000	1.002 (9 u.)	0.846
	V	0.803	0.955		0.817
	VII	0.797	0.883		0.808
	VIII	0.748	0.937	0.809 (9 u.)	0.770
	IX	0.873	0.926		0.870
	Gemiddelde :	0.*819*	0.*927*		0.*822*
B.	XVIII	0.901	0.944		0.903
	XX	0.772	0.912		0.765
	XXI	0.802	0.859		0.836
	XXII	0.770	0.862		0.778
	XXIII	0.860	0.988		0.864
	XXIV	0.895	0.872	0.867 (5 u.)	0.778
				0.935 (13 u.30')	
	XXVI	0.718	0.840		0.719
	Gemiddelde :	0.*817*	0.*897*		0.*806*
C.	X	0.782	0.954	0.820 (5 u. 30')	†
	XXVIII	0.807	0.939	0.847 (7 u. 30')	0.769
	XXIX	0.816	0.906	0.837 (11 u. 45')	0.747
	XXX	0.804	0.912	0.913 (5 u. 15')	†
	XXXI	0.754	0.844	0.804 (3 u. 30')	0.740
	XXXII	0.774	0.838	0.739 (3 u. 30')	†
	XL	*0.737*	*0.870*	*0.920 (3 u. 45')*	*0.703*
				0.893 (7 u. 30')	
				0.825 (12 u. 30')	
	XLI	0.814	0.893	0.943 (4 u.)	0.765
				0.874 (7 u. 15')	
				0.809 (15 u. 30')	
	XLII	0.836	0.884	0.910 (4 u.)	0.763
				0.888 (7 u. 30')	
				0.849 (12 u.)	
	Gemiddelde :	0.*792*	0.*893*	0.*858* (*7 u. 30'*)	0.*748*
D.	XXXIII	0.804	0.923	0.913 (3 u. 30')	0.824
	XXXIV	0.847	0.960	0.903 (4 u.)	0.890
				0.961 (9 u.)	
				0.996 (12 u. 30')	
	XXXV	0.829	0.874	0.934 (7 u. 30')	0.826
				0.809 (16 u.)	
	XXXVI	0.786	0.900	0.950 (4 u.)	†
	XXXVIII	0.768	0.894	0.886 (4 u.)	0.839
	XXXIX	0.779	0.911	0.949 (4 u. 15')	0.913
				0.980 (10 u.)	
	Gemiddelde :	0.*802*	0.*910*	0.*928* (*7 u. 30'*)	0.*858*
E.	XXXVII	0.*837*	0.*981*	0.*997* (*3 u. 45'*)	0.*983*
F.	XLIII	0.809	0.789	0.744 (4 u.)	0.732
				0.752 (9 u. 15')	
				0.737 (12 u.)	
	XLIV	0.806	0.761	0.775 (4 u. 15')	0.700
				0.719 (12 u.)	
	XLV	0.788	0.796	0.776 (4 u.)	0.750
				0.769 (9 u.)	
				0.755 (12 u. 30')	
	Gemiddelde :	0.*801*	0.*782*	0.*753* (*8 u. 30'*)	0.*727*

TABEL XIV.

RESPIRATIE - QUOTIENT

Serie:	Konijn N°	Vóór de injectie	½ uur na het einde der injectie	3½ à 16 uur na het einde der injectie	24 uur na de injectie
A.	II	0.817	0.864		
	III	0.877	1.000	1.002 (9 u.)	0.846
	V	0.803	0.955		0.817
	VII	0.797	0.883		0.808
	VIII	0.748	0.937	0.809 (9 u.)	0.770
	IX	0.873	0.926		0.870
	Gemiddelde :	0.*819*	0.*927*		0.*822*
B.	XVIII	0.901	0.944		0.903
	XX	0.772	0.912		0.765
	XXI	0.802	0.859		0.836
	XXII	0.770	0.862		0.778
	XXIII	0.860	0.988		0.864
	XXIV	0.895	0.872	0.867 (5 u.)	0.778
				0.935 (13 u.30')	
	XXVI	0.718	0.840		0.719
	Gemiddelde :	0.*817*	0.*897*		0.*806*
C.	X	0.782	0.954	0.820 (5 u. 30')	†
	XXVIII	0.807	0.939	0.847 (7 u. 30')	0.769
	XXIX	0.816	0.906	0.837 (11 u. 45')	0.747
	XXX	0.804	0.912	0.913 (5 u. 15')	†
	XXXI	0.754	0.844	0.804 (3 u. 30')	0.740
	XXXII	0.774	0.838	0.739 (3 u. 30')	†
	XL	*0.737*	*0.870*	*0.920 (3 u. 45')*	*0.703*
				0.893 (7 u. 30')	
				0.825 (12 u. 30')	
	XLI	0.814	0.893	0.943 (4 u.)	0.765
				0.874 (7 u. 15')	
				0.809 (15 u. 30')	
	XLII	0.836	0.884	0.910 (4 u.)	0.763
				0.888 (7 u. 30')	
				0.849 (12 u.)	
	Gemiddelde :	0.*792*	0.*893*	0.*858* (*7 u. 30'*)	0.*748*
D.	XXXIII	0.804	0.923	0.913 (3 u. 30')	0.824
	XXXIV	0.847	0.960	0.903 (4 u.)	0.890
				0.961 (9 u.)	
				0.996 (12 u. 30')	
	XXXV	0.829	0.874	0.934 (7 u. 30')	0.826
				0.809 (16 u.)	
	XXXVI	0.786	0.900	0.950 (4 u.)	†
	XXXVIII	0.768	0.894	0.886 (4 u.)	0.839
	XXXIX	0.779	0.911	0.949 (4 u. 15')	0.913
				0.980 (10 u.)	
	Gemiddelde :	0.*802*	0.*910*	0.*928* (*7 u. 30'*)	0.*858*
E.	XXXVII	0.*837*	0.*981*	0.*997* (*3 u. 45'*)	0.*983*
F.	XLIII	0.809	0.789	0.744 (4 u.)	0.732
				0.752 (9 u. 15')	
				0.737 (12 u.)	
	XLIV	0.806	0.761	0.775 (4 u. 15')	0.700
				0.719 (12 u.)	
	XLV	0.788	0.796	0.776 (4 u.)	0.750
				0.769 (9 u.)	
				0.755 (12 u. 30')	
	Gemiddelde :	0.*801*	0.*782*	0.*753* (*8 u. 30'*)	0.*727*

die waarbij te weinig insuline in verhouding tot de glucose gegeven is, eenigszins in evenwicht te brengen. De eerste kolom geeft het R. Q. onmiddellijk vóór de inspuiting, de tweede ongeveer een half uur na het einde der injectie (in Serie A echter ongeveer één uur). In de derde kolom zijn resp.-quot. gegeven, waarbij de tijd verloopen na het einde der inspuiting achter elk cijfer tusschen haakjes vermeld is. De gemiddelden in deze kolom zijn genomen uit alle cijfers van elke serie (*), waarachter dan de gemiddelde tijd in uren is aangegeven.

In de laatste kolom ziet men het R. Q. na 24 uur.

Bij alle 29 konijnen met één uitzondering (XXIV) *zien we een verhooging van het respiratie-quotient na de inspuiting*, die gemiddeld voor elke groep ongeveer even groot is en wel $\pm$ 0.100. Het verdere verloop is echter verschillend naarmate de toegediende hoeveelheid glucose-insuline grooter was :

In *Serie A*, waarbij een mengsel glucose-insuline intraveneus gedurende 2 uur ingespoten was, zien we het gemiddelde R. Q. stijgen van 0.819 vóór de inspuiting tot 0.927 erna, een stijging dus van 0.108. Na 24 uur zijn we weer ongeveer aan de uitgangswaarde: 0.822. Daartusschen zijn te weinig bepalingen gedaan om er een gemiddelde uit te kunnen nemen.

In *Serie B*, intraveneuse insuline-injectie gevolgd door een glucose-toediening onder de huid van 8 gram per K° gedurende 1 à 2 uur, zien we een geringere stijging,namelijk van 0.817 op 0.897,dus 0.080.(In deze groep is echter het eenige experiment, waarbij het resp.-quot. daalde, aanwezig). Ook hier is na 24 uur de uitgangswaarde bereikt : 0.806.

In *Serie C*, subcutane insuline-injectie, gevolgd door onderhuidsche glucose-toediening van 8 gram per K° gedurende 2 uur, is de verhooging weer 0.101, namelijk van 0.792 op 0.893. Uit het groote aantal cijfers in kolom 3 het gemiddelde nemend vinden we 0.858 na $7^1/_2$ uur, terwijl na 24 uur het R. Q. weer onder de uitgangswaarde gedaald is : 0.748.

(*) Alle in dit proefschrift vermelde gemiddelden van groote cijferreeksen zijn, om vergissingen te voorkomen, tweemaal op een rekenmachine berekend.

In *Serie D*, waarbij een dubbele quantiteit glucose-insuline is toegediend op overigens gelijke wijze als in Serie C, zien we een geheel ander verloop der kromme : de stijging van 0.108, die we een half uur na de inspuiting vinden, is na 7 uur nog vergroot, terwijl het R. Q. na 24 uur nog ver boven de normale waarde is.

Gemiddelden : 0.802 — 0.910 — 0.928 — 0.858.

En als we tenslotte, echter slechts in één experiment, de ingespoten hoeveelheid glucose verhoogen tot 24 gram per K°, eveneens voorafgegaan door een subcutane insuline-injectie, blijft het R. Q. gedurende minstens 24 uur zeer dicht bij de eenheid :

0.837 — 0.981 — 0.997 (na $3^3/_4$ uur) — 0.983.

Ter contrôle heb ik bij 3 konijnen de gaswisseling bepaald zonder dat ze ingespoten werden, echter onder overigens gelijke omstandigheden (Serie F). Zooals enkele bladzijden eerder reeds gezegd werd daalt het R. Q. onder den invloed van het hongeren langzaam en regelmatig :

Gemiddelden : 0.801 — 0.782 — 0.753 — 0.727 (na 24 uur).

In *fig. 12* hebben we de gemiddelden van de laatste 4 groepen in curve weergegeven. We zien hier nog duidelijker hoe de *verhooging van het respiratie-quotient van langeren duur is naarmate de ingespoten hoeveelheid glucose-insuline grooter is.*

3° Stofwisseling na glucose-insuline toediening.

Serie A (zie tabel XV en de gemiddelden in tabel XIX).

Intraveneuse inspuiting van een mengsel glucose-insuline gedurende 2 uur.

We zien hier een duidelijke toename van CO_2-productie en O_2-opname, calorie-afgave en koolhydraat-verbranding na de inspuiting, gepaard met een afname der vet-verbranding.

Daar ik bij geen der experimenten ureum-bepalingen in de urine gedaan heb, kan ik een correctie in de cijfers der verbranding van KH en vetten voor verandering der eiwit-afbraak tijdens het experiment niet invoeren. Sacaze (68) heeft echter aangetoond, dat deze door insuline niet in een bepaalde richting geschoven wordt, maar nu eens iets

stijgt, dan weer iets daalt, gemiddeld echter ongeveer constant blijft. De fout hierdoor gemaakt zal dus waarschijnlijk niet groot zijn, vooral niet bij het nemen der gemiddelde waarden van een groot aantal cijfers.

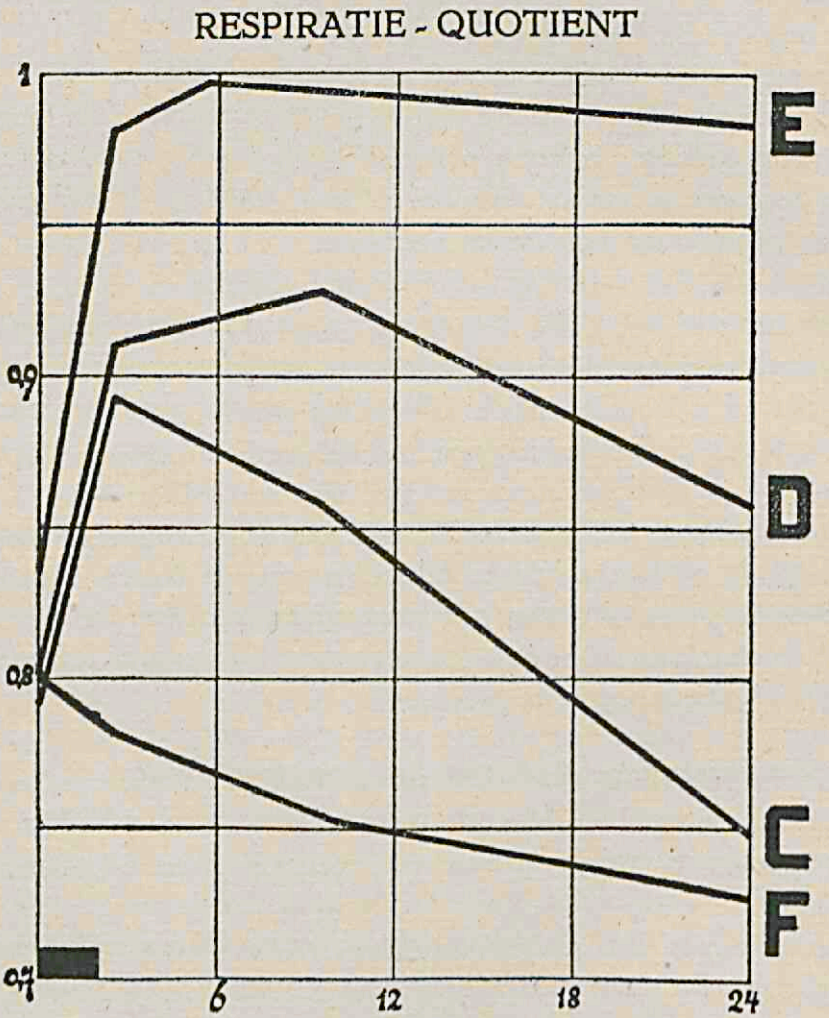


FIG. 12.

C, D en E. Curven der gemiddelde respiratie-quotienten na subcutane insuline injectie, gevolgd door een langzame onderhuidsche inspuiting van stijgende doses glucose.

F = R. Q. der contrôle-dieren.

Abscis = tijd in uren ; duur der inspuiting als een blokje aangegeven.

Ordinaat = respiratie-quotient.

TABEL XV.

SERIE A.

Glucose-insuline mengsel intraveneus gedurende 2 uur.

N°		Resp. quot.	Kleine calorieën per minuut	p. K°	mgr. KH p. min.	mgr. vet p. min.	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. min.	Mate van rust	Gewicht in K°
II	a.	0.817	103	45	9.20	6.75	17.3	21.2	?	2.27[5]
	b.	0.864	114	50	14.70	5.50	20.0	23.2	?	
III	a.	0.877	118	49	16.40	5.11	21.0	23.9	?	2.40
	b.	1.000	128	53	30.60	0	25.4	25.4	?	
(9 u.)	c.	1.002	114	47	27.20	0	22.6	22.6	?	
	d.	0.846	127	53	14.40	6.95	21.8	25.8	?	
V	a.	0.803	106	39	8.20	7.51	17.5	21.8	3	2.70
	b.	0.955	147	54	29.80	2.29	28.0	29.4	5	
	d.	0.817	116	43	10.32	7.60	19.4	23.8	2	
VII	a.	0.797	116	49	8.33	8.45	19.0	24.8	?	2.35
	b.	0.883	118	50	17.00	4.87	21.1	23.9	?	
	d.	0.808	98	42	7.94	6.74	16.2	20.0	?	
VIII	a.	0.748	109	36	3.28	9.96	16.9	22.6	4	3.00
	b.	0.937	137	46	25.70	3.00	25.6	27.4	?	
(9. u.)	c.	0.809	108	36	8.87	7.40	18.2	22.2	?	
	d.	0.770	115	38	5.60	9.50	18.3	23.7	?	
IX	a.	0.873	85	40	11.60	3.84	15.1	17.3	2	2.15
	b.	0.926	125	58	22.30	3.22	23.2	25.0	3	
	d.	0.870	104	48	13.90	4.79	18.3	21.1	4	

In deze groep is de bepaling „ b " gedaan ongeveer één uur na het einde der inspuiting. Uit de bloedsuiker-kromme blijkt, dat de bloedsuiker-waarde dan weer sterk gedaald is. We mogen dus aannemen, dat op dit oogenblik de insuline-werking zich krachtig doet gelden, waarschijnlijk ongeveer maximaal is. Één uur later is de bloedsuiker nagenoeg normaal : de geheele hoeveelheid intraveneus toegediende glucose, verminderd met wat daarvan in de urine verschijnt, is dus in het lichaam verdwenen. Uit de cijfers blijkt, dat de KH-verbranding gemiddeld is toegenomen van 9.5 mgr. p. minuut vóór tot 23.25 mgr. één uur na de inspuiting, dus 13.75 mgr. p. min. Daar we hier ongeveer op het maximum der insuline-werking zijn, kunnen we zeggen, dat gedurende de 4 uur, waarin de glucose verdwenen is, er hoogstens $4 \times 60 \times 13.75$ mgr. $=$ 3.3 gram glucose verbrand is. (Ik had oorspronkelijk (69) uit de calorie-afgave van elk dier afzonderlijk deze verbranding berekend, maar het lijkt me om bovengenoemde reden juister de gemiddelden der geheele groep te nemen). Gemiddeld is in deze groep 4.67 gram glucose per dier in het lichaam verdwenen (ingespoten hoeveelheid verminderd met de in de urine gevonden quantiteit). Bij deze methode is dus hoogstens 70 % der verdwenen glucose volledig geoxydeerd, waarschijnlijk zeer veel minder.

Serie B. (zie *tabel XVI* en de gemiddelden in tabel XIX).

Intraveneuse insuline-injectie, gevolgd door een subcutane inspuiting van 8 gr. glucose per K° gedurende 1 à 2 uur.

De CO_2-productie, O_2-opname, calorie-afgave en KH-verbranding stijgen, maar gemiddeld veel minder dan in de vorige groep en dalen daarna om na 24 uur duidelijk onder de beginwaarde te zijn ; de vetverbranding komt, na gedaald te zijn, na 24 uur niet meer geheel tot zijn uitgangswaarde terug.

Serie C. (zie *tabel XVII* en de gemiddelden in tabel XIX).

Subcutane insuline-inspuiting, gevolgd door een onderhuidsche toediening van 8 gram glucose p. K° gedurende 2 uur.

Ongeveer dezelfde resultaten als in Serie B. Daar we hier echter een groot aantal bepalingen hebben gedaan $3^1/_2$ à 16 uren na het einde der inspuiting kunnen we bij deze groep uit het verloop der kromme

TABEL XVI.

SERIE B

Insuline intraven., gevolgd door een subcut. insp. v. 8 gr. gluc. p. K° ged. 1 à 2 uur.

N°		Resp. quot.	Kleine calorieën per minuut		mgr. KH p. min.	mgr. vet p. min.	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. min.	Mate van rust	Gewicht in K°
				p. K°						
XVIII	a.	0.901	82	34	13.07	2.91	14.9	16.6	2	2.40
	b.	0.944	95	40	18.04	1.86	18.0	19.0	$3^1/_2$	
	d.	0.903	136	57	21.90	4.67	24.8	27.4	$2^1/_2$	
XX	a.	0.772	105	54	5.33	8.64	16.8	21.8	$3^1/_2$	1.95
	b.	0.912	111	57	18.60	3.41	20.3	22.3	3	
	d.	0.765	83	42	3.67	7.03	13.1	17.1	$2^1/_2$	
XXI	a.	0.802	126	61	9.58	8.93	20.7	25.0	4	2.06
	b.	0.859	106	51	13.10	4.90	18.4	21.4	2	
	d.	0.836	118	57	12.40	6.87	20.1	24.0	4	
XXII	a.	0.770	105	52	5.11	8.67	16.7	21.6	$3^1/_2$	2.03
	b.	0.862	114	56	14.40	5.55	19.9	23.0	4	
	d.	0.778	86	43	4.62	6.88	13.8	17.8	4	
XXIII	a.	0.860	112	53	13.95	5.55	19.5	22.6	3	2.12
	b.	0.988	106	52	24.20	0.42	20.7	21.2	3	
	d.	0.864	84	40	10.75	4.05	14.7	17.0	4	
XXIV	a.	0.895	115	48	17.70	4.23	20.8	23.2	4	2.40
	b.	0.872	112	47	15.00	5.00	19.5	22.5	$2^1/_2$	
(5 u.)	c^1.	0.867	103	43	13.40	4.84	18.0	20.8	$3^1/_2$	
(13 u. 30')	c^2.	0.935	87	36	16.20	1.97	16.3	17.4	5	
	d.	0.778	107	45	5.93	8.50	17.1	22.0	4	
XXVI	a.	0.718	94	40	5.08	9.60	14.0	19.5	$4^1/_2$	2.35
	b.	0.840	123	52	13.30	6.77	21.2	25.2	3	
	d.	0.719	81	34	5.25	8.25	12.3	17.1	4	

TABEL XVII.

SERIE C.

Insul. subcut., gevolgd door een subcut. insp. van 8 gr. gluc. p. K° ged. 2 uur.

N°		Resp. quot.	Kleine cal. p. m. p. K°		mgr. KH p. min.	mgr. vet p. min.	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. min.	Mate van rust	Gewicht in K°
X	a.	0.782	99	47	5.85	7.77	16.0	20.4	4	2.10
	b.	0.954	102	49	20.66	1.67	19.4	20.4	3	
(5 u.30')	c.	0.820	81	39	7.34	5.22	13.6	16.6	3	
XXVIII	a.	0.807	101	55	8.10	6.96	16.3	20.7	$2^1/_2$	1.82^5
	b.	0.939	96	53	18.40	2.94	18.3	19.5	3	
(7 u.30')	c.	0.847	72	39	8.20	3.90	12.4	14.6	4	
	d.	0.769	87	48	4.20	7.30	13.9	18.1	3	
XXXIX	a.	0.816	74	38	6.53	4.88	12.2	15.0	$3^1/_2$	1.95
	b.	0.906	75	38	22.00	2.43	13.6	15.0	3	
(11 u.45')	c.	0.837	67	35	7.15	3.93	11.5	13.7	4	
	d.	0.747	83	42	2.33	7.56	12.8	17.2	3	
XXX	a.	0.804	69	38	5.35	4.88	11.4	14.2	$2^1/_2$	1.80
	b.	0.912	72	40	12.10	2.22	13.2	14.5	2	
(5 u.15')	c.	0.913	55	31	9.16	1.68	10.1	11.1	$3^1/_2$	
XXXI	*a.*	*0.754*	*65*	*35*	*2.26*	*5.78*	*10.0*	*13.3*	$4^1/_2$	*1.87*
	b.	*0.844*	*69*	*37*	*7.71*	*3.82*	*11.8*	14.0	4	
(3 u.30')	c.	0.804	68	36	5.30	4.76	11.2	13.9	4	
	d.	0.740	56	30	1.32	5.30	8.7	11.7	4	
XXXII	a.	0.774	82	47	4.28	6.70	13.1	16.9	3	1.77
	b.	0.838	80	45	8.54	4.59	13.6	16.2	5	
(3 u.30')	c.	0.739	54	31	1.24	5.12	8.3	11.5	?	
XL	a.	0.737	51	31	1.07	4.88	7.8	10.7	4	1.68
	b.	0.870	66	40	8.86	3.06	11.7	13.5	3	
(3 u.45')	c^1.	0.920	67	40	11.70	1.88	12.4	13.5	$4^1/_2$	
(7 u.30')	c^2.	0.893	64	38	9.80	2.43	11.6	13.0	4	
(12 u.30')	c^3.	0.825	43	26	4.10	2.70	7.2	8.8	3	
	d.	0.703	59	35	0	6.10	8.6	12.3	$3^1/_2$	
XLI	a.	0.814	84	44	7.31	5.62	14.1	17.3	$1^1/_2$	1.93
	b.	0.893	76	39	11.52	2.86	13.6	15.3	4	
(4 u.)	c^1.	0.943	90	46	17.30	1.79	16.9	17.9	5	
(7 u.15')	c^2.	0.874	72	37	9.84	3.21	12.7	14.6	$2^1/_2$	
(15 u.30')	c^3.	0.809	69	36	5.67	4.73	11.5	14.2	5	
	d.	0.765	62	32	2.76	5.30	9.9	12.9	$4^1/_2$	
XLII	a.	0.836	78	37	8.21	4.55	13.3	15.9	$3^1/_2$	2.12
	b.	0.884	100	47	14.40	4.06	17.8	20.1	3	
(4 u.)	c^1.	0.910	90	42	14.90	2.84	16.5	18.1	3	
(7 u.30')	c^2.	0.888	75	36	11.12	2.97	13.5	15.2	$4^1/_2$	
(12 u.)	c^3.	0.849	66	31	7.65	3.56	11.4	13.4	4	
	d.	0.763	73	35	3.12	6.27	11.6	15.2	5	

TABEL XVII.

SERIE C.

Insul. subcut., gevolgd door een subcut. insp. van 8 gr. gluc. p. K° ged. 2 uur.

N°		Resp. quot.	Kleine cal. p. m. p. K°		mgr. KH p. min.	mgr. vet p. min.	ccm CO_2 p. min.	ccm O_2 p. min.	Mate van rust	Gewicht in K°
X	a.	0.782	99	47	5.85	7.77	16.0	20.4	4	2.10
	b.	0.954	102	49	20.66	1.67	19.4	20.4	3	
(5 u.30')	c.	0.820	81	39	7.34	5.22	13.6	16.6	3	
XXVIII	a.	0.807	101	55	8.10	6.96	16.3	20.7	$2^1/_2$	1.82[5]
	b.	0.939	96	53	18.40	2.94	18.3	19.5	3	
(7 u.30')	c.	0.847	72	39	8.20	3.90	12.4	14.6	4	
	d.	0.769	87	48	4.20	7.30	13.9	18.1	3	
XXXIX	a.	0.816	74	38	6.53	4.88	12.2	15.0	$3^1/_2$	1.95
	b.	0.906	75	38	22.00	2.43	13.6	15.0	3	
(11 u.45')	c.	0.837	67	35	7.15	3.93	11.5	13.7	4	
	d.	0.747	83	42	2.33	7.56	12.8	17.2	3	
XXX	a.	0.804	69	38	5.35	4.88	11.4	14.2	$2^1/_2$	1.80
	b.	0.912	72	40	12.10	2.22	13.2	14.5	2	
(5 u.15')	c.	0.913	55	31	9.16	1.68	10.1	11.1	$3^1/_2$	
XXXI	*a.*	*0.754*	*65*	*35*	*2.26*	*5.78*	*10.0*	*13.3*	$4^1/_2$	*1.87*
	b.	*0.844*	*69*	*37*	7.71	3.82	11.8	14.0	4	
(3 u.30')	c.	0.804	68	36	5.30	4.76	11.2	13.9	4	
	d.	0.740	56	30	1.32	5.30	8.7	11.7	4	
XXXII	a.	0.774	82	47	4.28	6.70	13.1	16.9	3	1.77
	b.	0.838	80	45	8.54	4.59	13.6	16.2	5	
(3 u.30')	c.	0.739	54	31	1.24	5.12	8.3	11.5	?	
XL	a.	0.737	51	31	1.07	4.88	7.8	10.7	4	1.68
	b.	0.870	66	40	8.86	3.06	11.7	13.5	3	
(3 u.45')	c^1.	0.920	67	40	11.70	1.88	12.4	13.5	$4^1/_2$	
(7 u.30')	c^2.	0.893	64	38	9.80	2.43	11.6	13.0	4	
(12 u.30')	c^3.	0.825	43	26	4.10	2.70	7.2	8.8	3	
	d.	0.703	59	35	0	6.10	8.6	12.3	$3^1/_2$	
XLI	a.	0.814	84	44	7.31	5.62	14.1	17.3	$1^1/_2$	1.93
	b.	0.893	76	39	11.52	2.86	13.6	15.3	4	
(4 u.)	c^1.	0.943	90	46	17.30	1.79	16.9	17.9	5	
(7 u.15')	c^2.	0.874	72	37	9.84	3.21	12.7	14.6	$2^1/_2$	
(15 u.30')	c^3.	0.809	69	36	5.67	4.73	11.5	14.2	5	
	d.	0.765	62	32	2.76	5.30	9.9	12.9	$4^1/_2$	
XLII	a.	0.836	78	37	8.21	4.55	13.3	15.9	$3^1/_2$	2.12
	b.	0.884	100	47	14.40	4.06	17.8	20.1	3	
(4 u.)	c^1.	0.910	90	42	14.90	2.84	16.5	18.1	3	
(7 u.30')	c^2.	0.888	75	36	11.12	2.97	13.5	15.2	$4^1/_2$	
(12 u.)	c^3.	0.849	66	31	7.65	3.56	11.4	13.4	4	
	d.	0.763	73	35	3.12	6.27	11.6	15.2	5	

van de KH-verbranding een schatting maken der hoeveelheid geoxydeerde glucose. We kunnen aannemen, dat gedurende 24 uur de glucose en de insuline elkaar ongeveer gecompenseerd hebben, immers zooals we reeds opmerkten, is er herhaaldelijk na 24 uur in de punctie-vloeistof van het oedeem ter plaatse der glucose-inspuiting nog glucose aan te toonen, terwijl de bloedsuiker toch binnen normale grenzen ligt.

Om nu te kunnen schatten hoeveel glucose er in deze serie gedurende 24 uur verbrand was, heb ik de gemiddelde cijfers der KH-verbranding op millimeter-papier aldus uitgezet, dat 2 cM op de ordinaat overeenkomt met 1 mgr. KH p. min. p. K°, terwijl 1 cM op de abscis een tijdsverloop van één uur voorstelt. Op dezelfde wijze wordt de gemiddelde kromme der KH-verbranding der contrôle-dieren op dit vel uitgezet, waarbij echter deze geheele curve zoover verschoven wordt, dat de uitgangspunten samenvallen, in dit geval moet dus het beginpunt der contrôle-curve van 2.79 op 2.87 gebracht worden. Door met een planimeter het oppervlak tusschen deze beide krommen te bepalen, kan men nu een schatting maken van de verbrande hoeveelheid koolhydraat. Immers een oppervlak van 1 cM^2 komt overeen met een toename der KH-verbranding gedurende één uur met 0.5 mgr. KH p. minuut, een oxydatie dus van 30 mgr. glucose.

De planimeter geeft ons voor deze serie een oppervlak van 111.4 cM^2, overeenkomend dus met 3.342 gram glucose. Gemiddeld is 7.44 gram glucose per K° dier ingespoten, waarvan dus *gemiddeld 45 °/₀ verbrand is.*

Serie D. (zie *tabel XVIII* en de gemiddelden in tabel XIX).

Subcutane insuline-inspuiting gevolgd door een onderhuidsche toediening van 16 gram glucose p. K° gedurende 2 uur.

Stijging der CO_2-afgave, O_2-opname en calorie-afgave na de inspuiting, gevolgd door een daling, die na 24 uur vrij ver beneden de beginwaarden is. De KH-verbranding blijft sterk verhoogd en is den dag na de injectie nog steeds grooter dan vóór de inspuiting. De gemiddelde waarden hiervoor zijn, ook weer uitgedrukt in mgr. per min. per K° dier :

3.19 — 7.40 — 6,73 (na 7 $^1/_2$ uur) — 4.37 (na 24 uur).

TABEL XVIII.

SERIE D.

Insul. subcut., gevolgd door een subcut. insp. v. 16 gr. gluc. p. K° ged. 2 uur

N°		Resp. quot.	Kleine calorieën per minuut	p. K°	mgr. KH p. min.	mgr. vet p. min.	ccm CO2 p. min.	ccm O2 p. min.	Mate van rust	Gewicht in K°
XXXIII	a.	0.804	97	44	7.60	6.83	16.0	19.9	2	2.22
	b.	0.923	69	31	12.20	1.85	17.4	18.9	3	
(3 u. 30')	c.	0.913	93	42	15.60	2.84	17.0	18.6	2	
	d.	0.824	96	43	9.10	6.00	16.1	19.5	3	
XXXIV	a.	0.847	80	37	9.20	4.30	13.8	16.6	2	2.15
	b.	0.960	90	42	18.60	1.25	17.2	17.9	4	
(4 u.)	c^1.	0.903	94	44	15.10	3.20	17.1	18.9	5	
(9 u.)	c^2.	0.961	78	36	16.20	1.06	15.0	15.6	4	
(12 u.30')	c^3.	0.996	70	33	16.50	0.84	13.9	14.0	3	
	d.	0.890	94	44	14.00	3.64	16.9	19.0	4	
XXXV	a.	0.829	91	45	9.05	5.55	15.5	18.4	3	2.03
	b.	0.874	107	53	14.70	4.80	19.0	21.8	4	
(7 u. 30')	c^1.	0.934	88	43	16.30	2.02	16.4	17.6	4	
(16 u.)	c^2.	0.809	67	33	5.46	4.56	11.1	13.7	5	
	d.	0.826	60	30	5.79	3.71	10.1	12.2	5	
XXXVI	a.	0.786	84	40	5.20	6.45	13.6	17.3	3	2.08
	b.	0.900	97	47	15.40	3.40	17.7	19.6	4	
(4 u.)	c.	0.950	77	37	15.30	1.35	14.6	15.4	4	
XXXVIII	a.	0.768	99	48	4.67	8.31	15.8	20.6	$2^1/_2$	2.07
	b.	0.894	100	48	15.20	3.67	17.9	20.0	$3^1/_2$	
(4 u.)	c.	0.886	80	39	11.70	3.23	14.4	16.1	$2^1/_2$	
	d.	0.839	72	35	7.76	4.14	12.3	14.7	$3^1/_2$	
XXXIX	a.	0.779	75	38	4.26	5.99	12.1	15.5	5	1.97
	b.	0.911	100	51	16.60	3.10	18.2	20.0	4	
(4 u. 15')	c^1.	0.949	80	40	15.80	1.45	15.1	15.9	2	
(10 u.)	c^2.	0.980	58	29	12.76	0.40	11.2	11.5	3	
	d.	0.913	53	27	9.01	1.63	9.8	10.7	3	

De curve der vet-verbranding daalt sterk en is na 24 uur nog slechts tot ruim de helft der beginwaarde teruggekeerd :

Gemiddelden : 2.98 — 1.44 — 1.00 — 1.83.

Als we op dezelfde wijze als in de vorige serie planimetrisch de verbrande hoeveelheid glucose per K° per 24 uur berekenen, vinden we hier een oppervlak van 187 cM^2, overeenkomende met 5,6 gram glucose. Er is dus gemiddeld van de ingespoten 16 gram *glucose 35°/₀ door oxydatie verdwenen.*

Serie E. (afzonderlijk geval) zie *tabel XIX.*

Subcutane insuline-inspuiting gevolgd door een onderhuidsche glucose-toediening van 24 gram glucose per K° gedurende 2 uur.

CO_2-productie, O_2-consumptie en calorie-afgave stijgen ook hier direct na de inspuiting, blijven echter na 24 uur nog juist even boven de vóór de injectie gevonden cijfers. De KH-verbranding stijgt meer dan 150°/₀ en blijft gedurende 24 uur boven het dubbele der beginwaarde :

4.10 — 10.69 — 8.99 — 9.15.

De vet-verbranding daalt tot bijna 0 en blijft gedurende het geheele experiment op een zeer laag niveau.

De koolhydraat-verbranding, weer planimetrisch berekend, geeft 286.9 cM^2 of *8.6 gram glucose, per K° gedurende 24 uren verbrand, dus bijna 36 °/₀.*

Deze „ Serie " bestaat echter slechts uit één experiment, waarbij bovendien nog te weinig insuline gegeven was om van een evenwicht te mogen spreken. Deze cijfers hebben dus niet de waarde van die der vorige groepen, waarbij telkens gemiddelden genomen zijn van minstens 6 experimenten.

In *fig. 13* hebben we de curven der KH-verbranding van het afzonderlijke geval E en de gemiddelden hiervoor van Serie C en D met die van de contrôle-dieren (Serie F) in één teekening gebracht, waarbij men duidelijk ziet hoe de *koolhydraat-verbranding van langeren duur is, naarmate de ingespoten hoeveelheid glucose-insuline vergroot wordt.*

TABEL XIX.

Gemiddelden van het Metabolisme.

Serie		Resp. quot.	Kl. cal. p. min.	per Kilo	mgr. KH p. min.	per Kilo	mgr vet p. min.	per Kilo	ccm. CO_2 p. m.	per Kilo	ccm. O_2 p. m.	per Kilo	Gewicht in Kilo	Aantal experimenten
A.	a.	0.819	106	43	9.50	3.83	6.94	2.80	17.8	7.19	21.9	8.84	2.48	6 exp.
	b.	0.927	128	52	23.25	9.38	3.15	1.27	23.9	9.65	25.7	11.70		
	c.	0.822	112	45	10.43	4.21	7.12	2.87	18.8	7.59	22.8	9.20		
B.	a.	0.817	106	49	9.97	4.55	6.93	3.16	17.6	8.04	21.6	9.87	2.19	7 exp.
	b.	0.897	110	51	16.66	7.58	3.99	1.82	19.7	9.00	22.1	10.09		
	c.	0.806	99	45	9,22	4.21	6.61	3.02	16.6	7.58	20.3	9.28		
C.	a.	0.792	78	41	5.44	2.87	5.78	3.05	12.7	6.70	16.0	8.47	1.89	9 exp.
	b.	0.893	82	43	13.79	7.27	3.07	1.62	14.8	7.81	16.5	8.71		
(7u.30')	c.	0.858	69	36	8.70	4.59	3.38	1.78	12.0	6.36	14.0	7.40		
	d.	0.748	70	37	2.29	1.21	6.30	3.32	10.9	5.75	14.6	7.69		
D.	a.	0.802	88	42	6.66	3.19	6.24	2.98	14.5	6.95	18.0	8.64	2.09	6 exp.
	b.	0.910	94	45	15.45	7.40	3.01	1.44	17.9	8.57	19.7	9.44		
(7u.30')	c.	0.928	78	38	14.07	6.73	2.09	1.00	14.6	7.00	15.6	7.47		
	d.	0.858	75	36	9.13	4.37	3.82	1.83	13.0	6.22	15.5	7.45		
E.	a.	0.837	69	39	7.25	4.10	3.97	2.24	11.7	6.61	13.9	7.85	1.77	1 exp.
	b.	0.981	85	48	18.90	10.69	0.54	0.30	16.5	9.33	16.8	9.50		
(3u.45')	c.	0.997	68	38	15.90	8.99	0.07	0.04	13.3	7.54	13.4	7.57		
	d.	0.983	72	41	16.20	9.15	0.43	0.24	14.1	7.96	14.3	8.09		
F.	a.	0.801	72	37	5.39	2.79	5.16	2.65	11.9	6.10	14.8	7.60	1.95	3 exp.
	b.	0.782	90	46	5.40	2.77	7.03	3.60	14.5	7.45	18.6	9.55		
(8u.30')	c.	0.753	82	42	2.99	1.51	7.23	3.71	12.8	6.56	17.0	8.72		
	d.	0.727	70	35	1.18	0.59	6.76	3.47	10.5	5.39	14.5	7.44		

KOOLHYDRAAT - VERBRANDING

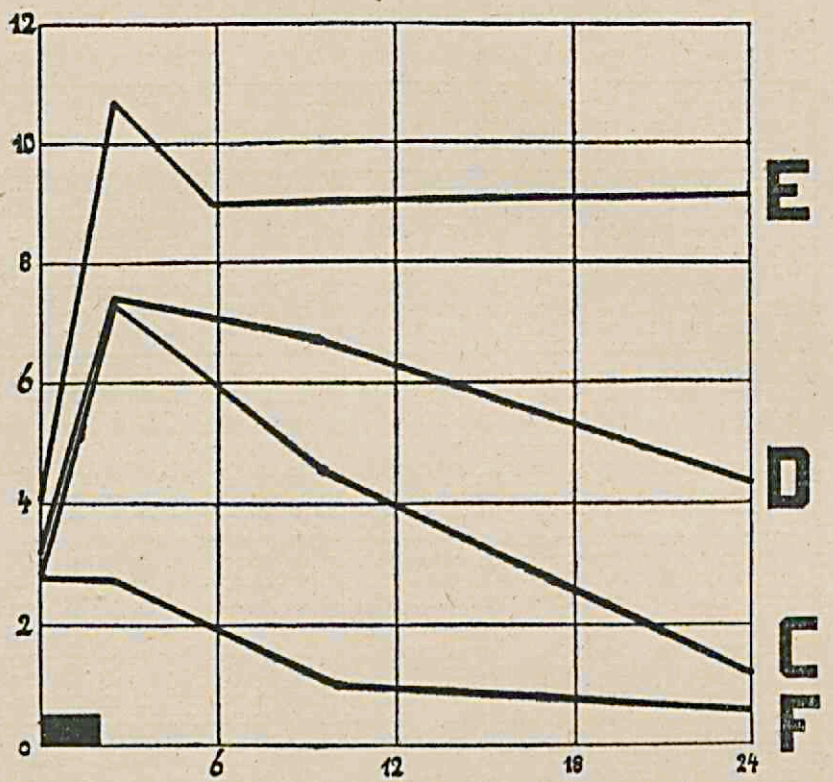


FIG. 13.

C, D en E. Curven der gemiddelde KH-verbranding na subcutane insuline-injectie, gevolgd door een langzame onderhuidsche inspuiting van stijgende doses glucose.

F = KH-verbranding der contrôle-dieren.

Abscis = tijd in uren ; duur der inspuiting door een blokje aangegeven.

Ordinaat = mgr. KH per minuut geoxydeerd.

Alvorens over te gaan tot het maken van gevolgtrekkingen uit de in dit hoofdstuk besproken resultaten, zullen we eerst de uitkomsten bespreken der onderzoekingen, die we deden over de zuurvorming na gecombineerde glucose-insuline toediening. Na vervolgens een overzicht gegeven te hebben van alle verkregen resultaten, zullen we in een laatste hoofdstuk eenige beschouwingen houden over het lot der suiker, die in het lichaam verdwijnt onder den invloed van insuline, daarbij de litteratuur besprekend, die op dit onderwerp betrekking heeft.

HOOFDSTUK III.

ZUURVORMING NA GLUCOSE-INSULINE TOEDIENING

Om te weten te komen of er bij het verdwijnen der glucose in het lichaam onder den invloed van insuline-toediening zure producten ontstaan meenden we ons zoowel een indruk te moeten vormen over eventueele veranderingen in de met de urine uitgescheiden hoeveelheid zuur, als over de alcaliniteit van het bloed. Bij de glucose-afbraak hebben we eerst een anaerobe phase, waarvan het eindpunt melkzuur is, gevolgd door een oxydatieve phase, waarin de eerste producten, die door verbranding van het melkzuur ontstaan, pyrodruivenzuur en glycerinezuur kunnen zijn (70). Wanneer de glucose bij afbraak in het stadium van een dezer zuren zou blijven, zou men geen of weinig toename der O_2-opname kunnen vinden. Bepalen we echter de totale hoeveelheid zuur (en niet alleen bijv. het melkzuur), die met de urine verdwijnt, dan zullen we deze verhoogd moeten vinden en indien er meer zuur in het lichaam zou ontstaan dan de nieren kunnen uitscheiden, bovendien een afname der alcalische reserve van het bloed.

A. Urine-Aciditeit.

Ter bepaling der totale hoeveelheid zuur in de urine hebben we getitreerd met 0.1 N. natronloog met phenolphtaleine als indicator.

Electrotitrimetrie bleek niet praktisch in het gebruik wegens de traagheid der waterstof-electrode. Er werd daarbij gebruik gemaakt van de volgende opstelling :

In een conisch fleschje met 4 openingen, zooals door Bovie beschreven, werden 5 ccm urine gepipetteerd. Één opening werd met een doorboorde gummistop op de buret geschoven,die met een flesch 0.02 N.

NaOH in verbinding stond, aldus ingericht, dat nergens CO_2-houdende lucht in kon doordringen (zooals later beschreven wordt bij de alcalische reserve). In de tweede opening is een waterstof-electrode aangebracht, waardoor constant een stroom electrolytisch bereide waterstof passeert, welke langs de derde opening door een buisje onder water ontsnapt. De vierde opening staat langs een KCl-brug in verbinding met een tweede waterstof-electrode, waarin een vloeistof met bekende pH, in ons geval 7.3 gebracht is. De platina-plaatjes der beide waterstof-electroden zijn met elkaar verbonden door een geisoleerde koperdraad, waarin een Morse-sleutel en een gevoelige galvanometer (we gebruikten een galvanometer van Pye, waarbij één micro-ampère een uitslag van 3,2 schaaldeelen gaf) in serie geschakeld zijn. Wanneer er een verschil in de H-ionen concentratie is tusschen de urine en de vloeistof van bekende pH zal het daardoor ontstane potentiaal-verschil de galvanometer bij sluiten van den keten naar één kant doen uitslaan. Druppelt men nu loog bij, dan zal de uitslag steeds kleiner worden en tenslotte wanneer de pH der urine grooter is geworden dan 7.3, zal de galvanometer naar den anderen kant gaan uitslaan. Zooals gezegd bleek deze methode, die theoretisch ideaal is, practisch niet bruikbaar, omdat het telkens, wanneer er een druppel loog aan de urine toegevoegd wordt, te lang duurt, voordat de H-electrode zich op de nieuwe pH heeft ingesteld. Dergelijke titraties bleken na een half tot één uur nog geen constante resultaten te geven.

Chinhydron-electroden, die sneller zijn, hebben we echter nooit gebruikt.

We hebben daarom de totaal-aciditeit der urine steeds bepaald volgens Folin, zooals aangegeven op bl. 88 van Gradwohl en Blaivas (52) :

25 ccm gefiltreerde urine worden in een Erlemeyer van 250 ccm gedurende één minuut gemengd met 15 gram neutraal, zeer fijn gepoederd kalium-oxalaat („ Merck "), zorg dragende er zoo weinig mogelijk CO_2 uit de lucht door te schudden. Vervolgens worden er aan toegevoegd 100 ccm gedestilleerd water en 10 druppels 1% phenolphtaleine-

oplossing ; is de urine alcalisch dan wordt bovendien nog 10 ccm 0.02 N.HCl er bij gepipetteerd.

Er wordt nu getitreerd met 0.1 N.NaOH tot er een kleuromslag optreedt. Daar deze vaak lastig waar te nemen is, voegt men ter contrôle daarna nog 5 druppels 0.1 N.NaOH toe : de kleur moet dan duidelijk roze geworden zijn.

Het toevoegen van K-oxalaat is noodig om het calcium uit de urine neer te slaan, omdat dit naarmate er meer of minder van aanwezig is, een verschillenden invloed heeft op den uitslag der titratie. Het aanwezige $Ca(H_2PO_4)_2$ kan namelijk tijdens de titratie omgezet worden of in $CaHPO_4$ of in $Ca_3(PO_4)_2$ of in beide, waardoor dus een grooter of kleiner gedeelte van het vrije zuur gebonden wordt en neerslaat. Voegt men echter vóór men begint te titreeren K-oxalaat toe, dan worden alle Ca-ionen als Ca-oxalaat geprecipiteerd.

De urine wordt, zooals op bl. 30 aangegeven, telkens gedurende 24 uur verzameld onder toevoeging van thymol of (beter) thymol-fluornatrium.

In *tabel XX* zijn de verkregen resultaten aldus gerangschikt :
eerste kolom : urine gedurende de laatste 24 uur vóór de inspuiting
tweede kolom : urine gedurende 24 uur na de inspuiting, terwijl in de derde kolom de urine is aangegeven verzameld gedurende de tweede periode van 24 uur op de inspuiting volgend.

Elke kolom is verdeeld in drieën :

a. de hoeveelheid urine uitgedrukt in ccm gedurende 24 uur,

b. het aantal ccm 0.1 N.NaOH, dat vereischt werd om 25 ccm van deze urine ten opzichte van phenolphtaleine te neutraliseeren,

c. het aantal ccm 0.1 N.NaOH noodig om de 24-uurs-hoeveelheid te neutraliseeren, dus $\frac{a}{25} \times b$.

In de gevallen, waarin een negatief teeken voor de cijfers b en c staat was de urine alcalisch ; deze cijfers geven dus aan het aantal ccm 0.1 N.HCl vereischt ter neutralisatie bij terugtitreeren, zooals besproken is. Overigens is deze tabel op dezelfde wijze ingedeeld als de vorige, d.w.z. naar de wijze van glucose-insuline toediening.

TABEL XX.

URINE - ACIDITEIT.

Serie.	No	24 uren vóór de injectie			24 uren na de injectie			2de periode van 24 u. na de injectie.		
		a.	b.	c.	a.	b.	c.	a.	b.	c.
A.	I	335	0.9	12.0	300	1.7	20.4	250	0.7	7.5
	II	230	0.8	7.4	70	0	0	155	0.9	5.4
	III	270	-0.3	-3.3	435	1.2	20.4			
	V	330	0.7	9.2	215	1.8	16.2			
	VI	125	0.8	4.0	150	1.2	7.2	320	0.6	7.7
	VII	225	-0.2	-1.8	310	0.7	8.9			
	VIII	350	1.1	15.4	350	1.1	15.4			
	IX	300	0.7	8.4	150	1.0	6.0			
Gemiddelde :		*271*	*0.56*	*6.41*	*247*	*1.1*	*11.78*			
B.	XI	235	0.2	1.8	77	1.3	4.0	185	0.2^5	1.8
	XIII	275	0.4	4.4	105	1.2	5.0	200	4.3	34.4
	XVIII	130	0	0	185	0.5	4.0			
	XIX	340	0.5	6.8	0			250	2.8	28.0
	XX	240	0.5	5.8	0			160	4.7	30.0
	XXI	220	0.6	5.3	0			250	2.8	28.0
	XXII	320	-0.4	-5.2	0			240	1.1	10.6
	XXIII	160	-1.1	-7.0	60	0.5	1.2	115	8.3	38.3
	XXV	250	-0.6	-6.0	0			185	4.5	33.2
	XXVI	275	0.2	2.2	0			185	2.1	15.5
	XXVII	320	0.7	9.0	60	0.9	2.2	40	5.5	8.8
Gemiddelde :		*251*	*0.1*	*1.55*	*44*	*(0.88)*	*(3.27)*	*181*	*3.41*	*20.66*
C.	XII	300	-0.5	-6.0	25	4.7	4.7	125	3.5	17.5
	XXVIII	210	0.8	6.7	35	1.6	2.2	135	7.1	38.4
	XXIX	215	0.4	3.4	60	0.9	2.2	95	4.3	16.3
	XXXI	230	0.7	6.4	70	-1.1	-3.1	180	6.5	46.8
	XL	160	1.6	10.0	0			130	7.6	39.6
	XLI	385	-0.1	-1.6	20	0.9	0.7	200	6.1	48.8
	XLII	300	-0.4	-4.8	75	-5.0	-15.0	200	1.9	15.2
Gemiddelde :		*257*	*0.36*	*2.03*	*41*	*0.34*	*-1.37*	*152*	*5.3*	*31.8*

a. Hoeveelheid urine in ccm gedurende 24 uur.
b. ccm 0.1 N. NaOH, vereischt om 25 ccm urine te neutraliseeren.
c. „ „ „ „ „ de urine van 24 u. te neutraliseeren.

De verkregen resultaten zijn de volgende (72) :

In *Serie A* (mengsel glucose-insuline intraveneus) zien we geen duidelijke verandering, noch der hoeveelheid, noch der aciditeit der urine. Misschien is er een aanduiding van toename der aciditeit.

In *Serie B* (insuline intraveneus) en in *Serie C* (insuline subcutaan; in beide series gevolgd door een langzame onderhuidsche glucose-toediening van 8 gram per K°) zien we :

1° *Anurie* gedurende 24 uur na de inspuiting, vaak volledig. Daar, waar een hoeveelheid urine gedurende dezen tijd verzameld is, is deze steeds geloosd dadelijk na afloop der inspuiting en was dus waarschijnlijk grootendeels reeds voor de inspuiting in de blaas aanwezig. Gemiddeld is deze hoeveelheid slechts ruim 40 ccm. terwijl de 24 uurs-hoeveelheid voor de inspuiting gemiddeld ruim 250 ccm bedraagt.

In de tweede periode van 24 uur echter is de urine-quantiteit gemiddeld weer ongeveer $^2/_3$ van de beginwaarde.

2° Steeds een duidelijke *toename der urine-aciditeit* in de 2de periode van 24 uur, vergeleken met die voor de inspuiting.

Bij konijn XXVII echter was door te sterke verwarming van het oor wegens lastige bloedafname er een sterk plaatselijk oedeem ontstaan, waardoor er in deze periode slechts 40 ccm urine uitgescheiden werd. Ofschoon de aciditeit per 25 ccm gestegen was van 0.7 tot 5.5 bleef hierdoor de totaal-aciditeit per 24 uur ongeveer gelijk.

Gemiddeld stijgt de totaal-aciditeit per 24 uur in Serie B van $1^1/_2$ tot ruim 20 ; in Serie C van 2 tot bijna 32.

Daar in *Serie D* de meeste dieren stierven voor het einde der anurie, hebben we hier geen aciditeit-bepalingen meer kunnen doen.

De urine der *contrôle-dieren* hebben we niet op zuurgehalte onderzocht, omdat deze wegens de hongerperiode, die zij doormaakten, voor vergelijking niet bruikbaar zijn, daar hierdoor de urine om geheel andere redenen zuur zou kunnen worden.

Een dier echter, dat toevallig niet ingespoten kon worden, maar gedurende eenige dagen met het constante dieet van 150 gr. bieten per K° werd gevoed, vertoonde integendeel een langzaam afnemende aciditeit:

Konijn XI	Hoeveelheid	Acid. p. 25 ccm	Acid. p. 24 uur.
13 Jan.'26	250	0.6	6.0
14 „	200	0.4	3.2
15 „	230	0.2	1.8
16 „	280	0.1	1.1
17 „	235	0.2	1.8

In de monographie van Grevenstuk en Laqueur (l.c.) wordt op bl. 106 aangegeven, dat ook MacLeod en Allan bij bepaling der titreerbare urine-aciditeit bij normale, hoofdzakelijk met koolhydraten gevoede honden een aanduiding zagen, dat na inspuiting van insuline zure stoffen vrijkomen.

Ofschoon wij nauwkeurig aan kunnen geven hoeveel zuur er in elk experiment met de urine is uitgescheiden, is het niet mogelijk een berekening te maken met hoeveel glucose dit overeenkomt, omdat de ontstane zuren niet bekend zijn. Maar zelfs wanneer we hiervoor de maximale hoeveelheid glucose berekenen, m.a.w. aannemen, dat er uit elk glucose-molecule slechts één zuur-molecule ontstaat, komen we nog tot een hoeveelheid glucose, die in vergelijking met de ingespoten quantiteit van weinig beteekenis is.

Het moleculair-gewicht van glucose is 180 ; 0.1 normaal-oplossing bevat dus 18 gram per liter of 18 mgr. per ccm. Wanneer er dus slechts één $H^{\cdot}$ per molecule glucose ontstaat, komt 1 ccm 0.1 N. zuur in de urine overeen met 18 mgr. glucose. De gemiddelde toename der 24 uurs aciditeit met $\pm$ 25 ccm 0.1 N.zuur komt dus overeen met minder dan een halve gram glucose. Daar er echter waarschijnlijk 2 $H^{\cdot}$ per mol. glucose gevormd worden (melkzuur, pyrodruivenzuur, glycerinezuur) mogen we deze hoeveelheid vermoedelijk nog door 2 deelen.

Het zou, zooals gezegd, echter mogelijk zijn, dat er meer zuur ontstond, dan door de nieren zou kunnen worden verwerkt. We hebben daarom ook bepalingen gedaan der alcalische reserve van het bloed, daar deze wel op de eerste plaats den invloed hiervan zou moeten ondervinden.

B. Alcalische reserve van het bloed.

Daar de gebruikte micromethode,die door Bouckaert in het Physiologisch Instituut te Leuven is uitgewerkt, nog slechts in een voorloopige mededeeling aan de Société de Biologie gepubliceerd is (73), zal ik de techniek hier wat meer uitvoerig beschrijven, voorafgegaan door de critiek, die hij daarin geeft, op vroegere methoden :

« Les méthodes chimiques qui permettent de titrer les carbonates ou les bicarbonates sont de deux types :

1° Mesure du volume de CO_2 dégagé quand les carbonates sont décomposés par des acides.

2° Titrage du carbonate ou du bicarbonate comme base, soit par titrage direct en présence de méthyl-orange ou par titrage de retour. La première méthode est à la base de la méthode volumétrique de Van Slyke. Elle exige pour avoir un certain degré de précision plusieurs centimètres cubes de sérum et ne peut donc s'employer dans notre cas. La seconde méthode a donné naissance aux travaux de Van Slyke, Stillman et Cullen et plus récemment de Vincent. Au cours de notre travail il nous a paru que certaines causes d'erreur étaient inhérentes à la façon de procéder, décrite par ces auteurs.....en effet, il est illogique d'employer comme Van Slyke et Vincent, des solutions de soude N/100 ou même N/250 en présence du CO_2 de l'air. »

Er is daarom steeds gewerkt in een CO_2-vrij milieu.

Als indicator gebruikte hij óf een waterstof-electrode óf een kleurstof, die bij de gewenschte pH een kleuromslag vertoont. Bij het gebruik van waterstof-electroden moest hij het serum te voren dialyseeren door collodium gedurende één uur, omdat het schuim, dat anders bij het doorborrelen der waterstof ontstaat, het apparaat verstopt, terwijl het gebruik van amyl- of butylalcohol (om dit te voorkomen), de electroden vergiftigt.

Ik heb daarom steeds gebruik gemaakt van de tweede en eenvoudiger methode, die hij aangeeft, namelijk titreeren met phenolrood als indicator. In *fig. 14* is de hiervoor benoodigde opstelling schematisch weergegeven. De titratie geschiedt in het buisje C, waardoor men

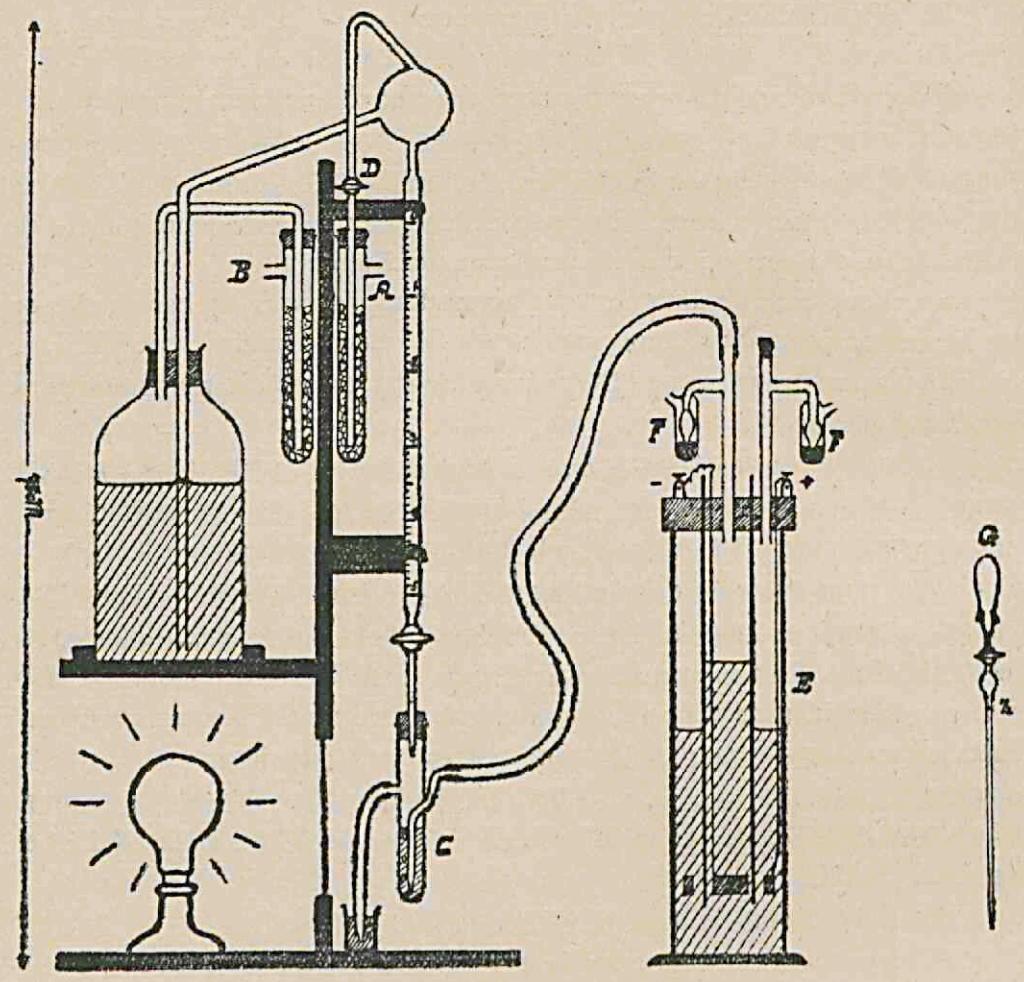


FIG. 14.

Schema der benoodigde opstelling ter bepaling der alcalische reserve van het bloed volgens Bouckaert,

Verklaring zie tekst.

constant een stroom CO_2-vrije lucht kan laten borrelen. Te dien einde zijn in den wand 2 glazen buisjes gesmolten. Het eene, dat bovenin is aangebracht, dient om de lucht met een waterstraal-luchtpompje weg te kunnen zuigen ; het andere reikt tot op den bodem en is in een fijne punt uitgetrokken. Hierdoor wordt lucht binnengezogen, die een reeks

U-buizen met natronkalk en een paar waschflesschen gepasseerd is en dus CO_2-vrij is.Daar het echter lastig is alle gummi-verbindingen geheel luchtdicht te maken, heb ik de CO_2-vrije lucht na eenigen tijd vervangen door een electrolytisch bereiden waterstof-stroom, zooals in de teekening is aangegeven. Het afvoerbuisje moet dan onder water uitkomen.

Getitreerd wordt met 0.01 N.$Ba(OH)_2$, omdat carbonaat hierin volledig wordt neergeslagen en dus niet in de buret kan komen. Om de buret (5 ccm inhoud) te vullen opent men kraan D en zuigt aan een gummislang, die op de opening A bevestigd is. Er wordt aldus vloeistof in het glazen bolletje boven de buret gebracht, welke vandaar in de buret loopt. De lucht, die de flesch binnenkomt om de verdwenen hoeveelheid vloeistof te vervangen, is bij B een U-buis met natronkalk gepasseerd en dus CO_2-vrij.

Laat men de buret leegloopen, waarvoor kraan D open moet staan, dan komt bij A de lucht eveneens door een U-buis met natronkalk binnen. Alvorens tot de titratie over te gaan wordt de buret aldus eenige malen geledigd en gevuld. Wanneer de inhoud der flesch geheel verbruikt is, kan men deze zonder eenige verbinding los te maken (die alle met caoutchouc-mastiek hermetisch sluitend gemaakt zijn) weer opnieuw vullen door de punt der buret in de nieuwe oplossing te brengen, kraan D te sluiten en nu met een waterstraal-luchtpomp bij B te zuigen.

Als achtergrond voor het buisje, waarin getitreerd wordt, dient een melkglas, dat verlicht wordt door een 100-kaars zoogenaamde „ Zonlichtlamp ", die in een kastje onder de flesch is aangebracht.
De waterstof wordt geleverd door door een 15% NaOH-oplossing met twee nikkelen electroden een gelijkstroom van 220 Volt spanning en 1 à 4 ampère te leiden. Een zeer practisch apparaat, in het Leuvensche laboratorium gemaakt naar een model van Baird en Tatlock, is hiervoor gebruikt. Hierbij is zoowel op de afvoerbuis voor waterstof als voor zuurstof een kwik-veiligheidsklep geplaatst, waarlangs het gas, wanneer het onder te hoogen druk komt, kan ontsnappen. Aldus kan

nooit een der electroden boven de vloeistof uitkomen, waardoor het gevaar van het overslaan van vonken vermeden wordt.

De bepaling gaat nu als volgt :

1 à 2 ccm bloed wordt onder parraffinum liquidum (om een zuivere en neutrale paraffine te bezigen werd „ Nujol " gebruikt) in een klein centrifuge-buisje opgevangen en na stollen krachtig gecentrifugeerd. Van het aldus verkregen serum wordt 0,5 ccm in het beschreven titratie-buisje overgebracht.

Hiervoor werd gebruik gemaakt van een nauwkeurig geijkte pipet (G), die van boven voorzien was van een kraantje en een gummi dopje (van een vulpenhouder-spuitje). Door dit gummi dopje samen te drukken, het kraantje te sluiten en vervolgens de punt der pipet boven het bloedstolsel in het centrifuge-buisje te brengen, kan men door langzaam de kraan weer te openen nauwkeurig de verlangde hoeveelheid serum opzuigen, zonder gevaar veel roode bloedcellen mee te nemen, die later na haemolyse zouden storen.

Aan deze 0,5 ccm serum voegen we toe 2 ccm 0.01 N.HCl, waardoor de reactie steeds zuur wordt, 12 druppels phenolrood-oplossing als indicator (*) en 10 druppels zuivere en neutrale amyl- of butylalcohol om het schuimen te voorkomen.

Ter vergelijking der kleur worden twee glazen buisjes van dezelfde wijdte als C gebruikt, waarin 12 druppels phenolrood zijn toegevoegd aan 5 ccm vloeistof met een pH van resp. 7.2 en 7.4, bereid volgens Clark (74). Deze buisjes, die rood van kleur zijn, het eerste iets meer naar den gelen kant, worden ter weerszijden van het titratie-buisje C, dat bij het begin der titratie heldergeel is, opgesteld en tegen het verlichte melkglas, dus bij doorvallend licht, bekeken.

Men laat nu gedurende eenige minuten waterstof doorborrelen met zoodanige snelheid, dat het laagje amylalcohol, dat bovenop drijft,

---

(*) Bereiding phenolrood-oplossing :

60 mgr. phenolrood (Kahlbaum, worden in een mortier afgewreven met 10 ccm 0.1 N.NaOH en na toevoegen van 90 ccm aqua dest. gefiltreerd. Vervolgens bij het filtraat 0.1 N.HCl gedruppeld tot er een kleuromslag naar geel optreedt.

juist niet met de vloeistof vermengd wordt om troebeling te voorkomen. Uit de buret laat men nu langzaam 0.01 N.$Ba(OH)_2$ bijdruppelen, totdat de vloeistof een kleur heeft aangenomen, die het midden houdt tusschen die van de beide vergelijkingsbuisjes. Ter contrôle voegt men dan nog drie druppels toe, waardoor de kleur duidelijk rooder moet worden dan die van pH 7.4. Ter vergemakkelijking der beoordeeling der kleur onderbreekt men telkens even den waterstof-stroom, die dan langs de klep F kan ontsnappen.

We titreeren dus tot een pH van $\pm$ 7.3, welke ongeveer de normale waterstof-ionen concentratie van het bloed is.

Hadden we hierover bijv. 0.75 ccm 0.01 N.$Ba(OH)_2$ noodig, dan is, omdat we teruggetitreerd hebben na toevoeging van 2 ccm 0.01 N.HCl, de alcalische reserve van 0,5 ccm bloed $= 2 - 0.75 = 1.25$, dus van één ccm 2.50.

Er was *geen invloed der glucose-insuline toediening op de alcalische reserve* van het bloed in een bepaalde richting waar te nemen.

Vaak bleef de alcalische reserve ongeveer constant, soms zagen we een verhooging, soms een verlaging zonder dat er een oorzaak te vinden was. Het dieet, dat zooals o. a. door Pénau en Simonet is aangetoond een duidelijken invloed op de alcalische reserve heeft (54), was in onze experimenten steeds gelijk.

Als gemiddelde cijfers vinden we voor *Serie A* (glucose-insuline mengsel intraveneus) :

1.58 vóór, 1.73 nà de insp., 1.63 $\pm$ 3 uur later en 1.99 na 24 uur.

In *Serie B* (ins. intrav.; gluc. subcut.) vinden we als gemiddelden van 13 exp. : 1.75 vóór, 1.68 ongeveer 3 uur nà het einde der inspuiting, terwijl na 24 uur gemiddeld 1.74 gevonden wordt.

In *Serie C* hebben we te weinig bepalingen gedaan om gemiddelde cijfers te geven, ook hier echter zien we geen verschuiving in een bepaalde richting. Hierna is wegens de negatieve resultaten het onderzoek in deze richting afgebroken.

Zonder uit deze cijfers verstrekkende conclusies te willen maken, meen ik toch te mogen besluiten, dat er in het lichaam na glucose-

afbraak door insuline niet een zoo groote hoeveelheid zuren vrijkomt, dat de alcalische reserve van het bloed daardoor duidelijk naar beneden gedrukt wordt. De zuren, aldus ontstaan kunnen dus geheel langs de nieren worden uitgescheiden en correspondeeren, zooals aangetoond is uit de toename der urine-aciditeit, slechts met een zéér klein percentage der ingespoten hoeveelheid glucose.

HOOFDSTUK IV.

SAMENVATTING DER VERKREGEN RESULTATEN

Uitgaande van de methode van Bouckaert en Stricker zijn wij erin geslaagd zéér groote hoeveelheden glucose en insuline bij konijnen in te spuiten, die elkaar zoodanig in evenwicht hielden, dat de bloedsuiker binnen normale grenzen bleef.

Bouckaert en Stricker hadden hiervoor een mengsel glucose en insuline gedurende 2 uur met constant debiet subcutaan ingespoten en kregen óf terstond een daling der bloedsuiker met crisis na ongeveer 6 uur óf bij vermindering der hoeveelheid insuline in dit mengsel een lichte stijging der bloedsuiker, die na ± 10 uur weer normaal geworden was. Er is ons echter gebleken, dat *hierna* de bloedsuiker verder blijft dalen, waardoor het dier na meer dan 24 uur in krampen kan sterven. In hun experimenten mocht men dus niet van een werkelijk glucose-insuline evenwicht spreken.

We hebben daarom, na een aantal mislukte pogingen om tot een evenwicht te komen door een glucose-insuline mengsel intraveus in te spuiten, het maximum der insuline-werking vervroegd ten opzichte van het maximum der glucose-werking door de geheele dosis insuline ineens subcutaan of intraveneus te geven, gevolgd door een langzame onderhuidsche glucose-inspuiting met constant debiet.

Een der eerste dingen, die daarbij opviel, was het groote verschil tusschen de hoeveelheden insuline,die bij intraveneuse en die bij subcutane inspuiting noodig waren om dezelfde hoeveelheid glucose te compenseeren (zie fig. 9). We meenden, dat dit verschil misschien te verklaren zou zijn door het verdwijnen van een grootere hoeveelheid insuline met de urine na intraveneuse dan na onderhuidsche toediening.

Aan den anderen kant echter gaf de intraveneuse inspuiting een beter evenwicht, d.w.z. de bloedsuikerwaarden bleven binnen engere grenzen : de beste methode om een glucose-insuline evenwicht te bereiken bleek intraveneuse inspuiting der geheele hoeveelheid insuline ineens, onmiddellijk gevolgd door een subcutane injectie van 8 gram glucose per kilo met constant debiet gedurende ongeveer anderhalf uur.

De subcutane methode bleek echter gevoeliger, d.w.z. kleine verschillen in de toegediende dosis insuline hadden hier een duidelijker invloed op het verloop der 24-uurs bloedsuiker-kromme. Deze methode is daarom toegepast ter bestudeering van het glucose-insuline evenwicht bij vergrooting der doses : inspuiting dus der geheele hoeveelheid insuline ineens subcutaan, onmiddellijk gevolgd door een onderhuidsche toediening van 8, 16 of 24 gram glucose per kilo met constant debiet gedurende 2 uur.

De verkregen evenwichten, d.w.z. de glucose in grammen gedeeld door de insuline in eenheden, waren voor verschillende insuline-monsters :

Insuline	ins. intraven.	ins. subcut., gluc. 8 gr. p. k°	ins. subcut., gluc. 16 gr. p. k°	ins. subcut., gluc. 24 gr. p. k°
AB	1.10	1.50		
IN[1]	0.65	1.15		
IN[2]		1.40	1.15	< 1.30

We zien dus een afname van het glucose-insuline aequivalent van ruim 20% als de toegediende hoeveelheid glucose verdubbeld wordt, er is dus in evenredigheid meer insuline noodig, zooals ook door Allan bij twee gedepancreatiseerde honden gevonden is. Het getal bij verdrievoudiging der hoeveelheid is véél te hoog genomen en zal waarschijnlijk onder de 1.15 liggen. Hier is echter slechts één experiment gedaan, omdat bij het inspuiten van dergelijke enorme hoeveelheden hypertonische glucose-oplossing het dier sterft, o.a. door indikken van het bloed.

Tenslotte meenen we aannemelijk te hebben gemaakt, dat de bepaling van het glucose-aequivalent van een onbekend insuline-preparaat zeer bruikbaar zou zijn om de sterkte hiervan te weten te komen, temeer daar individueele verschillen tusschen de proefkonijnen grootendeels wegvallen. Een geschikte dosis glucose hiervoor zou zijn 8 gram per kilo in 20%-oplossing gedurende 2 uur steriel en met constant debiet subcutaan ingespoten en voorafgegaan door een onderhuidsche insuline-injectie.

In het tweede hoofdstuk bespraken we de resultaten verkregen met de gasanalytische methode van Noyons bij de verschillende methoden van glucose-insuline toediening.

We toonden aan, dat het respiratie-quotient steeds belangrijk stijgt, gemiddeld ongeveer 0.1 en langer verhoogd blijft naarmate de toegediende hoeveelheid glucose-insuline grooter is. Bij de contrôle-dieren daalde het R.Q. steeds langzaam, maar regelmatig tot gemiddeld 0.727 na 24 uur.

De CO_2-productie, O_2-opname en calorie-afgave stegen na de inspuiting en waren gewoonlijk na 24 uur onder de uitgangswaarde gedaald.

Wat betreft de koolhydraat- en vetverbranding, berekend uit het O_2-verbruik en het R.Q. volgens de tabel door Zuntz en Loewy aangegeven, merkten we het volgende op :

In Serie A, waarbij een mengsel gluc.-ins. intraven. is toegediend gedurende 2 uur, is de bloedsuiker 2 uur na het einde der inspuiting weer normaal. De gaswisseling is daarbij bepaald één uur nà het einde der inspuiting, dus ongeveer op het hoogtepunt der insuline-werking. De hoeveelheid koolhydraten, die dan gemiddeld per minuut verbrand wordt, berekend over de 4 uur, waarin alle glucose verdwenen is, geeft dus het maximum der hoeveelheid glucose, die in dien tijd verbrand kan zijn. Als we de ingespoten hoeveelheid glucose verminderden met wat daarvan in de urine verscheen, toonden we aldus aan, dat van de verdwenen hoeveelheid glucose gemiddeld hoogstens 70%, waarschijnlijk veel minder, volledig verbrand werd.

Ook in de andere series (glucose subcutaan) vonden we een belangrijke stijging der KH-verbranding na glucose-insuline toediening en wel van langeren duur, naarmate er meer glucose-insuline gegeven werd.

Door het oppervlak der curven van de KH-verbranding met een planimeter te berekenen, konden we aantoonen, dat bij inspuiting onder de huid van 8 gram glucose per kilo, voorafgegaan door een subcutane insuline-injectie bijna de helft der ingespoten glucose gedurende de volgende 24 uur geoxydeerd werd, terwijl bij verdubbeling en verdrievoudiging dezer hoeveelheid er in denzelfden tijd slechts ruim $^1/_3$ volledig verbrand werd.

Ter vergelijking dienden eenige contrôle-dieren, waarbij de KH-verbranding gedurende dezelfde periode langzaam en regelmatig daalde.

De vet-verbranding bleek na glucose-insuline toediening belangrijk te dalen, soms tot dicht bij 0. Ook hier was deze daling van langeren duur naarmate er meer glucose-insuline gegeven werd, terwijl de vet-verbranding der contrôle-dieren ongeveer constant blijft of iets stijgt.

En tenslotte bewezen we in het derde hoofdstuk, dat er uit glucose onder insuline-werking zure afbraak-producten ontstaan. We zagen namelijk, wanneer een intraveneuse of subcutane insuline-inspuiting gevolgd werd door een langzame onderhuidsche glucose-injectie, na een periode van anurie, die ongeveer 24 uur duurde, steeds een duidelijke toename der urine-aciditeit, bepaald volgens Folin.

De alcalische reserve, bepaald volgens Bouckaert, vertoonde geen constante afwijking in een bepaalde richting, waaruit we de gevolgtrekking maakten, dat de onstane hoeveelheid zuren zonder bezwaar langs de nieren kon worden afgevoerd.

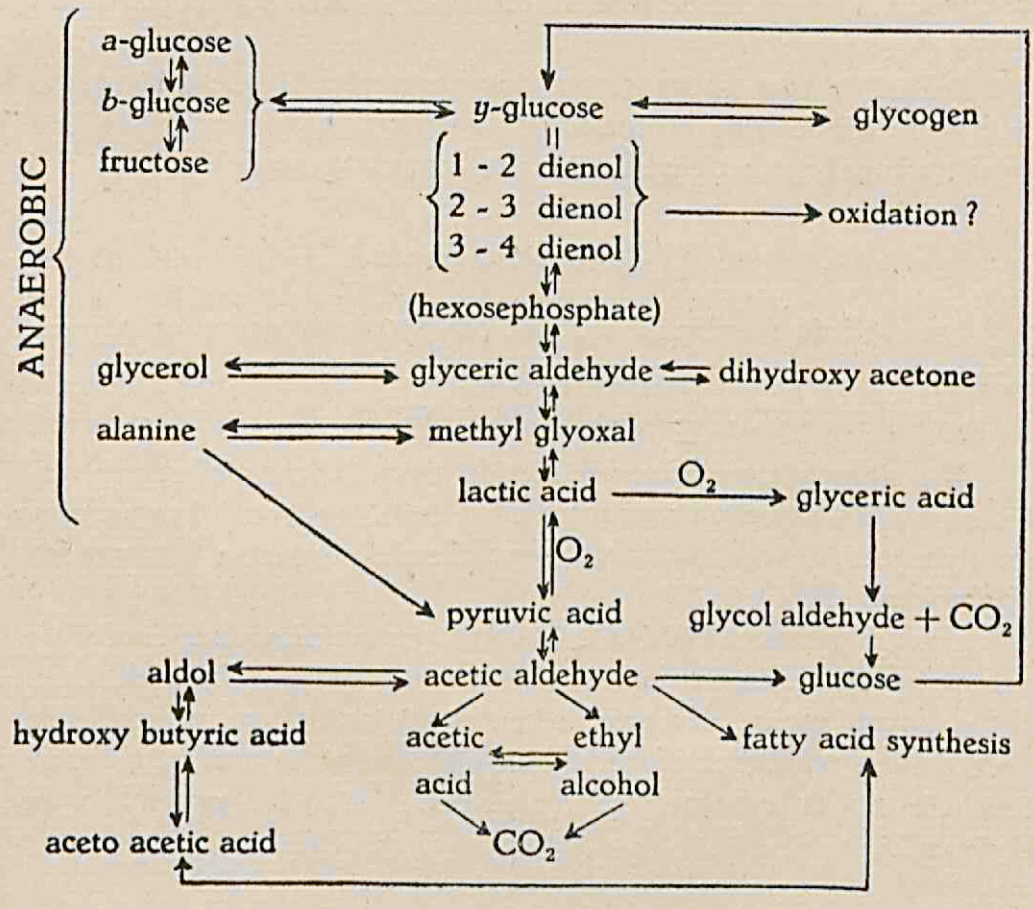
Door berekening der hoeveelheid glucose, die maximaal met deze hoeveelheid zuur kon correspondeeren, bleek, dat deze zuurvorming slechts in een onbeduidend percentage verantwoordelijk gesteld kon worden voor de verdwijning der glucose onder den invloed van insuline.

Een discussie der verkregen resultaten zal in het volgende hoofdstuk gegeven worden.

HOOFDSTUK V.

EENIGE BESCHOUWINGEN OVER HET LOT DER VERDWENEN SUIKER ONDER DEN INVLOED VAN INSULINE

Als uitgangspunt voor een discussie over dit onderwerp meen ik het best te doen als overzicht over de veranderingen, die glucose in het lichaam kan ondergaan, een der nieuwere schema's hierover te reproduceeren, zooals dat van Shaffer (70) :



Dit schema is zeer bruikbaar voor onze besprekingen, met de noodige reserve, zooals Shaffer zelf opmerkt :

« Some of the reactions indicated are more or less hypothetical and the diagram is intended only as an aid in orienting ourselves in the maze of evidence which requires consideration. »

De belangrijkste mogelijkheden, die door het groote aantal onderzoekers, dat het lot der verdwenen glucose onder den invloed van insuline bestudeerde, in het oog gevat zijn, zijn de volgende :

I. Anaerobe phase.

1° verandering der glucose in een niet reduceerend koolhydraat, zooals glycogeen ;

2° binding met phosphorzuur tot hexosephosphaat : „ lactacidogeen " van Emden of „ precursor " van Hill ;

3° afbraak tot het eindstadium : melkzuur.

II. Oxydatieve phase.

1° onvolledige verbranding, b. v. tot pyrodruivenzuur of glycerinezuur ;

2° volledige oxydatie tot koolzuur en water.

Hierbij mogen we natuurlijk niet de mogelijkheid uit het oog verliezen, dat een gedeelte der glucose bijv. gepolymeriseerd kan worden tot glycogeen, terwijl de rest tot verschillende producten kan worden afgebroken.

Zonder slechts eenigszins te trachten een volledig litteratuur-overzicht te geven, zullen we de verschillende mogelijkheden bespreken aan de hand van eenige der meer recente publicaties van verschillende onderzoekers op dit gebied, terwijl we uit onze eigen resultaten eenige conclusies hopen te kunnen trekken ter opheldering der punten I, 3° en II, 1° en 2°.

I. 1°. Wordt glucose onder den invloed van insuline omgezet in glycogeen ?

Ofschoon verschillende auteurs o.a. Dudley (76) geen verandering van het glycogeen na insuline-injectie gevonden hebben, terwijl sommigen zelfs een vermindering vonden, zooals Brenckmann en Feuerbach (77) bij doorstrooming van levers, hebben recente onderzoekingen van Bissinger en Lesser (78) en Best, Hoet en Marks (79) op overtuigende wijze aangetoond, dat het verdwijnen der glucose steeds gepaard gaat met het toenemen van het glycogeengehalte der spieren.

De negatieve resultaten van vroegere onderzoekers zijn te verklaren :

a. omdat vaak bepalingen gedaan zijn, nadat het glycogeen in de spieren door krampen tijdens insuline-crisis was uitgeput ;

b. omdat glycogeen-bepalingen van enkele spieren geen waarde hebben : verschillende spieren bij hetzelfde dier en gelijke spieren bij verschillende dieren kunnen enorme verschillen vertoonen. Men moet daarom

óf zooals Bissinger en Lesser deden bij muizen het geheele dier na bevriezen fijn snijden en analyseeren

óf zooals Best en Hoet glycogeen-bepalingen doen van symmetrische spieren voor en na insuline-inspuiting, omdat deze, zooals uit contrôle-experimenten bleek, slechts zeer geringe verschillen vertoonen. Zij vonden, dat, wanneer er een overmaat suiker ter beschikking is, een groot deel, n.l. 40 à 60% van de suiker, die uit het bloed van een spinale kat verdwijnt, als glycogeen in de skeletspieren van het dier wordt afgezet. Insuline-hypoglycaemie, durende van één tot drie uren, vermindert niet aantoonbaar het glycogeen-gehalte der spieren van deze preparaten, terwijl het verminderen, resp. verdwijnen van het spier-glycogeen van normale konijnen, veroorzaakt door groote doses insuline, voornamelijk geweten moet worden aan de convulsies.

Bissinger en Lesser hadden reeds in 1923 in een voorloopige publicatie, in samenwerking met Zipf (80) de hoeveelheid suiker, die in glycogeen omgezet werd, geschat op $^1/_3$ van de verdwenen quantiteit.

Uit bovengenoemde onderzoekingen mogen we de gevolgtrekking maken, dat een groot deel der verdwenen glucose als glycogeen wordt vastgelegd.

I. 2°. Wordt er glucose aan phosphorzuur gebonden vastgelegd ?

Harrop en Benedict (81) meenden, dat de phosphorzure esters, die door von Emden als tusschenproducten bij suikerafbraak beschouwd en „ lactacidogeen " genoemd werden, uit glucose door insuline-werking konden ontstaan, omdat onder insuline-werking de anorganische phosphor in het bloed vermindert.

Audova en Wagner(82)zagen bij bepalingen van lactacidogeen in symmetrische spieren voor en na insuline-inspuiting meestal een belangrijke toename en wel gemiddeld van 30 mgr. per 100 gram spier, overeenkomend met meer glucose dan het bloed in 100 gram spier aanwezig normaal bevat. Ofschoon verschillende auteurs (83, 84) dit bevestigden, kwamen Eadie, Mac Leod en Noble (85) tot het tegenovergestelde resultaat :

« The « lactacidogen » in frozen muscle extracts is, if anything, decreased after the action of insulin and this is more marked if convulsions and marked hypoglycemia be prevented by the simultaneous injection of glucose. »

Best en Hoet (l.c.) eveneens toonden in een zorgvuldige serie experimenten met contrôle-proeven aan, dat geen hoeveelheid van eenige beteekenis als een phosphorzure ester wordt vastgelegd. Het verdwijnen van anorganisch phosphaat uit het bloed der geeviscereerde spinale kat, dat ook zij vonden na insuline-toediening is, ofschoon niet veroorzaakt door het dalen der bloedsuiker, afhankelijk van het verdwijnen van glucose. Waarschijnlijk worden er daarom volgens hen wel phosphorzure esters gevormd, doch slechts als tusschenproduct „ on the way to the true storage form ".

I. 3° en II. 1°. Ontstaan er zuren uit glucose onder insuline-werking : òf melkzuur als eindproduct der anaerobe phase, òf pyrodruivenzuur of glycerinezuur als eerste oxydatieproducten hiervan ?

Briggs c.s. (86) vond het melkzuur in het bloed vermeerderd, wanneer de bloedsuiker onder den invloed van insuline daalde. Isaac en Adler (87) bevestigden dit bij diabetes-patienten.

Collazo c.s. (88) vindt het melkzuur-gehalte der spieren van caviae na insuline niet merkbaar veranderd,in spierbrei in vitro echter vindt hij wel een verhooging.

F. Laquer vond in het laboratorium van Laqueur (50) bij fijngemaakte, in neutrale phosphaat-oplossing gesuspendeerde spierbrei na een verblijf van 4 uur bij 37°, zoowel bij spieren van caviae als van kikvorschen, eveneens een vermeerdering der melkzuur-vorming na insuline-toevoeging.

Toennissen (89), die meent, dat de insuline-werking uitsluitend in de oxydatieve phase gezocht moet worden, kan niet de oxydatie van CH_3-CHOH-COOH(melkzuur) tot CH_3-CO-COOH(pyrodruivenzuur) aantoonen. Hij voegde te dien einde insuline toe aan mengsels van pancreas-, spier- en leverbrei en bepaalde tevoren en erna met een gevoelige methode het gehalte aan pyrodruivenzuur.

Mazocco en Morera (90) zagen afname der alcalische reserve ongeveer $1^1/_2$ uur na intraveneuse insuline-injectie en daarna weer stijging min of meer evenredig met de hypoglycaemie.

Onze experimenten, waarbij urine-aciditeit en alcalische reserve van het bloed bepaald werden, zouden een vorming van één of meerdere dezer zuren moeten kunnen aantoonen. Inderdaad vonden we steeds een toename der urine-aciditeit, die, daar de alcalische reserve van het bloed niet merkbaar daalde, in onze experimenten bij berekening bleek slechts met een zeer klein percentage der verdwenen hoeveelheid glucose overeen te komen.

II. 2° Wordt na insuline-toediening glucose volledig geoxydeerd?

Het zeer groote aantal onderzoekers, die dit vraagstuk uit de veranderingen der energie-wisseling bestudeerden, zijn tot zeer verschillende resultaten gekomen. Laat ik er slechts enkelen noemen :

Dudley c.s. (l.c.) meent uit CO_2- en O_2- bepalingen bij muizen en caviae af te moeten leiden, dat insuline de glucose niet doet verdwijnen door verhooging der koolhydraat-verbranding.

Bornstein (91) betoogt, dat uit een verhooging van het R. Q. nog niet volgt, dat de KH-verbranding gestegen is. Immers door verandering der longventilatie kan gedurende eenigen tijd in verhouding meer CO_2 worden uitgeademd, waardoor het R. Q. natuurlijk eveneens stijgt. Bij gelijkblijvende adem-mechaniek (92) vindt hij geen verhooging van het respiratie-quotient na insuline-toediening.

Krogh (93) aan den anderen kant besluit uit zijn experimenten op gecurariseerde konijnen, dat er een relatieve vermeerdering der KH-verbranding op insuline-inspuiting volgt.

Dusser de Barenne en Burger (94) vinden bij gedecerebreerde katten na insuline-inspuiting een verhooging van het resp. quot., soms tot boven 1, die zij verklaren door verhoogde verbranding en bovendien vetvorming uit koolhydraten.

Sacaze (68) vond steeds een verhooging van het respiratie-quotient en besluit daaruit tot een verhoogde KH-oxydatie.

Dat de verschillende onderzoekers tot zoo afwijkende conclusies komen, is ook afgezien van het groote aantal onderzoekingen, die met te onnauwkeurige methoden of op een te klein materiaal gebeurd zijn, gemakkelijk te begrijpen om de volgende redenen : Wanneer men de werking van insuline bestudeert zonder daarbij glucose toe te dienen mag men verwachten, dat de stijging der koolhydraat-verbranding, zoo aantoonbaar, gering en van korten duur zal zijn. De totale quantiteit glucose in het bloed ligt bij een konijn tusschen 100 en 200 mgr., terwijl ook de reserve-koolhydraten spoedig opgebruikt zullen zijn.

Laufberger (95) berekent dat een konijn van 2 K° bij normale KH-verbranding zijn lever-glycogeen (= ± 2,5 gram) in ongeveer 2 uur kan verbranden, terwijl voor de oxydatie van alle glucose in het bloed aanwezig slechts enkele minuten noodig zijn. Het glycogeen in de spieren kunnen we als reserve buiten beschouwing laten, omdat dit, zooals we zagen, juist toeneemt, tenzij er krampen optreden.

De stijging van het R. Q. na insuline alleen, die vrijwel iedereen toegeeft is dus van korten duur en valt snel daarna. Een dergelijke kortdurende verhooging kan daarom gemakkelijk verklaard worden uit een „ blowing off " van koolzuur, zooals Bornstein en anderen doen en uit een eventueel vrijkomen van CO_2 uit het bicarbonaat van het bloed door aanzuren hiervan.

In beslissende experimenten moest dus een hoeveelheid exogene glucose aan de koolhydraat-reserve worden toegevoegd, waarbij men bovendien het voordeel heeft de hypoglycaemie en de krampen te kunnen vermijden. Immers volgens Dickson c. s. (66) krijgen we eerst een hyperventilatie als de bloedsuiker onder 0.80°/$_{oo}$ daalt :
« probably acting through the central nervous system, exciting increased respiration and muscular tone. »

Waarschijnlijk is het dus het beste om de bloedsuiker zooveel mogelijk binnen normale waarden te houden en bovendien groote hoeveelheden glucose en insuline te geven, zooals in onze experimenten gebeurde.

Laat ik eerst echter de resultaten van eenige andere onderzoekers bespreken, die glucose met insuline toedienden.

Heymans en Matton (96), die bijv. 60 eenheden inspuiten na afloop van een intraveneuse injectie van 10 gram glucose gedurende 2 à 3 u., vinden nooit een verhoogde CO_2-afgave, bepaald met de methode van Heymans en bij intreden der hypoglycaemie juist een vermindering(97), die soms tijdelijk weer even stijgen kan, als er krampen optreden. Hoewel onbekend met het respiratie-quotient besluiten zij uit het niet stijgen der CO_2-afgave, dat er door de insuline geen glucose verbrand wordt.

Bouckaert en Stricker (98) vinden bij directe calorimetrie met den differentieel-calorimeter van Noyons (99) bij toedienen op de reeds

beschreven wijze van 8 gram glucose + 6 eenheden insuline per K° konijn hoogstens een stijging der calorie-afgave van 10°/₀, terwijl de toegediende glucose in dezen tijd, wanneer geheel geoxydeerd, een zéér veel grootere verhooging zou moeten geven.

Noyons, Bouckaert en Sierens (100) toonen eveneens door directe calorimetrie aan, dat bij glucose-inspuiting tijdens crisis de stijging in calorie-afgave veel te klein is om geheele verbranding der glucose te kunnen verklaren.

Noyons en Stricker (101) vinden bij bepaling volgens dezelfde methode bij diabetes-patienten met verhoogde bloedsuiker een vermindering der calorie-afgave na insuline en besluiten eveneens, dat insuline de koolhydraat-verbranding niet vermeerdert. Ook in al deze experimenten met directe calorimetrie is het respiratie-quotient niet bepaald.

Burn en Dale, (102) komen, in overeenstemming met de resultaten van Hepburn en Latchford, tot de conclusie, dat door de werking van insuline, die aan een glucose bevattende vloeistof bij de doorstrooming van het zoogdier-hart is toegevoegd,de dextrose sneller uit de vloeistof verdwijnt, ofschoon de CO_2-afgave daarbij niet in evenredigheid gestegen is, dus niet geheel te verklaren door is volledige oxydatie.

Cousy (103) heeft in het Leuvensche laboratorium echter overtuigend bewezen bij doorstrooming van konijnen-harten met een in een gesloten systeem circuleerende, betrekkelijk kleine hoeveelheid vloeistof (methode Noyons), dat deze resultaten onjuist zijn, omdat ze uitsluitend te danken zijn aan de werking van micro-organismen. Ook hij vond eerst vermeerderde glucose-verdwijning met insuline,wanneer hij echter volkomen aseptisch werkte, bleek de glycolyse eerder te verminderen, dan te vermeerderen. Steeds werd de vloeistof zorgvuldig bacteriologisch gecontroleerd.

Dezelfde bezwaren, ofschoon in mindere mate, zou ik willen opmerken tegen de in dezelfde publicatie van Burn en Dale medegedeelde proefnemingen op gedecapiteerde en geeviscereerde katten. Deze „ dieren ", die eigenlijk slechts hart-,long-, spier-preparaten zijn, werden op niet-aseptische wijze ingespoten met glucose-oplossingen en zullen veel eerder geinfecteerd worden dan normale dieren. In onze experimenten

hebben we daarom, ofschoon we normale dieren gebruikten, steeds steriel gewerkt. Bovendien heeft het werken op normale dieren nog andere voordeelen.

Campbell en Dudley (104), die bij Dale werkten, merken op, dat de hooge bloedsuiker, die de spinale katten bij het begin van het experiment vertoonen, gedeeltelijk veroorzaakt wordt door chloroform en operatie. Verder hebben deze spinale katten steeds een respiratie-quotient van 1, waaruit volgt,dat het metabolisme abnormaal is. Immers zelfs na groote doses glucose en insuline vindt men slechts zelden zoo'n hoog R. Q., waarbij dus de eiwit- en vet-verbranding practisch stopgezet is.

Dale vindt, dat de verhooging van het metabolisme van zijn spinaalpreparaat onvoldoende is ter verklaring van volledige glucose-verbranding, een conclusie, die ook met in aanmerking nemen van het bovenstaande juist blijft, zoolang hij de verbrande glucose tenminste niet in °/₀ uitdrukt.

Gabbe (105), die insuline inspoot bij normale ratten met en zonder glucose-toediening, meende de steeds optredende verhooging van het respiratie-quotient alleen te kunnen verklaren uit een vermeerderde KH-verbranding.

Lesser (80, 106) komt na een schitterende reeks insuline-onderzoekingen op muizen met en zonder glucose tot de conclusie :

« Es ist mithin sehr wahrscheinlich dass die Steigerung des respiratorischen Quotienten in diesen Versuchen auf Verbrennung des injizierten Traubenzuckers beruht. »

en vult dit later (78) aldus aan :

« dass die Insulinwirkung zum grössten Teile in einer Beschleuniging des gekoppelten Prozesses von Traubenzuckerverbrennung und Glykogensynthese bestehe. »

Hij vindt het quotient : $\frac{\text{gezamenlijke verdwenen glucose}}{\text{verbrande glucose}} = 1.27.$

Hij kan in zijn experimenten verhoogde CO_2-afgave door hyperventilatie of aanzuren van het bloed als factor van beteekenis uitsluiten.

Hetzelfde kunnen wij bij onze proefnemingen met nog grooter zekerheid zeggen. Immers bij de enorme hoeveelheden glucose, die we

met onze methode in het lichaam konden doen verdwijnen, vallen dergelijke factoren volkomen in het niet. Een stijging van het respiratiequotient, dat zooals in onze proeven vaak na 24 uur nog boven zijn uitgangswaarde was, kan uitsluitend verklaard worden door een verhooging der koolhydraat-verbranding.

Verder hebben wij in onze experimenten het voordeel, daar we tegelijk zochten naar het glucose-insuline aequivalent, dat de bloedsuiker meestal niet al te veel afweek van normale waarden, waardoor onze dieren in meer normale omstandigheden verkeerden dan van vrijwel alle andere onderzoekers, terwijl toch de werking van zeer groote hoeveelheden insuline kon bestudeerd worden.

We meenen daarom tot de *conclusie* te mogen komen, dat bij gecombineerde glucose-insuline toediening $^1/_3$ à $^1/_2$ *der verdwenen glucose volledig geoxydeerd wordt* en dat deze *verbranding van langeren duur is, naarmate er meer glucose + insuline wordt toegediend.*

Door onze resultaten te vergelijken met die van Lesser c. s. en Hoet c. s., kunnen wij ons aansluiten bij hun meening, dat vrijwel de geheele hoeveelheid glucose, die in het lichaam onder den invloed van insuline verdwijnt, deels in glycogeen wordt omgezet, deels verbrand wordt.

De stelling, door Dale en Lesser verdedigd, dat *insuline in het diabetische en in het normale organisme op dezelfde wijze werkt*, laat zich nu hieruit zonder bezwaar afleiden.

Vroeger meende men n.l., dat insuline de glucose-verbranding niet aanzette bij normale dieren, terwijl bij diabetische door insuline glucose weer kon worden verbruikt; aan den anderen kant, dat insuline bij normale dieren de glycogeen-reserve aansprak, terwijl bij diabetes glycogeen opgebouwd werd. Nu deze tegenstrijdigheden verklaard zijn mogen we zeggen, dat een overmaat insuline altijd de koolhydraatverbranding verhoogt en tegelijk de omzetting van glucose in spierglycogeen steeds bevordert. Is er te weinig insuline, zooals bij diabetes, dan vormt er zich geen glycogeen meer en de verbranding van glucose vindt niet meer plaats. Geeft men aan suikerzieken insuline, dan daalt ook hier de bloedsuiker deels door glucose-verbranding, deels door omzetting in glycogeen.

LITTERATUUR.

1. K. Brunner. Experimenta nova circa pancreas. Miscellanea nat. curios, 1688 (gecit.n.27).
2. N. de Dominicis. Studii sperimentali intorno agli effetti della estirpatione del pancreas negli animali. Giornal. intern. della scienza med. 1889 - XI - p. 801 (gecit.n.42).
3. J. von Mering en O. Minkowski. Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation. Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol. 1889 - Bd 26 - p. 371.
4. R. Lépine. Nouvelle théorie du diabète. Lyon méd. 1889 - p. 619.

4a. M. A. van Herwerden. Beteekenis van de eilandjes van Langerhans voor de omzetting der koolhydraten. Geneesk. Bladen 1912 - XII - p. 315.

5. R. Langerhans. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeichseldrüse. Inaugural Dissertation. Berlin 1869. (gecit.n.4a).
6. E. G. Laguesse. Sur la formation des îlots de Langerhans dans le pancréas. C. R. Soc. de Biol. 1894 - XXX - p. 667. (gecit.n.4a).
7. O. Minkowski. Untersuchungen über den Diabetes mellitus nach Extirpation des Pankreas. Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol. 1893 - Bd 31 - p. 85.
8. E. Hédon. Greffe sous-cutanée du pancréas. C. R. Soc. de Biol. 1892 - T. 44 - p. 307 (gecit.n.27.)
9. W. Schultze. Die Bedeutung der Langerhanschen Inseln im Pankreas. Archiv f. mikr. Anat. 1900 - Bd 56 - p. 491 (gecit.n.27).
10. L. W. Ssobolew. Zur normalen und pathologischen Morphologie der inneren Sekretion der Bauchspeicheldrüse. Virchows Archiv. 1902 - Bd 168 - p. 91. (gecit. n. 27)
11. Edgard Zunz en L. Mayer. Des effets de la ligature des canaux excréteurs du pancréas chez le chien sur la nutrition générale et spécialement sur la digestion des substances albuminoïdes. 6me Congrès internat. de Physiol. Bruxelles 1904.

12. A. Weichselbaum. Uber die Veränderungen des Pankreas bei Diabetes mellitus Wiener klin. Wochenschr. 1911-p. 153.(gecit.n.27)
13. E. L. Opie. On the histology of the island of Langerhans of the pancreas. Bull. of the John Hopkins Hosp. 1900 - Bd 11 - p.205 (gecit. n. 27).
13a. H. Staub. Insulin. Berlin Springer 1925.
14. K. A. Heiberg. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1906 - Bd 49 - p. 243 (gecit. n. 13a).
15. Bensley. Amer. Journ. of Anatomy 1911 - Bd 12 - p. 297. (gecit. n. 13a)
16. J. de Meyer. Action de la sécrétion interne du pancréas sur différentes organes et en particulier sur la sécrétion rénale. Archivio di fisiologia 1909 - VII - p. 96. (gecit. n. 42)
17. E. A. Schäfer. The endocrine organs. London 1916 - XVII - p.167.
18, G. Zülzer. Untersuchungen über den experimentellen Diabetes. Verh. d. Kongr. f. inn. Med. XXIV. Wiesbaden 1907. p. 258.
19. F. P. Knowlton en E. H. Starling. Experiments on the consumption of sugar in the normal and diabetic heart. Journ. of Physiol. 1912 - Vol. 45 - p. 146.
20. C. H. Best en D. A. Scott. The preparation of insulin. Journ. of biol. Chem. 1923 - Vol. 57 - p. 709 (gecit. n. 42).
21. E. Gley. Action des extraits de pancréas sclérosé sur des chiens diabétiques. C. R. Soc. de Biol. 1922 - t. 87 - p. 1322.
22. F. G. Banting en C. H. Best. The internal secretion of the pancreas. J. Lab. and Clin. med. 1922 - VII - p. 251. (gecit. n. 42).
Pancreatic extracts. J. Lab. and Clin. med. 1922 - VII - p. 464.(gecit. n. 42)
23. J. B. Collip. Trans. Roy. Soc. Canada 1922 - XVI-N° 3.(gecit.n.42)
24. J. J. R. MacLeod en W. R. Campbell. Insulin. Its use in the treatment of diabetes. Medecine Monographs, Vol.VI. Baltimore 1925.
25. John J. Abel en E. M. K. Geiling. Is Insulin an unstable sulphur compound? Journ. of Pharmacol. and exp. Ther. 1925 - Vol. 25 - p. 423.

26. John J. Abel. Crystalline insulin. Proc. Nat. Acad. of Sciences, U. S. A. 1926 - Vol. 12 - p. 132.
27. André Choay. La sécrétion interne du pancréas et l'insuline. Ed. Masson et Cie. Paris 1926.
28. G. S. Eadie, J. J. R. MacLeod en E. C. Noble. Insulin and glycolysis. Am. Journ. of Physiol. 1923 - Vol. 65 - p. 463.
29. I. I. Nitzescu en C. Popescu-Inotesti. L'insuline et la glycolyse. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 90 - p. 534.
30. R. Priesel en R. Wagner. Uber die Unstimmigkeit der Wirkung verschiedener Insulin in Klinik und Tierexperiment. Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 1157.
31. E. Laqueur. Uber die Einheiten des Insulins. Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 440.
32. R. T. Woodyatt. The clinical use of insulin. Journ, of metabol.Res. 1922 - II - p. 793 (gecit. n. 27)
33. R. M. Wilder, W. M. Boothby, C. J. Barborka, H. D. Kitchen en S. F. Adams. Clinical observations on insulin. Journ. of metabol, Res. 1922 - II - p. 701 (gecit. n. 27).
34. R. M. Wilder. The clinical assaying of insulin and the insulin requirement. Endocrinology 1924 - VIII - p. 630. (gecit. n. 27.)
35. MacPhedran en F. G. Banting. Insulin in the treatment of severe diabetes. Journ. of the Am med. Ass. 1923 - Vol. 80 - p. 1726.
36. H. E. Lefever. Determinations necessary to adjust Insulin Doses. Med. Journ. and Record. New-York 1924 - Vol. 120 - p. 481.
37. Russel, Bowen en Pucher. Bull. of the Buffalo Gen. Hosp. 1923 - I p. 2 (gecit. n. 42).
38. W. S. MacCann, R. R. Hannon en K. Dodd. Bull. John Hopkins Hosp. 1923 - Vol. 34 - p. 205 (gecit. n. 42).
39. W. H. Olmsted en S. H. Kahn. Journ. Am. med. Ass. 1923 - LXXX - p. 1903.
40. W. R. Campbell en A. A. Fletcher. Journ. Am. med. Ass. 1923 - LXXX - p. 1641.
41. F. N. Allan. The glucose equivalent of insulin in depancreated dogs Am. Journ. of Physiol. 1924 - Vol. 67 - p. 275.

42. Emile Aubertin. L'insuline. Ed. Gaston Doin et Cie. Paris 1926.
43. G. S. Eadie en J. J. MacLeod. The physiological assay of insulin based on its effects on the hyperglycemia following glucose-injections and epinephrin. Am. Journ. of Physiol. 1923 - Vol. 64 - p. 285.
44. G. S. Eadie. The variations of the blood sugar of the rabbit throughout the day and the effect of the subcutaneous injection of glucose. Am. Journ. of Physiol. 1922 - Vol. 62. p. 513.
45. S. E. de Jongh en Prof. Dr. E. Laqueur. Over de gelijktijdige toediening van glucose en insuline. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1924 I - p. 907.
46. J. D. Boyd, H. M. Hines en C. E. Leese. Study of response to continous intravenous injection of large amounts of glucose. Am. Journ. of Physiol. 1925 - Vol. 74 - p. 656.
47. O. Koref en R. W. Rigler. Uber die Wirkung gleichzeitiger Injektion von Zuckerlösungen und Insulin auf den Blutzuckerspiegel. Berl. klin. Wochenschr. 1924 - p. 1538.
48. J. P. Bouckaert en W. Stricker. Méthode pour réaliser l'hyperglycémie permanente chez le lapin. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 90 - p. 952.
49. J. P. Bouckaert en W. Stricker. Étude sur l'équivalent glucose-insuline. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 91 - p. 100.
50. A. Grevenstuk en E. Laqueur. Insulin. Ergebn. der Physiol. 1925 - Bd. 23 - Abt. 2.
51. P. Rona en E. Bloch. Bestimmung des Blutzuckers. Abderh. Handb. d. biol. Arb. meth. 1925 - Abt. IV - p. 845.
52. Gradwohl en Blaivas. Blood and urine chemistry. 2de Editie. H. Kimpton - Londen 1920.
53. Sanders. Journ. of biol. Chem. 1923 - p. 1.
54. H. Pénau en H. Simonet. Influence de l'alimentation sur la sensibilité du lapin normal à l'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1925 - t. 93 - p. 1292.
55. C. D. Verrijp. Glycose-hart en ionenwerking. Dissertatie. Utrecht 1925.

56. E. L. Scott en Th. H. Ford. The concentration of sugar in the blood of the rabbit during inanition and after the ingestion of glucose. Am. Journ. of Physiol. 1922 - Vol. 63 - p. 520.
57. Charles Richet. Dictionnaire de Physiologie. Tome X. Ed. Félix Alcan, Paris.
57a. A. A. Hijmans van den Bergh. Voordrachten over suikerziekte. Ed. Bohn, Haarlem, 1925.
58. A. Sordelli, B. A. Houssay en P. Mazocco. Action comparée de l'insuline sur diverses espèces animales. C. R. Soc. de Biol. 1923 - t. 89 - p. 744.
59. K. L. E. Lamers. L'équivalent glucose-insuline. C. R. Soc. de Biol. 1926 - t. 94 - p. 792.
60. K. L. E. Lamers. Différence entre l'effet de l'insuline injectée par voie intraveineuse et sous-cutanée. C. R. Soc. de Biol 1926 - t. 94 - p. 1259.
61. N. F. Fisher en B. E. Noble. Excretion of insulin by kidneys. Am. Journ. of Physiol. 1924 - t. 67 - p. 72.
62. Mlle L. Cappellen en A. K. Noyons. Méthode gazo-analytique à voie ouverte servant à la détermination du métabolisme. C. R. Soc. de Biol. 1925 - t. 93 - p. 1530.
63. C. G. Douglas en J. G. Priestley. Human physiology. Oxford 1924.
64. Zuntz en Loewy. Lehrbuch der Physiologie des Menschen, 3de editie, Leipzig 1920.
65. W. Laufberger. Theorie der Insulin-wirkung. Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 264.
66. B. R. Dickson. G. S. Eadie, J. J. R. MacLeod en F. R. Pember. Respiratory experiments with insulin. Am Journ. of Physiol, 1924 - Vol. 86 - p. 145.
67. K. L. E. Lamers. Le quotient respiratoire après injection combinée de glucose et d'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1926 - t. 95 - p.251.
68. Charles Sacaze. Contribution à l'étude du mode d'action de l'insuline par la méthode des échanges gazeux. Thèse. Montpellier 1925.

69. K. L. E. Lamers. Le métabolisme du lapin sous l'influence de l'injection combinée de glucose et d'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1926 - t. 94 - p. 795.
70. Ph. A. Shaffer. Intermediary metabolism of carbohydrates. Physiol. Reviews 1923 - Vol. 3 - p. 394.
72. K. L. E. Lamers. L'acidité de l'urine après l'injection combinée de glucose et d'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1926 - t. 94 - p. 1261.
73. J. P. Bouckaert. Méthode pour le dosage du bicarbonate dans une petite quantité de sérum. C. R. Soc. de Biol. 1925 - t. 93 - p.811.
74, Clark. The determination of hydrogen ions. Ed. W. and W. C° - Baltimore 1920.
76. H. W. Dudley, P. P. Laidlaw, J. W. Trevan en E. M. Boock. The effect of insulin on the respiratory exchange. Journ. of Physiol, 1923 - Vol. 57 - Proc. p. XLVII.
77. E. Brenckman en A. Feuerbach. Recherches sur le mécanisme de l'action de l'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1923 t. 89 - p. 1113.
78. E. Bissinger en E. J. Lesser. Der Kohlehydratstoffwechsel der Maus nach Injektion von Zuckerlösungen und von Insulin. Bioch. Zeitschr. 1926 - Bd. 168 - p. 298.
79. J. P. Hoet. The fate of sugar disappearing under the action of insulin Diss. presented for the degree of Ph. D. Cambridge 1926.
80. E. Bissinger, E. J. Lesser en K. Zipf. Der Mechanismus der Insulinwirkung (Vorläufige Mitteilung) Klin. Wochenschr. 1923 - II - p. 2233.
81. G. A. Harrop en E. M. Benedict. The role of phosphate and potassium in carbohydrate metabolism following insulin administration. Proc. Soc. exp. biol. a. med. 1923 - Vol. 20 - p. 430.(gecit. n. 79.)
82. A. Audova en R. Wagner. Ein Beitrag zur Kenntnis der Insulinwirkung. Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 231.
83. G. A. Harrop en E. M. Benedict. Journ. of biol. Chem. 1923 - Vol. 58 - p. 483. (gecit. n. 79)

84. H. D. Kay en R. Robison. The role of phosphates in carbohydrate metabolism. Biochem. Journ. 1924 - Vol. 18 - p. 1139 (gecit.n.79).
85. G. S. Eadie, J. J. R. Mac Leod, en E. C. Noble. Further experiments on the action of insulin Am. Journ. of Physiol. 1925 - Vol. 72 - p. 614.
86. A. P. Brigss, I. Koechig, E. A. Doisy en C. J. Weber. Journ. biol. Chem. 1924 - Vol. 58 - p. 721. (gecit. n. 79)
87. S. Isaac en E. Adler. Uber das Verhalten der Triosen im normalen und diabetischen Stoffwechsel. Klin. Wochenschr. 1924-I-p. 954.
88. J. A. Collazo, M. Händel en P. Rubino. Uber den Wirkungsmechanismus des Insulins. Klin. Wochenschr. 1924 - I - 323.
89. E. Toennissen. Kohlehydratstoffwechsel und Pankreas. Klin. Wochenschr. 1924 - I p. 212.
90. P. Mazocco en B. Morera. Action de l'insuline sur la composition du sang. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 91 - p. 30.
91. A. Bornstein. Zur Insulinwirkung. Klin. Wochenschr. 1924-I-p. 555.
92. A. Bornstein. Uber den Mechanismus der Insulinwirkung, Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 681.
93. A. Krogh. Die Wirkungen von Insulin im Organismus, Deutsche med. Wochenschr. 1923 - II - p. 1321.
94. J. G. Dusser de Barenne en G. C. E. Burger. On the action of insulin, Versl. Kon. Ac. v. Wetensch. A'dam 1924 - D. 33 - p. 382.
95. W. Laufberger. Theorie der Insulinwirkung. Klin. Wochenschr. 1924 - I - p. 264.
96. C. Heymans en M. Matton. Influence de l'insuline sur les échanges respiratoires du lapin hyperglycémique. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 90 - p. 1288.
97. M. Matton. Influence de l'insuline sur les échanges respiratoires et la température du lapin. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 90 - p. 361.
98. J. P. Bouckaert en W. Stricker. Déperdition calorique pendant l'injection permanente et simultanée de glucose et d'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 91 - p. 102.

99. A. K. Noyons, Le calorimètre différentiel pour animaux de taille moyenne. Journ. de Physiol. et de Path. gén. 1924 - t. 22 - p. 559.
100. A. K. Noyons. J. P. Bouckaert en A. Sierens. Influence de l'insuline sur la déperdition calorique chez le lapin. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 90 - p. 365.
101. A. K. Noyons en W. Stricker. Le métabolisme du diabétique après l'injection d'insuline. C. R. Soc. de Biol. 1924 - t. 91 - Séance plén. p. 178.
102. J. H. Burn en H. H. Dale. On the location and nature of the action of insulin. Journ. of Physiol. 1924 - Vol. 59 - p. 164.
103. R. Cousy, L'action inhibitrice de l'insuline sur la glycolyse du cœur de lapin. C. R. Soc. de Biol. 1925 - t. 92 - p. 750.
104. J. A. Campbell en H. W. Dudley. The effect of insulin on the oxygen and carbon dioxyde tensions in air between the skin and the muscles. Journ. of Physiol. 1924 - Vol. 58 - p. 348.
105. E. Gabbe. Uber die Wirkung des Insulins auf den respiratorischen Gaswechsels. Klin. Wochenschr. 1924 - p. 612.
106. E. J. Lesser, Der Gaswechsel der Maus nach Injektion von Zukerlösungen und Insulin, Bioch. Zeitschr. 1924 - Bd. 153 - p. 40.

h. 7159.

INHOUD

BLZ.

INLEIDING 9

HOOFDSTUK I

Bepaling van het glucose-insuline evenwicht 15

A. Vroegere onderzoekingen. Critische litteratuur-bespreking 15

B. Eigen onderzoek 24

1. Techniek 26

2. Normale bloedsuikers. Contrôle-experimenten 41

3. Verloop der glycæmie bij verschillende wijzen van glucose en insuline-toediening 45

C. Conclusies 66

HOOFDSTUK II

Het metabolisme na toediening van glucose en insuline 67

A. Techniek 68

B. Resultaten 76

1. Normale cijfers en contrôle-dieren 76

2. Respiratie-quotient na glucose-insuline toediening 80

3. Stofwisseling na glucose-insuline toediening 85

HOOFDSTUK III

Zuurvorming na glucose-insuline toediening 97

A. Urine-aciditeit 97

B. Alcalische reserve van het bloed 103

HOOFDSTUK IV

Samenvatting der verkregen resultaten 109

HOOFDSTUK V

Eenige beschouwingen over het lot der verdwenen suiker onder den invloed van insuline 113

Steendrukk. - Drukk.
Jos MEULEMANS, Graveur
12, Naamsche straat, 12
LEUVEN
1926

STELLINGEN

I

Een belangrijk deel der glucose, die onder den invloed van insuline in het lichaam verdwijnt, wordt volledig geoxydeerd.

II

Bij de bestudeering der electrische prikkelbaarheid volgens moderne methoden beperke men zich niet tot de chronaxie, maar bepale men meerdere punten der excitabiliteits-kromme.

III

Wanneer bij ontijdig loslaten van de placenta een ingrijpen noodzakelijk wordt, verkieze men het extra-ovulair inbrengen van den metreurynter boven de keering volgens BRAXTON-HICKS.

IV

Bij ablatio retinae overwege men steeds als therapie het doen van pericorneale cauterisatie (colmatage LAGRANGE) en wel bij voorkeur, zooals door VAN HEUVEN voorgesteld, voorafgegaan door losprepareeren der conjunctiva.

V

Ectopia vesicae behandele men volgens de methode COFFEE-MAYO.

VI

Bij een statistisch onderzoek naar de bloedgroepen-verdeeling verzuime men niet ook de hoofd-index te bepalen.

VII

Het is twijfelachtig of de cellen, welke DI GUGLIELMO „ praepolycaryocyten " noemt, een rol spelen bij de vorming der megacaryocyten.

VIII

Bij hyperthyreoidie en ziekte van Basedow worde, naast de gebruikelijke methoden, ook een plaats ingeruimd aan een ergotamine-kuur.

IX

Ter bepaling van het basaal-metabolisme verdienen de differentieel calorimetrische en de gas-analytische methode van NOYONS de voorkeur boven de methoden, waarbij van maskers gebruik gemaakt wordt.

X

De zoogenaamde xanthomatische reuzencel-sarkomen mogen in het algemeen niet tot de sarkomen gerekend worden.

XI

Bij de behandeling van tabes en dementia paralytica met malaria of tryparsamide is het op dit oogenblik nog niet mogelijk aan een van beide de voorkeur te verleenen.

XII

Tegen de opvatting van den Zeekrijgsraad te Willemsoord, uitgedrukt in zijne vonnissen van 21 en 28 Juli 1915, welke opvatting bevestigd is door het Hoog Militair Gerechtshof op 26 November 1915, dat de Officier van Gezondheid in de uitoefening van zijn ambt niet gebonden is aan zijn beroepseed en zelfs verplicht is aan zijne meerderen opgave te doen van ziekten, waarvan hem door zijne patienten geheimhouding is verzocht, zijn verschillende bezwaren in te brengen.