Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Bijdrage tot de kennis van het verband tusschen de stofwisseling der koolhydraten en der vetten

https://hdl.handle.net/1874/308663

Proefschrift 1932

BIJDRAGE
TOT DE KENNIS VAN HET VERBAND TUSSCHEN DE STOFWISSELING DER KOOLHYDRATEN EN DER VETTEN

H. FESTEN

BIBLIOTHEEK DER RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT

A, qu.
192

6.12.015.32
543.85

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET VERBAND TUSSCHEN DE STOFWISSELING DER KOOLHYDRATEN EN DER VETTEN.

TEVENS OVER DE VRAAG: OP WELKE WIJZE IN ZEER KLEINE HOEVEELHEDEN BLOED HET GEHALTE AAN VET EN VETACHTIGE STOFFEN HET NAUWKEURIGST KAN WORDEN NAGEGAAN.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET VERBAND TUSSCHEN DE STOFWISSELING DER KOOLHYDRATEN EN DER VETTEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. C. G. N. DE VOOYS, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT
DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE, TE
VERDEDIGEN OP DINSDAG 20 DECEMBER
1932, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR, DOOR

HENRI FESTEN, ARTS,
GEBOREN TE WINTERSWIJK

N.V. DEKKER & VAN DE VEGT EN J. W. VAN LEEUWEN
UTRECHT 1932 NIJMEGEN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN OUDERS

AAN MIJN VROUW

Het schrijven van deze regels beteekent het afsluiten van een periode, die zeker de aangenaamste en onbezorgdste van mijn leven zal zijn geweest.

De juistheid van SONDEREGGER'S woorden: „der Student der Medizin ist das glücklichste Wesen auf Erden," heb ik diep gevoeld.

Daarom gaat mijn dankbaarheid op dit oogenblik in de eerste plaats uit naar mijn ouders, die mij de gelegenheid gaven een universitaire opleiding te genieten.

U, hooggeleerde RINGER, hooggeachte Promotor, ben ik zeer erkentelijk voor de wijze waarop Gij mijn eerste schreden in een wetenschappelijk onderzoek hebt geleid. Uw groote bereidwilligheid, niettegenstaande Uw drukke bezigheden en Uw critisch oordeel waardeer ik zeer.

Dat Gij mij bovendien in moeilijkheden, die buiten de bewerking van dit proefschrift lagen, de behulpzame hand hebt geboden, heeft mij diep getroffen.

U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en Docenten der Medische en Philosophische faculteiten van de Utrechtsche Universiteit, ben ik zeer dankbaar voor alles wat Gij aan mijn vorming tot arts hebt bijgedragen. Hoe dikwijls heb ik reeds terugverlangd naar den tijd, waarin ik nog tot Uw auditorium behoorde!

In het bijzonder geldt mijn dankbaarheid U, hooggeleerde VAN DEN BROEK, die mij de gelegenheid gaaft, om na mijn candidaatsexamen nog een jaar practisch in Uw instituut werkzaam te zijn.

Dat Gij, hooggeleerde NOYONS, mij den juisten weg hebt gewezen in moeilijkheden, stemt mij tot groote dankbaarheid. Zonder Uw hulp had ik het werk ontijdig afgebroken, wat ik later zeer zeker zou hebben betreurd.

U, zeergeleerde DER WEDUWEN, ben ik dankbaar voor Uw hulp in enkele moeilijkheden, die zich bij het werk voordeden, alsmede voor Uw vriendschappelijken omgang.

Collega HOITINK en Mejuffrouw WESTENBURG ben ik zeer erkentelijk voor hetgeen zij er toe bijdroegen, om op het laboratorium een aangename sfeer te scheppen.

Door mijn vrouw werd ik in niet onbelangrijke mate op verschillende plaatsen in het werk geholpen.

Mijn broer A. FESTEN vervaardigde de teekening.

Dankbaar ben ik ook Mevrouw STEYNS—VERVER, die zoo bereidwillig was de samenvatting in het Engelsch te vertalen, verder Mejuffrouw STRIKKERS en Mejuffrouw BLANKEN, voor hun hulp in de dagelijks terugkeerende kleine moeilijkheden.

Verder een woord van dank voor de technische hulp aan het personeel van het laboratorium; aan U waarde HERBER, die steeds bereid waart mijn gebrek aan vaardigheid in de bewerking van het glas aan te vullen; maar vooral ook aan U, waarde DE BOUTER, omdat gij de waarlijk niet lichte taak van het vervaardigen van de micro-buret op u wilde nemen en tot een zoo goed einde wist te brengen.

Ten slotte een woord van dank aan mijn academie-vrienden; afstand noch tijd zijn van eenigen invloed op de sterkte van de banden, die ons verbinden!

INHOUD.

blz.

INLEIDING 1

DE STOFWISSELING DER VETTEN 3

Lipase in speeksel — lipase in maagsap — vetten in den darm — de theorie van TANGL en BEREND — de beteekenis van de alvleeschklier — de beteekenis van de gal — het vervoer van het vet — vet in het bloed — lipase in het bloed — overgang van vet in phosphatides — overgang van vet in cholesterine — de beteekenis van de lever voor de stofwisseling van het vet — de beteekenis van het centrale zenuwstelsel voor de stofwisseling van het vet — de beteekenis van de milt voor de vetstofwisseling — de beteekenis van de longen voor de vetstofwisseling.

DE STOFWISSELING DER PHOSPHATIDES . . . 26

DE STOFWISSELING VAN DE CHOLESTERINE . . 30

OVER DEN SAMENHANG VAN DE STOFWISSELING DER VETTEN MET DIE DER KOOLHYDRATEN . 33

De vorming van vet uit koolhydraat — de vorming van koolhydraat uit vet — de beteekenis van het vet voor de spierwerking — hyperlipaemie bij suikerziekte — acidose bij suikerziekte — de beteekenis van insuline voor de stofwisseling van het vet.

WERKWIJZEN VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN HET BLOED EN VET EN VETACHTIGE STOFFEN 45

INLEIDING 45

A. WERKWIJZEN VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN BLOED AAN NEUTRAALVET EN VETZUREN 47

Beschrijving van de gevolgde werkwijze bij het onderzoek naar de grootte van het vet-gehalte van bloed.

Uitvoering van de werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het vetgehalte van bloed in 0,2 cc.

B. WERKWIJZEN VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN BLOED AAN CHOLESTERINE 75

Beschrijving van de gevolgde werkwijze bij het onderzoek naar het cholesterine-gehalte van bloed.

Uitvoering van de werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het cholesterine-gehalte van bloed in 0,4 cc.

C. WERKWIJZEN VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN BLOED AAN PHOSPHATIDES 86

Beschrijving van de gevolgde werkwijze voor het onderzoek naar het phosphatidegehalte in 0,2 cc.

D. GEVOLGDE WERKWIJZE BIJ HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN IN 2 CC. 95

OVER HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN ONDER VERSCHILLENDE OMSTANDIGHEDEN. — EEN ONDERZOEK NAAR DEN INVLOED VAN INSULINE OP DE TOLERANTIE VOOR VET 97

1. OVER WISSELINGEN IN HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN BIJ ONTHOUDEN VAN VOEDSEL 97

2. DE INVLOED VAN INSULINE OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN BIJ ONTHOUDEN VAN VOEDSEL 100

A. onder normale omstandigheden.

B. onder abnormale omstandigheden.

3. DE INVLOED VAN EEN VETMAALTIJD OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN 105

A. onder normale omstandigheden.

B. bij lijders aan suikerziekte.

4. DE INVLOED VAN EEN VETMAALTIJD OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN, BIJ INSPUITING VAN INSULINE 122

A. bij normale honden.

B. bij een hond zonder alvleeschklier.

BESCHOUWING OVER DE VERKREGEN UITKOMSTEN 144

DISCUSSION OF THE RESULTS OBTAINED . . . 153

ALPHABETISCHE LITERATUURLIJST 161

INLEIDING.

In 1929 deden H. R. RONY en A. J. LEVY [1] mededeeling van proeven op menschen, waarbij de grootte van de tolerantie voor vet en suiker werd nagegaan. Het bleek hierbij nu, dat bij zware menschen zoowel een kleine als een groote tolerantie voor vet werd gevonden, terwijl ook enkele van die proefpersonen een tolerantie voor vet bezaten, die gelijk was aan die, welke men bij normale individuen vond.

Opmerkelijk was echter, dat een kleine tolerantie voor vet steeds gepaard ging met een kleine tolerantie voor suiker en omgekeerd.

Dit feit deed de genoemde onderzoekers uit hun proefnemingen besluiten: „just as insulin promotes the formation of glycogen from the circulating blood-sugar, insulin also promotes the deposition of tissue-fat from the circulating blood-fat."

Dit genoemde onderzoek van RONY en LEVY is een der zeer vele, die gedaan zijn om de vraag op te lossen: welke beteekenis heeft insuline voor de stofwisseling van het vet en hoe is de samenhang van vet- en koolhydraat-stofwisseling?

Dat de stofwisseling van het vet ten nauwste samenhangt met die der koolhydraten, weet men reeds sedert langen tijd. Hierop wijst onbetwistbaar het voorkomen van hyperlipaemie en acidose bij suikerziekte en het bestaan van een overgang van koolhydraat in vet en waarschijnlijk ook omgekeerd.

Hoe men zich echter dit verband tusschen koolhydraat- en vetstofwisseling moet voorstellen, weet men tot nu toe nog niet; evenmin is met eenigen zekerheid bekend of insuline een leidende rol speelt bij de stofwisseling van het vet. Zeker is, dat RONY en LEVY te ver gaan wanneer zij uit het feit, dat een groote tolerantie voor vet steeds gepaard gaat met een groote tolerantie voor koolhydraat, besluiten, dat insuline het afzetten van vet in de weefsels bevordert.

W. RAAB [2] meent, dat insuline geen leidende rol speelt bij de stofwisseling van het vet, maar hierop alleen invloed kan uitoefenen door haar werking op de klieren met inwendige afscheiding.

Het zeer groot aantal onderzoekingen over dit onderwerp, dat in den laatsten tijd is gedaan, heeft duidelijk onze armoede aan inzicht in de stofwisselingsprocessen aan het licht gebracht.

---

[1] H. R. RONY en A. J. LEVY. Journ. o. lab. a. clin. Med. 15. 221. 1929.
[2] W. RAAB. Wien. Arch. f. inn. Med. 7. 443. 1924.

Het is daarom onmogelijk om door een enkel onderzoek de beteekenis van insuline voor de stofwisseling van het vet volledig te doorgronden.

Ik had mij daarom, op aanraden van PROF. RINGER, ten doel gesteld een klein onderdeel van dit vraagstuk op te lossen, nl.: is insuline van beteekenis voor de tolerantie voor vet, die het lichaam bezit.

Omdat cholesterine en phosphatides zoo nauw met de vet-stofwisseling samenhangen, heb ik ook deze vet-achtige stoffen in mijn onderzoek betrokken.

Voor dit onderzoek was het noodig in de eerste plaats een goede werkwijze te zoeken voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan vet en vet-achtige stoffen.

Vervolgens moest bij normale proefdieren de tolerantie voor vet worden nagegaan om daarna te onderzoeken of deze tolerantie veranderde, wanneer gelijktijdig met het verteeren van het vet een hoeveelheid insuline onderhuidsch werd gegeven.

Ten slotte moest worden nagegaan, of door het wegnemen van de alvleeschklier de tolerantie voor vet veranderde en of deze verandering in de tolerantie weer kon worden hersteld door het inspuiten van een voldoende hoeveelheid insuline.

Om een indruk te verkrijgen van de hoeveelheid insuline, die in het lichaam werkzaam was, werd steeds de grootte van het gehalte van het bloed aan suiker nagegaan met de werkwijze van HAGEDORN en JENSEN.

DE STOFWISSELING DER VETTEN.

Het hoofdstuk over de vetstofwisseling is, evenals de meeste hoofdstukken uit de medische chemie, rijk aan veel bestreden veronderstellingen.

Wanneer wij den weg vervolgen, die het vet in het lichaam heeft af te leggen, wanneer het met het voedsel wordt opgenomen, dan hebben wij ons allereerst bezig te houden met de vraag, of er in de mondholte vet gesplitst wordt.

Lipase in speeksel.

Over het voorkomen van een vetsplitsend enzym in speeksel is men het nog lang niet eens.

Door A. PELUFFO [1] zou vetsplitsend vermogen van het speeksel met zekerheid zijn aangetoond, door middel van de druppelteller, zoowel bij den mensch als bij den hond. Verder geeft PELUFFO aan, dat de werking opgeheven wordt door natriumfluoride of thymol. De grootste werkzaamheid zou liggen bij een p_H. 6-9, terwijl het enzym bij 65 gr. C. wordt vernield. In tegenstelling met de lipase uit het sap van de alvleeschklier is die in speeksel bestand tegen chinine.

Verder werd door K. SCHEER [2] duidelijk lipase in het speeksel van den mensch aangetoond, welk enzym bij 65 gr. C. vernield wordt, terwijl de grootste werkzaamheid ligt bij p_H. 7. Deze onderzoeker meende, dat de speekselipase een beteekenis zou hebben voor de mondreiniging. Niettegenstaande deze onderzoekingen vindt men toch vermeld in het „Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten" van S. J. THANNHAUSER (BERGMANN. München, 1929) „Die Fette welche mit der Nahrung aufgenommen werden, werden in der Mundhohle chemisch nicht verändert".

In het „Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie" van A. BETHE e.a. (SPRINGER. 1928) wordt over de mogelijkheid van het voorkomen van een vetsplitsend enzym in speeksel gezwegen.

Het is echter meer dan waarschijnlijk, dat een klein deel van het vet uit het voedsel in den mond gesplitst kan worden.

In ieder geval is deze splitsing practisch van geen belang, zoodat men mag aannemen, dat het vet chemisch onveranderd in de maag aankomt. Of hier een splitsing van het vet, misschien zelfs opnemen, plaats heeft, is een vraag die vervolgens aan de orde komt.

Door verschillende onderzoekers is het voorkomen van een lipase

---

[1] A. PELUFFO. C. R. Soc. Biol. 100. 115/116. 1928.

[2] K. SCHEER. Klin. Wschr. 7. 163/65. 1927.

Lipase in maagsap.

in maagsap aan de uitgesneden maag aangetoond. (F. HEINSHEIMER [1], M. HULL en W. KEETON [2], M. TAKATO [3].) Niettemin ontkende W. BOLDYREFF [4] ten stelligste het voorkomen van lipase in zuiver maagsap.

Een tusschenweg bewandelt A. CLEMENTI [5], die meent, dat het maagsap wel het vermogen heeft om vet te splitsen, maar dat dit te danken zou zijn aan het zoutzuur.

Later heeft A. CLEMENTI beweerd, dat de maag alleen vet kan splitsen, wanneer er bloed in aanwezig is, een opvatting, die gedeeld wordt door zijn landgenooten C. CONSTANZI en S. ANTONUCCI [6].

Daar het echter bekend is, dat darminhoud terug kan vloeien in de maag, ligt het voor de hand, dat veel onderzoekers zich de vraag hebben voorgelegd: Is de lipase, die men in maagsap vindt, misschien afkomstig uit de alvleeschklier of uit het darmslijmvlies?

Om te bewijzen, dat de maaglipase niet dezelfde is als de steapsine uit de alvleeschklier, toonde E. LAQUEUR [7] aan, dat de eerste niet door gal wordt geactiveerd.

Deze bevinding is echter tegengesproken en HAMMARSTEN vermeldt in zijn leerboek uitdrukkelijk, dat glycocholzuur de sterkte van de werking der maag-lipase wel doet toenemen.

WILLSTÄTTER en MEMMEN [8], die een nauwkeurig onderzoek naar den aard van het vetsplitsend enzym in de maag hebben ingesteld, gingen na, bij welke reactie de grootste werkzaamheid wordt gevonden. Bij dit onderzoek bleek spoedig, dat deze zeer afhankelijk is van de aanwezigheid van bijkomstige stoffen. Voor de z.g. ruwe maaglipase ligt de grootste werkzaamheid bij p_H. 4-5, terwijl na zuiveren met pijpaarde en glycerinebevattende ammoniakale phosphaatoplossing de meest gunstige redactie is verschoven naar p_H. 8,6. Deze onderzoekers komen dan ook tot de slotsom: „Für die Annahme der Verschiedenheit von Magenlipase und Pankreaslipase der untersuchten Tierart ist keine Stütze geblieben". (Voor volledige literatuur over maaglipase, zie C. OPPENHEIMER. „Die Fermente". II. 5. Aufl. 1924. blz. 487-489.)

Als vaststaand kan men wel aannemen, dat onder bepaalde om-

---

[1] F. HEINSHEIMER. Dtsch. med. Wschr. 32. 1194. 1906.
[2] M. HULL en W. KEETON. Journ. o. Biol. Chem. 32. 127. 1017.
[3] M. TAKATO. Tohohu. Journ. o. Exp. Med. 2. 209. 1921. Zeitschr. f. klin. Med. 98. 120. 1924.
[4] W. BOLDYREFF. Ergeb. d. Physiol. 11. 140. 1911.
[5] A. CLEMENTI. Arch. di fisiol. 21. 471. 1923.
[6] C. CONSTANZI en S. ANTONUCCI. Arch. di farmac. sperim. e scienze. 40. 220. 1925.
[7] E. LAQUEUR. Hofmeister's Beiträge. 8. 281. 1911.
[8] WILLSTÄTTER en MEMMEN. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 129. 1, 133 en 247. 1923.

standigheden vet in de maag kan worden gesplitst; hierbij is van groote beteekenis in welken toestand het vet in de maag aankomt. Wanneer geëmulgeerd vet in de maag wordt gebracht (zooals b.v. bij melkvoeding), dan kan een aanzienlijk deel daarvan gesplitst en opgenomen worden. (O. WEISS [1] en W. LAMB [2].)

Voor het vet, dat niet geëmulgeerd wordt opgenomen, is deze splitsing veel geringer, meestal practisch van geen beteekenis; zoo toonde F. DELOUGNE [3] aan, dat na dichtbinden van den pylorus, geen noemenswaardige hoeveelheid in de maag wordt opgenomen.

Verder is niet met zekerheid bekend, of deze lipase door het maagslijmvlies wordt afgescheiden, dan wel afkomstig is uit den dunnen darm: m.a.w. het bestaan van een echte maaglipase is niet met zekerheid aangetoond (voor volledige literatuur over maaglipase, zie C. OPPENHEIMER. Die Fermente. II. 5. Aufl. 1924. S. 487-489).

Over de wijze waarop het vet in den darm wordt opgenomen, heerscht nog geen eenstemmigheid. „Das Problem, wie die Fette resorbiert werden, ist eine der viel umstrittenen Fragen der Physiologie", zoo begint F. VERZÁR zijn verhandeling over de vetopslorping in de Ergebnisse der Physiologie, No. 32, 1931. Vetten in den darm.

De strijd nu gaat voornamelijk over de vraag: worden de vetten in den darm als zoodanig opgenomen, of gaat er een splitsing aan vooraf in glycerine en vetzuur?

In den ontwikkelingsgang van onze kennis omtrent de vetopslorping in den darm, kan men het werk van E. PFLÜGER [4] als een mijlpaal beschouwen; vóór het verschijnen van de mededeelingen van PFLÜGER was men in het algemeen de meening toegedaan, dat vetten als een emulsie worden opgenomen; onder den invloed van PFLÜGER echter namen de meeste onderzoekers aan, dat het opslorpend epithelium alleen het vermogen zou hebben, om de splitsingsproducten van het vet op te nemen.

Zoo vindt men in het „Lehrbuch der Physiologie" van J. MUNK van 1897 over de vetopslorping geschreven: „Gleich-wie andere Protoplasmen (Amoeben, Leucocyten) feine Fett-tropfchen aufnehmen und nach kürzerer oder längerer Zeit wieder frei geben, so dürfte dies auch bei dem Protoplasma des Zottenepithels der Fall sein. Die Zottenepithelien resorbieren wie auch die mikroskopische Beobachtung lehrt, das fein emulgierte Fett, wobei Bewegungen ihres Protoplasmas zur Beförderung des Fettes aus den Zellen in das Zottenparenchym beiträge. Die unzweifelhaft die Fettresorbtion fördernde Wirkung der Galle, auch die des Pankreassaftes ist dahin

---

[1] O. WEISS. Pfluger's Arch. 144. 540. 1912.
[2] W. LAMB. Journ. o. Physiol. vol. 40. 1910.
[3] F. DELOUGNE. Arch. f. exp. Pathol. und Pharmac. 159. 131. 1931.
[4] E. PFLÜGER. Arch. f. d. ges. Physiol. 80. 131. 1900.

zu deuten, dasz jene Säfte auf die Epithelien einen Reiz ausüben bezw. deren Protoplasma zu den für die Stoffaufnahme erförderlichen Bewegungen anregen."

Verder zegt hij, dat op deze wijze dus ook bewezen is, dat het darmepitheel vetten en vetzuren kan opnemen zelfs in vasten toestand, wanneer het smeltpunt hooger ligt dan de lichaamstemperatuur.

PFLÜGER merkt hierbij op, dat men zoo even gemakkelijk bewijzen kan, dat suiker als een vaste stof door de epitheelcellen van den darm wordt opgenomen, omdat het smeltpunt nog veel hooger ligt dan de lichaamstemperatuur.

In het „Lehrbuch der Physiologischen Chemie" van HAMMARSTEN van 1899 (4e Auflage) vindt men nog: „als die unvergleichlich wichtigste Form für die Resorption der Fette betrachtet mann allgemein die Emulsion. Die Annahme dasz das Fett hauptsächlich als Emulsion resorbiert wird, ist teils in dem reichlichen Vorkommen von emulgiertem Fett im Chylus nach Fettnahrung und teils darin begründet, dasz mann nach einer solchen Nahrung oft eine Fettemulsion in den Darm findet."

PFLÜGER [1] nu sprak in 1900 voor het eerst de meening uit, dat vet alleen kan worden opgenomen door het darm-epithelium, nadat het gesplitst is in glycerine en vetzuur. Hij steunde daarbij op de volgende feiten:

1. het is nog nooit gelukt om histologisch aan te toonen, dat de epitheel-cellen van den darm vaste deeltjes opnemen uit een suspensie die men in den darm brengt, zelfs niet bij de allerfijnste verdeeling.

2. PFLÜGER kon door microscopisch onderzoek van darmvlokken na een vetmaaltijd aantoonen, dat de basis der epitheelcellen rijk is aan vet-druppeltjes, terwijl het naar het lumen gekeerde deel van de cel glashelder blijft. Dit aantoonen van de vet-druppeltjes gebeurde door middel van osmiumzuur. Na het onderzoek van ROSSI [2] die aantoonde, dat eiwitstoffen de vet-druppeltjes kunnen „maskeeren", zoodat deze met osmiumzuur niet meer zwart gekleurd worden, is aan een dergelijke bevinding niet veel waarde meer te hechten.

   Trouwens door CUNEOT werd bij het darm-epithelium van Crustaceeën juist het tegenovergestelde gevonden, nl. veel vetdruppeltjes in het naar de darmholte gekeerde deel van de cel en geen aan de basis.

---

[1] E. PFLÜGER. Arch. f. d. ges. Physiol. 80. 131. 1900.

[2] O. ROSSI. Arch. di Fisiol. 4. 429. 1909.

L. KREHL [1] deed onder leiding van R. ALTMANN een soortgelijk onderzoek, maar hij gebruikte alkohol als fixatie-middel; hierin kunnen vet-druppeltjes oplossen, zoodat het onderzoek waardeloos is.

3. Door O. STRECKER [2] was aangetoond, dat taurocholzuur het vermogen heeft om vet en vetzuren op te lossen.

MARCET [3] had aangetoond, dat de vetzuren uit schapenvet oplossen in schapengal, nadat ze door verwarmen vloeibaar gemaakt waren.

B. MOORE en D. ROCKWOOD [4] wezen op het voorkomen van stoffen in de gal buiten de galzuren, die in nog veel sterkere mate het vermogen zouden bezitten om vetzuren op te lossen.

Waarom nu, zoo vraagt PFLÜGER zich af, heeft de natuur het lichaam uitgerust met het vermogen om onoplosbare vetten om te zetten in oplosbare zeepen en glycerine. Waartoe zou het taurocholzuur anders dienen, ware het niet om de overmaat vetzuur, die door het alkali uit den darm niet kan worden omgezet in zeep, toch op te lossen. Men kan hierop slechts een antwoord geven, nl. dat vet als zoodanig niet door de epitheelcellen van den darm kan worden opgeslorpt, maar alleen nadat het in opgelosten toestand is gebracht. Dus, besluit PFLÜGER hieruit, is het noodig, dat al het vet eerst gesplitst wordt in glycerine en vetzuur, terwijl hij de mogelijkheid om vet als zoodanig op te lossen geheel niet overweegt.

Wanneer men de stelling wil verdedigen, dat het darm-epithelium het vet alleen maar opnemen kan na voorafgaande splitsing in glycerine en vetzuur, dan is het allereerst noodig om aan te toonen, dat de darm het vermogen bezit om vetten te splitsen en in de tweede plaats, dat de cellen het vermogen bezitten om deze stoffen weer op te bouwen tot vet, omdat men vet terugvindt in den ductus thoracicus. Wanneer men beide vragen positief kan beantwoorden, dan wordt het meer dan waarschijnlijk, dat vet alleen na ontleed te zijn kan worden opgeslorpt, omdat men, teleologisch denkend, zich toch de vraag zal voorleggen, waartoe anders die processen? Zekerheid echter heeft men pas, na aangetoond te hebben dat de darm vet als zoodanig niet opneemt.

Dat de darminhoud (pancreassap en gal) vet kan splitsen, is buiten alle twijfel. Dit wordt bewezen door proeven, waarbij men vetzuur-aethyl-esters (O. FRANK [5], J. MÜLLER en H. MURSCHHAUSER [6]) en

---

[1] L. KREHL. Arch. f. Anat. und Physiol. 1891. S. 97.
[2] O. STRECKER. Liebig's Annal. Bd. 65. 29. 1848.
[3] J. MARCET. Proc. of the Royl. Soc. 9. 306. 1858.
[4] B. MOORE en D. ROCKWOOD. Journ. o. Physiol. 21. 58.
[5] O. FRANK. Zeitschr. f. Biol. 36. 568. 1898.
[6] J. MÜLLER en H. MURSCHHAUSER. Bioch. Zeitschr. 78. 63. 1916.

vetzuur-glycol-esters (H. H. FRANCK [1]) in den darm bracht en waarbij men glyceriden terugvond in de lymphe van den ductus thoracicus. Ook weet men met zekerheid dat de epitheelcellen van den darm uit glycerine en vetzuur vet kunnen opbouwen. Door J. MUNK en vooral ook door O. FRANK [2] is aangetoond dat bij voeding met veel vetzuur, een sterk toenemen van het vetgehalte in de lymphe van den ductus thoracicus wordt gevonden, al blijft het nog een raadsel, hoe deze cellen in betrekkelijk korten tijd aan een zoo groote hoeveelheid glycerine komen.

Verder toonde O. FRANK in samenwerking met A. ARGYRIN [3] aan, dat bij voeding met monoglyceriden in den ductus thoraricus triglyceriden worden teruggevonden. Hij meende hieruit te mogen besluiten, dat de monoglyceriden eerst worden afgebroken om de noodige vetzuren te verkrijgen voor de vorming van triglyceriden, waarbij dus glycerine over blijft.

Mijns inziens heeft men niet het recht om uit deze proef zonder meer een dergelijke gevolgtrekking te maken. Evenals men in de eerste proef van FRANK de vraag onbeantwoord liet: „Vanwaar die glycerine?", zou ik ook hier de vraag: „Vanwaar die vetzuren?", nog open willen laten en zeker niet een argument hierin vinden voor de stelling: dat de darm het vet ontleedt tot glycerine en vetzuur alvorens het op te nemen.

Wel staat na deze beide proeven van FRANK vast, dat de darm het vermogen heeft om vet op te bouwen.

Er blijft dus nog over om aan te toonen, dat de darm geen vet als zoodanig opneemt, waarbij men dus de volgende mogelijkheden moet overwegen:

1. De darm neemt het vet op als emulsie (de oude meening), dus onopgelost.
2. De darm neemt het vet als zoodanig op, maar in opgelosten toestand.
3. De darm neemt geen vet als zoodanig op, maar alleen vetzuur en glycerine.

Dat de epitheelcellen van den darm geen vaste stoffen opnemen, wordt algemeen als zeker aangenomen, na de histologische proeven met suspensies in den darm. Daardoor wordt het ook waarschijnlijk, dat deze cellen geen vetbolletjes opslorpen. Dit laatste, dat de epitheelcellen van den darm geen vet in den vorm van een emulsie opnemen, mag wel als bewezen worden geacht na de proeven van A. COHN-

---

[1] H. H. FRANCK. Münch. med. Wschr. 65. 1216. 1918.
[2] O. FRANK. Zeitschr. f. Biol. 36. 568. 1898.
[3] O. FRANK en A. ARGYRIN. Zeitschr. f. Biol. 59. 143. 1912.

STEIN [1], A. v. FETEKE [2], W. R. BLOOR [3] e.a., die aantoonden, dat vetten, die door lipase niet of zeer moeilijk worden ontleed, zooals lanoline, niet door het darm-epithelium worden opgenomen, ook al geeft men dit vet in den vorm van een zeer fijne emulsie.

Bovendien heeft nog nooit iemand vetdruppeltjes door de staafjeszoom der epitheelcellen zien gaan (B. MOORE en D. ROCKWOOD).

Bij het overwegen van de tweede mogelijkheid, dient men eerst te weten, of vet als zoodanig in den darm *kan* worden opgelost. Dit nu is zeker het geval.

O. FÜRTH vermeldt in zijn „Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie" uitdrukkelijk, dat vetten oplosbaar zijn in een mengsel van zeepen, cholesterine en galzure zouten.

Ook STRECKER [4] toonde aan, dat taurocholzuur vet kan oplossen. Of de epitheelcellen van den darm het vet in opgelosten toestand opnemen, of dat het opslorpen alleen plaats heeft na een voorafgaande ontleding, of dat beide naast elkaar voorkomen, is tot nu toe nog niet met zekerheid aangetoond.

Een groot aantal proeven is hierover gedaan met dichtgebonden darmlissen. Volgens O. FÜRTH zijn deze waardeloos, omdat men uit een dergelijke onphysiologische proefneming geen gevolgtrekkingen kan maken omtrent physiologische processen. „Trotz aller Mühe und Sorgfalt war aber die Resorbtionsleistung einer solchen Darmschlinge im Vergleiche zu der physiologischen Leistung des intakten Darmes eine so geringfügige, dasz ich alles Vertrauen zu der Methode der abgebundenen Darmschlingen gründlich verloren habe und nur die Tierhekatomben beklagen kann welche dieselbe gekostet hat, und, trotz meiner Warnung, auch sicherlich im Zukunft noch kosten wird", zegt hij op bladzijde 341 van zijn leerboek.

YAMAKAWA en FUJINAGA [5] meenden te kunnen aantoonen, dat na dichtbinden van het ileum, vet, in den dikken darm gebracht, volledig werd opgeslorpt, dus zonder een voorafgaande splitsing, omdat het vet zoodoende niet door antiperistaltiek in den dunnen darm kon teruggaan.

F. VERZAR en A. KUTHY [6] konden deze bevinding niet bevestigen en vonden bijna al het vet weer terug.

E. MELLANBY [7] ging uit van de veronderstelling, dat het darmslijmvlies van de kat geen lipase afscheidt; hij zag, dat geëmulgeerd vet uit het duodenum opgenomen werd na dichtbinden van den uit-

---

[1] A. COHNSTEIN. Arch. f. Anat. u. Physiol. 30. 1899.
[2] A. v. FETEKE. Pflüger's Arch. 139. 211. 1911.
[3] W. R. BLOOR. Journ. a. Biol. Chem. 15. 105. 1913.
[4] O. STRECKER. Liebig's Annal. 65. 29. 1848.
[5] YAMAKAWA en FUJINAGA. Tohoku journal exp. med. 14. 265. 1929
[6] F. VERZAR en A. KUTHY. Ergeb. der Physiol. 32. 1931.
[7] E. MELLANBY. Journ. of physiologie. 64. 5 en 33. 1928.

voergang van de alvleeschklier. Hij meende hieruit te mogen besluiten, dat het darm-epithelium ook vet kan opnemen zonder dat het gesplitst is. VERZAR en KUTHY toonden echter wel degelijk het voorkomen van darmlipase bij de kat aan.

Al is het dus nog steeds niet *bewezen*, dat vet alleen gesplitst kan worden opgenomen, toch is dit wel als vaststaand te beschouwen. Bijna alle onderzoekers huldigen dan ook de stelling, dat al het vet in den darm eerst wordt ontleed, alvorens het wordt opgenomen door het darm-epithelium.

Wanneer men aanneemt, dat vet alleen wordt opgenomen als glycerine en vetzuur, dan blijft er nog de vraag: hoe wordt dit vetzuur opgeslorpt, omdat vetzuren als zoodanig onoplosbaar zijn.

PFLÜGER meende, dat door de alcalische reactie in den darm de onoplosbare vetzuren zouden worden omgezet in oplosbare zeepen, die gemakkelijk door de epitheelcellen van den darm zouden worden opgenomen. Nu is echter in den lateren tijd door een reeks van onderzoekingen komen vast te staan, dat de reactie van den darminhoud in het bovenste deel van den dunnen darm niet alcalisch is maar zwak zuur of neutraal [1].

Volgens het onderzoek van A. JARISCH [2] is Na-oleaat bestendig boven p_H. 8,8, Na-palmitaat boven p_H. 9,1 en Na-stearaat boven p_H. 9,0. Hieruit volgt dus, dat de zeepen niet bestendig zijn bij de reactie die er in den darm heerscht en het vet dus niet in den vorm van zeep kan worden opgeslorpt. Daarna verscheen er een mededeeling van H. WIELAND [3], die aantoonde, dat de vetzuren met desoxycholzuur verbindingen kunnen aangaan, die WIELAND *CHOLEINE-ZUREN* noemde, welke stoffen in water goed oplosbaar zijn.

F. VERZAR en A. KUTHY [4] toonden aan, dat geëmulgeerd vetzuur met taurocholzuur- en glycocholzuur-natrium een additie-product kan vormen, dat nog bestendig is bij een p_H. hooger dan 6,2 en gemakkelijk het halfdoorlatende vlies kan passeeren.

---

[1] J. LONG en F. FENGER. J. Amer. Chem. soc. 39. 1278. 1917.
OKADAI en ARAI. J. o. biol. Chem. 51. 135. 1922.
F. S. BISSEL. Journ. amer. med. Assoc. 75. 1638. 1920.
Mc. CLENDON. Journ. o. Physiol. 38. 191. 1922.
G. SCHAUDT. Biochem. Zeitschr. 166. 136. 1925.
KOSTYAL. Magy. orv. Arch. 27. 286. 1926.
DANNINGER. Pflüger's Arch. 220. 430. 1928.
GRAHAM en EMERY. Journ. o. lab. a. clin. Med. 13. 1097. 1928.

[2] A. JARISCH. Bioch. Zeitschr. 134. 163. 1922.

[3] H. WIELAND en REVERY. Zeitschr. f. physiol. Chem. 140. 189. 1924.
en SORGE. ibidem. 97. 1. 1916.
en STENDER. ibidem. 106. 184. 1919.

[4] F. VERZAR en A. KUTHY. Ergeb. d. Physiol. 32. 1931.
Biochem. Zeitschr. 205. 367. 1929.
ibidem. 210. 264 en 281. 1929.

Over de juiste samenstelling van deze verbindingen is men het nog lang niet eens.

Volgens WIELAND verbinden zich 1 molecuul vetzuur met 8 mol. galzuur, terwijl VERZAR en KUTHY berekenden, dat 1 mol. vetzuur zich met slechts 3 mol. galzuur verbindt.

In ieder geval is de hoeveelheid galzure zouten, die op deze wijze noodig is, veel grooter, dan de hoeveelheid die met de gal per dag in den darm wordt uitgestort.

Wanneer de mensch per dag 50 Gr. vet opneemt op de wijze zooals die wordt voorgesteld door VERZAR en KUTHY, dan is hiervoor noodig 240 Gr. glycocholzuur, terwijl er hoogstens 1,5 L. gal wordt afgescheiden, die 1 tot 2% galzuren bevat, dat wil dus zeggen hoogstens 30 Gr. galzuur.

VERZAR en KUTHY vonden nu bij proeven met honden, waarbij de ductus choledochus was dichtgebonden en een bepaalde hoeveelheid vetzuur en Na-taurocholaat werden toegediend, dat er veel meer vetzuur werd opgeslorpt, dan men berekenen kan uit de hoeveelheid taurocholzuur.

Daarom stelden deze onderzoekers de theorie op, dat de galzuren worden geadsorbeerd aan het slijmvlies van den darm en zoodoende telkens vetzuren kunnen binden en weer afstaan. Deze veronderstelling werd gesteund door de volgende waarneming: wanneer men den inhoud van den darm uitwascht, vindt men in deze vloeistof minder galzuren, dan wanneer men dezelfde proef herhaalt na het slijmvlies te hebben afgekrabd. Verder vindt men in het slijmvlies van den darm steeds galzuur, ook na dichtbinden van den ductus choledochus, niettegenstaande galzure-zouten goed oplosbaar zijn en gemakkelijk diffundeeren.

O. FÜRTH en E. SCHÜLL[1] meenen de oorzaak voor het feit, dat de gal meer vetzuur kan oplossen dan men in vitro met Na-glycocholaat kan aantoonen, te moeten zoeken in het lecithine-gehalte van de gal.

Theorie van TANGL en BEREND.

Door H. TANGL en N. BEREND is in den laatsten tijd een nieuwe theorie opgesteld over de wijze, waarop de vetzuren door het darmepithelium worden opgeslorpt.

Het voorkomen van onverzadigde vetzuren in het lichaam is reeds geruimen tijd bekend.

E. HARTLEY[2] vond geringe hoeveelheden linolenzuur in de lever.

HERDUSCHKA en STEINRÜCK[3] toonden groote hoeveelheden onverzadigde vetzuren aan in het paardenvet, terwijl BOSMAN en MERTEN[4] hetzelfde vonden in ganzenvet.

---

[1] O. FÜRTH en E. SCHÜLL. Biochem. Zeitschr. 222. 430. 1930.

[2] E. HARTLEY. H. o. Physiol. 36. 17. 1907; 38. 353. 1909.

[3] HERDUSCHKA en STEINRÜCK. H. for pract. Chem. 2. 102 en 241. 1921.

[4] BOSMAN en MERTEN. Zeitschr. f. Nahrungsmitt. 43. 101. 1922.

Verder toonde W. BLOOR [1] de aanwezigheid van onverzadigde vetzuren in vetweefsels, lever- en spierweefsel aan.

Het lag dus voor de hand aan te nemen, dat de onverzadigde vetzuren een rol spelen bij de stofwisseling van het vet.

J. JOANNOVICS en P. PICK [2] vonden bij een hond, die gevoed werd met levertraan, een groot deel van het vet terug in de lever; het bleek hierbij echter dat dit levervet een veel grooter jodium-getal had dan de levertraan, wat er dus op zou wijzen, dat die onverzadigde vetzuren in het lichaam waren ontstaan.

HARTLEY en BLOOR [3] vergeleken het jodium-getal van het vet uit vetweefsel en uit de organen van eenzelfde dier en vonden het jodiumgetal van het vet uit het vetweefsel aanmerkelijk grooter dan van het vet uit de organen.

Steunende op deze feiten bouwde LEATHES [4] de theorie op, dat vetten alvorens verbrand te worden, eerst in de lever onverzadigd worden gemaakt.

TANGL en BEREND [5] gingen na, waar in het lichaam dit onverzadigd-maken plaats heeft en legden zich daarbij eerst de vraag voor: heeft de darm misschien het vermogen om vetten onverzadigd te maken.

Daartoe brachten zij in een dialyseer-huls, tri-oleine, gal en alvleeschklier-sap en bepaalden na 24 uur de grootte van het gehalte aan onverzadigde vetzuren in de buitenstaande vloeistof. Het bleek nu, dat een aanzienlijke hoeveelheid onverzadigde vetzuren was uitgetreden.

Hiermede was dus in vitro aangetoond, dat uit vet, door alvleeschkliersap en gal, onverzadigde verbindingen kunnen ontstaan, die oplosbaar zijn en die gemakkelijk door het half-doorlatende vlies gaan.

Later is door beide onderzoekers nagegaan, waarop deze werking eigenlijk berust, doordat zij afwisselend verschillende van deze stoffen samenbrachten in de dialyseerhuls.

Het bleek daarbij, dat dit onverzadigd-maken een werking is van gal en alvleeschkliersap samen, waarbij de gal hoofdzakelijk het werkzame bestanddeel bevat. Het alvleeschklier-sap alleen is onwerkzaam, maar doet de werking van de gal sterk toenemen.

Daar verder het vermogen om vetten onverzadigd te maken na koken van het mengsel sterk vermindert, nemen beide onderzoekers aan, dat men met een werking van een enzym te doen heeft [6].

---

[1] W. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 68. 33. 1926; 72. 327. 1927; 80. 443. 1928.

[2] J. JOANNOVICS en P. PICK. Wien. klin. Wschr. 16. 573. 1910.

[3] E. HARTLEY en W. BLOOR. Journ. o. Physiol. 32. 734. 1903.

[4] LEATHES. Journ. o. Physiol. 38. 370. 1909.

[5] H. TANGL en N. BEREND. Biochem. Zeitschr. 220. 234. 1930.

[6] H. TANGL en N. BEREND. Bioch. Zeitschr. 232. 181. 1930.

Uit al deze onderzoekingen blijkt de groote beteekenis, die het alvleeschklier-sap heeft voor een goede vertering van het vet, een feit dat reeds bekend was sedert de klassieke waarneming van CL. BERNARD. Beteekenis van de alvleeschklier.

Bij konijnen mondt de afvoergang van lever en galblaas ongeveer 30 cM. dichter bij de maag uit in den darm dan de afvoerbuis van de alvleeschklier.

De zooeven genoemde beroemde onderzoeker maakte er opmerkzaam op, dat na een vetrijken maaltijd, de lymphe-vaten van den darm weliswaar beneden de uitmonding van de alvleeschklierbuis een melkachtigen inhoud hadden, m.a.w., dat de darm daar vet opslorpte, maar dat daarboven geen troebelheid van de lymphe was waar te nemen.

Verder blijkt deze beteekenis uit de waarneming van TH. BRUGSCH [1], die bij menschen met een ontaardings-proces in de alvleeschklier vond, dat het vet uit het voedsel niet meer volledig werd opgenomen.

Is het sap uit de alvleeschklier *onmisbaar* voor de vet-vertering? Reeds lang geleden werd door verschillende onderzoekers aangetoond, dat het afbinden van de uitvoerbuis van de alvleeschklier geen merkbaren invloed heeft op de vertering in den darm [2].

Deze meening is niet tegengesproken wat betreft het opslorpen van koolhydraten en eiwitstoffen, maar wel voor zoo ver zij het opnemen der vetten bedoelt.

Het duurde echter eenigen tijd, vóórdat het gelukte om honden waarbij men de alvleeschklier had weggenomen, over langeren termijn in het leven te houden. Zoodra dit gelukte, vonden de meeste onderzoekers dat de vetopslorping voor minstens 50 % had geleden [3].

ABELMANN merkte bovendien daarbij op, dat de stoornis in het vet-opslorpen veel geringer was, wanneer hij ergens in het lichaam een stukje van de alvleeschklier achterliet, zonder dat het secreet in den darm kwam. Hij meende, dat onder dergelijke omstandigheden de enzymen van het alvleeschkliersap door het bloed werden opgenomen en zoodoende weer aan den darm werden afgestaan.

Dezelfde meening was ook E. PFLÜGER [4] toegedaan, die tevens den weg, die het enzym zou afleggen nauwkeuriger meende te kunnen

---

[1] TH. BRUGSCH. Zeitschr. f. klin. Med. 58. 518. 1906.

[2] CL. BERNARD. C. R. d. l. Acad. d. Sciences. p. 470 et 499. 1856.
SCHIFF. Arch. d. Physiol. 1892. p. 623.
HEDON. Arch. d. Physiol. 1897. p. 623.
FREDERICKS. Wagner's Handworterbuch der Physiol. Bd. 3. S. 842.

[3] MINKOWSKI en V. MEHRING. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmac. 1890. blz. 370.
ABELMANN. Inaug. Diss. Dorpat. 1890.
DE DOMINICIS. Atti Congr. Intern. Med. vol. 3. 39. 1894.
HÉDON. Arch. d. Physiol. 1897. p. 622.

[4] E. PFLÜGER. Arch. f. d. ges. Physiol. 108. 123. 1905.

begrijpen, doordat hij meende te mogen aannemen, dat het alvleeschklier-enzym door het bloed naar de lever zou worden gevoerd en van hieruit met de gal in den darm zou worden uitgestort.

Belangrijke proeven over de beteekenis van de alvleeschklier voor de vetvertering zijn genomen door U. LOMBROSO [1], die bij een hond den ductus Wirsungi en den ductus Santorini dubbel dichtbond en doorsneed en daarbij zag dat het vetopnemen in den darm volkomen normaal bleef gaan, ook wanneer een deel van de alvleeschklier onder de huid werd geplant; werd echter de klier geheel weggenomen, dan kwamen duidelijke stoornissen in de vet-vertering aan den dag.

Hij besloot uit deze proeven, dat de alvleeschklier het vet-opslorpen begunstigt niet alleen door het afscheiden van het z.g. alvleeschklier-sap, maar bovendien nog op een andere wijze. Welke deze is, laat hij in het midden.

Beteekenis van de gal.

De groote beteekenis van de gal voor de vet-vertering heeft men pas goed ingezien nadat A. DASTRE [2] een proef deed, die veel overeenkomst vertoont met de klassieke proefneming van CL. BERNARD over de beteekenis van de alvleeschklier. DASTRE bond den ductus choledochus dicht en maakte een galblaas-fistel ongeveer in het midden van den dunnen darm. Het bleek hierbij nu, dat vet pas opgeslorpt werd, nadat de gal in den darm was uitgestort, wat ook deze onderzoeker evenals CL. BERNARD waarnam aan den melk-achtigen inhoud van de lymphe-vaten.

Daarmede in overeenstemming is de bevinding van TH. BRUGSCH [3], die bij menschen met een ontaardings-proces in de alvleeschklier waarnam, dat het vetopslorpen nog veel sterker was gestoord (soms bijna totaal was opgeheven) wanneer er bovendien nog een afsluiting van de galwegen bestond. Toch heeft men het inzicht in de beteekenis van de galzuren voor de vet-vertering in den darm, in den loop der tijden nog al eens moeten wijzigen. Reeds lang was bekend dat bij toestanden, waarbij de gal niet in den darm kan stroomen, het vetopslorpen belangrijk was gestoord.

Zoo vonden C. VOIT en F. ROHRMANN [4] dat bij dergelijke toestanden het vet-opnemen voor 40-50 % was afgenomen; J. MUNK [5] vond een vermindering van 70 %; HEDON en VILLE [6] een afnemen van soms 90%.

De beteekenis, die men aan de gal wil hechten voor de opslorping van het vet in den darm, is afhankelijk van de voorstelling, die men heeft omtrent de wijze waarop het vet in den darm wordt opgenomen.

---

[1] U. LOMBROSO. Pflüger's Arch. 112. 531. 1906.
[2] A. DASTRE. Arch. d. Physiol. 2. 315. 1890.
[3] TH. BRUGSCH. Zeitschr. f. klin. Med. 58. 518. 1906.
[4] C. VOIT en F. ROHRMANN. Pflüger's Arch. 29. 509. 1882.
[5] J. MUNK. Virchow's Arch. d. Physiol. 9. 606. 1897.
[6] HÉDON en VILLE. Arch. d. Physiol. 9. 606. 1897.

Wanneer men meent, dat het vet ongesplitst kan worden opgeslorpt, dan moet men zich voorstellen, dat door de gal het vet wordt opgelost, zoodat het opgenomen kan worden door de epitheel-cellen van den darm; wanneer men echter de theorie van PFLÜGER aanhangt, dat vet alleen wordt opgenomen als glycerine en vetzuur, dan stelt men zich de werking van de gal als volgt voor:
In de eerste plaats bewerkstelligen de galzuren een sterk emulsioneeren van het vet, dat van groote beteekenis is voor het inwerken van de lipase [1]; verder wordt de werking van dit enzym in groote mate versterkt door bestanddeelen van de gal (M. NENCKI, DASTRE, G. BRUNO, BABKIN, e.a.).

De onoplosbare vetzuren die daarbij ontstaan, worden door de galzuren in een oplosbare verbinding omgezet, de z.g. choleine-zuren.

Wanneer men ten slotte de meening van TANGL en BEREND is toegedaan, dan moet men zich voorstellen, dat na de ontleding in glycerine en vetzuren, deze laatsten door de gal onverzadigd worden gemaakt (waarbij het alvleeschklier-sap een activeerende werking heeft) en zoodoende omgezet worden in een oplosbaren en diffundeerbaren vorm.

Wanneer men zich voorstelt, dat de vetten eerst ontleed worden, vóórdat zij door het darm-epithelium worden opgeslorpt, dan moet men ook aannemen, dat deze cellen het vermogen bezitten om glycerine en vetzuur weer op te bouwen tot vet, omdat men vet terugvindt in den ductus thoracicus na een vetmaaltijd.

Veel moeite kost ons deze voorstelling niet, omdat men weet, dat enzymen in het algemeen zoowel opbouwend als splitsend werken.

Bovendien is deze bevorderende werking van de lipase met zekerheid door verschillende onderzoekers aangetoond [2].

Ten slotte toonde H. HAMSIK [3] nog aan, dat ook deze werking van de lipase sterk door galzuren wordt bevorderd, terwijl C. A. PEKELHARING [4] bewees, dat de werking van Calciumzouten een geheel andere is. Door $CaCl_2$ wordt het vet-opbouwend vermogen van de alvleeschklier-lipase verminderd, doordat het calcium met de vetzuren onoplosbare zeepen vormt. De werking van deze zouten op de vet-ontleding door middel van lipase is dus geen „activeeren" in den eigenlijken zin, zooals galzure-zouten dat doen, maar Calcium-zouten

---

[1] B. JENSEN. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1913. blz. 711.

[2] HANRIOT, J. KASTLE, A. LOEWENHART, O. MOHR en H. POTTEVIN, Annal. Inst. Pasteur. 22. 901. 1906.
H. TAYLOR. Journ. o. biol. Chem. 2. 87. 1906.
W. DIETZ. Zeitschr. f. physiol. Chem. 52. 279. 1907.

[3] H. HAMSIK. Zeitschr. f. physiol. Chem. 59. 1. 1909; 65. 232. 1910; 71. 238. 1911.

[4] C. A. PEKELHARING. Zeitschr. f. physiol. Chem. 81. 355. 1912.

bevorderen de vetsplitsing door lipase alleen, doordat ze met de vetzuren onoplosbare zeepen vormen.

Men kan dus wel aannemen, dat de lipase zoowel de ontleding van vetten als de vorming van deze uit vetzuren en glycerine bevordert, wat ook te verwachten is.

Vervoer van het vet.

Naar aanleiding van de oude waarneming, dat de lymphe in den ductus thoracicus een melk-achtig uiterlijk heeft na een vetmaaltijd, neemt men in het algemeen aan, dat het vet vanuit de epitheelcellen van de darmvlokken wordt afgegeven aan de lymphe van het centrale chylvat en van daaruit langs den ductus thoracicus in het bloed van de linker vena subclavia komt.

Bewezen is echter steeds nog niet, of *al* het vet langs dezen weg vervoerd wordt, of dat misschien ook een deel er van onmiddellijk aan het bloed wordt afgestaan; niettegenstaande het groot aantal proeven dat over dit onderwerp is gedaan, duurt de strijd aangaande deze vraag nog steeds voort.

MUNK en ROSENSTEIN [1] vonden bij een meisje met een lymphefistel aan het bovenbeen bij elephantiasis, dat 60% van het in den darm opgeslorpte vet teruggevonden kon worden in de lymphe, die uit de fistel stroomde. Zij meenden uit deze proef te mogen besluiten, dat een deel van het vet onmiddellijk kan overgaan in het bloed.

Toch geloof ik, dat men uit een dergelijke proefneming geen enkele gevolgtrekking mag maken aangaande de vraag: wordt *al* het vet uit de epitheelcellen van den darm in de lymphe uitgestort? In de eerste plaats, omdat men de samenstelling van de lymphe uit het periphere lymphe-vaatstelsel zeker niet gelijk mag stellen met die in den ductus thoracicus; in de tweede plaats omdat de mogelijkheid bestaat, dat het vet eenigen tijd in den darmwand wordt vastgehouden en later pas weer wordt afgestaan aan de lymphe (PFLÜGER).

J. MUNK en FRIEDENTHAL [2] zagen, dat na dichtbinden van den ductus thoracicus het vetgehalte van het bloed zesmaal toenam na een vetmaaltijd. Door een dergelijke proef (bovendien zijn er veel meer gedaan met dezelfde uitkomst) moet het wel als bewezen worden geacht, dat het vet vanuit de epitheelcellen van den darm kan overgaan in het bloed, althans in een on-physiologischen toestand; er blijft echter daarna nog de vraag te beantwoorden: gaat er onder normale omstandigheden vet van uit den darm onmiddellijk in het bloed over?

G. ERRICO [3] toonde aan, dat het vetgehalte van het bloed in de poortader in het „post-absorptieve stadium" steeds grooter is dan dat van het bloed uit de hals-ader.

---

[1] J. MUNK en ROSENSTEIN. Virchow's Arch. 123. 230 en 484. 1890.
[2] J. MUNK en FRIEDENTHAL. Zentralbl. f. Physiol. Bd. 4. 297.
[3] G. ERRICO. Arch. di Fisiol. 4. 513. 1908.

O. FÜRTH noemt de proeven van ERRICO in zijn leerboek als zeer belangrijk en vindt, dat deze proefnemingen het zeer waarschijnlijk maken, dat het vet vanuit den darm onmiddellijk in de bloedhaarvaten zou overgaan en langs de poortader naar de lever zou worden vervoerd.

Een groot bezwaar in deze proef vind ik echter hierin gelegen, dat ERRICO de grootte van het vetgehalte van het bloed van de hals-ader onderzocht, dus van aderlijk bloed dat zich boven de inmonding van den ductus thoracicus bevindt, terwijl toch het vet, dat hierdoor eventueel in het bloed zou worden gestort, onmiddellijk met de bloedstroom naar het hart wordt vervoerd; dit vet heeft dus geen onmiddellijken invloed op de grootte van het vetgehalte van het bloed van de hals-ader.

Belangrijk zou ik dezelfde proef pas gevonden hebben, wanneer ERRICO het bloed had onderzocht uit de bovenste holle ader of uit het rechter hart.

H. J. HAMBURGER [1] bond alle zichtbare lymphe-vaten van den darm dicht en kon waarnemen, dat een zeep-oplossing toch werd opgenomen.

Ook deze proefneming bewijst evenals die van MUNK en FRIEDENTHAL alleen, dat onder abnormale omstandigheden vetzuur onmiddellijk kan worden opgenomen door het bloed.

I. BANG [2] veronderstelde, dat alleen de vetzuren met lange koolstofketen hoofdzakelijk langs de bloedbaan zouden worden opgenomen.

Door verschillende andere onderzoekers werd aangetoond, dat er meer vet uit den darm wordt opgenomen, dan men terugvindt in de lymphe van den ductus thoracicus (ZAWILSKY [3], FRANK [4], WALTHER [5]).

Daartegenover staat de meening van A. V. FETEKE [6], die kon aantoonen, dat het grooter worden van het vetgehalte van het bloed niet buiten de foutengrens van de werkwijze valt, wanneer de ductus thoracicus en de lymphe-vaten van de buik waren doorgesneden. Verder kon V. FETEKE bij een andere proefneming al het vet terugvinden in de lymphe van den ductus thoracicus, dat door den darm was opgenomen.

Men ziet, ook hier weer lijnrecht tegenover elkaar staande meeningen en tegenstrijdige uitkomsten bij een zelfde proefneming.

Verder wordt het onderzoek nog aanzienlijk bemoeilijkt door de

---

[1] H. J. HAMBURGER. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1900. blz. 554.
[2] I. BANG. Biochem. Zeitschr. 91. 111. 1918.
[3] ZAWILSKY. Arbeiten Physiol. Instit. Leipzig. Bd. 11. 1876.
[4] O. FRANK. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1892. blz. 497 en 1894. blz. 297.
[5] WALTHER. ibidem. 1890. blz. 329.
[6] A. V. FETEKE. Pflüger's Arch. 139. 211. 1911.

waarneming van PFLÜGER [1], die er op wees, dat de darmwand het vet langen tijd kan vasthouden, waarna het later weer afgestaan wordt aan de lymphevaten.

Samenvattend kan men dus zeggen, dat het zeker niet als bewezen moet worden geacht, dat *al* het vet vanuit het darm-epithelium afgestaan wordt aan de lymphe van den ductus thoracicus; de mogelijkheid bestaat zeker, dat vet onmiddellijk overgaat in het bloed; of dit laatste bij normalen toestand voorkomt, daaromtrent kan men slechts veronderstellingen maken.

Vet in bloed.

In het bloed komt steeds, ook in nuchteren toestand, vet als zoodanig voor; lipaemie is dus een normaal voorkomend verschijnsel en wat men gewoonlijk met dien naam aanduidt, is dus eigenlijk hyper-lipaemie.

Toch is er een belangrijk verschil in de wijze waarop het vet in het bloed voorkomt na een vetmaaltijd en in nuchteren toestand.

A. NEUMANN en G. KREIDL [2] vonden na een vetmaaltijd bij ultramicroscopisch onderzoek van het bloed, talrijke glanzende korreltjes, de z.g. haemoconiën, die in nuchteren toestand niet aanwezig zijn. Verder kon worden aangetoond, dat deze haemoconiën afkomstig zijn alleen van het vet, dat door den ductus thoracicus in het bloed wordt uitgestort, terwijl het z.g. „nuchtere vet", dat men ultramicroscopisch niet kan waarnemen, zeer waarschijnlijk aan andere stoffen (misschien aan eiwitstoffen) gebonden voorkomt.

Op welke wijze nu verdwijnt het vet, dat na een vetmaaltijd in het bloed wordt uitgestort, weer daaruit?

1. Door overgaan in de weefsels.

NEUMANN en KREIDL meenen, dat de haemoconiën als zoodanig door den haarvatwand kunnen gaan, evenals de witte bloedcellen; dit verdwijnen van vetdruppeltjes uit het bloed zou dan voornamelijk plaats hebben in de lever, de milt en het beenmerg, waarbij de cellen, die tot het reticulo-endotheliale-stelsel behooren, de voornaamste werking zouden verrichten.

Dezelfde meening zijn S. BONDI en A. NEUMANN [3], E. NOBEL [4] en J. LEVA [5] toegedaan, terwijl T. RANSON [6] meent, dat de haemoconiën voornamelijk in de lever de bloedbaan verlaten.

Toch is een dergelijk proces niet bewezen, omdat men het nog nooit onder het microscoop heeft waargenomen. Ook de vergelijking

---

[1] E. PFLÜGER. Pflüger's Arch. 82. 360. 1900.

[2] A. NEUMANN en G. KREIDL. Zentralbl. f. Physiol. 21. 1907.
Wien. klin. Wschr. 1907.
Sitzungsber. Wien. Akad. Naturw. Klasse. Februar 1911. Bd. 120. III.

[3] S. BONDI en A. NEUMANN. Wien. klin. Wschr. 1910. blz. 734.

[4] E. NOBEL. Arch. f. Physiol. 134. 436. 1910.

[5] J. LEVA. Berl. klin. Wschr. 1909. blz. 8961.

[6] T. RANSON. Journ. o. Physiol. 7. 245. 1905.

met witte bloedcellen vind ik zeer gebrekkig, omdat deze laatste over enzymen beschikken, die de tusschencelstof van den haarvatenwand kunnen oplossen en zich zoo een weg banen, iets wat men van de haemoconiën niet mag verwachten.

Dat het vet voor een groot deel wordt afgezet in de weefsels is zeker, maar hoe dit gebeurt, of er een splitsing in glycerine en vetzuur aan voorafgaat, daarvan is niets bekend.

2. In de tweede plaats kan het vet uit het bloed *schijnbaar* verdwijnen door de z.g. „maskeering" (G. MANSVELD [1]), waarbij het vet waarschijnlijk wordt gebonden aan eiwitstoffen.

Door ROSSI is eveneens aangetoond, dat vetdruppeltjes in de darmcellen soms in een zoodanigen toestand kunnen voorkomen, dat zij zich niet meer kleuren met osmiumzuur.

3. Verder kan het vet uit het bloed verdwijnen doordat het ontleed wordt door de lipase, die in het bloed voorkomt. Lipase in bloed.

Het voorkomen van een vet-splitsend enzym in het bloed werd voor het eerst aangetoond door HANRIOT [2], die daarbij tevens meende waar te nemen dat deze lipase niet dezelfde is als de alvleeschklierlipase.

Evenals HANRIOT meent ook ARTHUS [3] dat deze lipase alleen monobutyrine splitst en zij spreken daarom van mono-butyrase.

Evenwel is door P. RONA en L. MICHAELIS [4] en G. IZAR [5] bewezen, dat ook tri-butyrine kan worden ontleed, terwijl reeds te voren door C. NEUBERG [6] aangetoond was, dat naast vet ook lecithine door de bloedlipase gesplitst wordt.

Veel onderzoekers hebben zich beziggehouden met de vraag, vanwaar deze lipase afkomstig is.

F. NEES [7] en W. FLEISCHMANN [8] zijn de opvatting toegedaan, dat zoowel de lymphocyten als de leucocyten het enzym bevatten, terwijl S. BERGEL [9] heeft aangetoond, dat alleen de lymphocyten het vermogen hebben om vet te splitsen.

L. CRANDALL en I. CHERRY [10] meenden te kunnen waarnemen, dat de bloed-lipase bij normale personen geen ware vetten kan split-

---

[1] G. MANSVELD. Zentralbl. f. Physiol. 20. blz. 21.

[2] HANRIOT. C. R. Soc. Biol. 48. 925. 1896. C. R. Acad. d. Science. 123. 753. 1896.
HANRIOT en CANNUS. C. R. d. l'Acad. d. Sciences. 124. 235. 1897.

[3] ARTHUS. Journ. d. Physiol. et Pathol. 4. 455. 1902.

[4] P. RONA en L. MICHAELIS. Biochem. Zeitschr. 31. 345. 1911.

[5] G. IZAR. Oppenheimer. Die Fermente. 1913. blz. 163.

[6] C. NEUBERG. Berl. klin. Wschr. 1907. blz. 54.

[7] F. NEES. Biochem. Zeitschr. 124. 156. 1921.

[8] W. FLEISCHMANN. Biochem. Zeitschr. 200. 25. 1928.

[9] S. BERGEL. Biochem. Zeitschr. 130. 533. 1922.

[10] L. CRANDALL en I. SHERRY. Proc. Soc. f. exp. biol. a. Med. 28. 572. 1931.

sen, hetgeen daarentegen wel het geval zou zijn bij lijders aan multiple sclerose; de juistheid van deze waarneming is tot nu toe nog niet nagegaan.

Belangrijke proeven over de herkomst van de bloedlipase nam K. HIRUMI [1].

Door J. WOHLGEMUTH [2] was reeds aangetoond, dat er na dichtbinden van de uitvoerbuis van de alvleeschklier een aanzienlijk toenemen plaats heeft van het diastase-getal van het bloed, totdat de kliercellen tengevolge van de stuwing te gronde gaan; dit toenemen van het gehalte van het bloed aan diastase komt tot uiting in de urine.

Naar analogie van deze proeven vond HIRUMI bij dichtbinden van den ductus Wirsungi, een toenemen van het gehalte van het bloed aan lipase, alleen met dit verschil, dat de lipase nooit overgaat in de urine.

Verder bleek hierbij, dat het lipase-gehalte van het bloed uit de vena pancreatico-duodenalis steeds grooter is dan dat uit het poortaderbloed, terwijl dit bloed weer meer lipase bevat dan het bloed uit de vena femoralis.

Door deze proeven wordt het zeer aannemelijk, dat de lipase, die in het bloed voorkomt, afkomstig is van de alvleeschklier; vele onderzoekers meenen, dat een groot deel van deze lipase vastgehouden wordt in de lever. Of het vet, alvorens opgenomen te worden door de weefsels, door de bloed-lipase eerst nog wordt gesplitst, daarvan is niets bekend.

4. De mogelijkheid bestaat, dat het vet het bloed verlaat met de gal of de urine.

Zoo meenden K. GLASSNER en S. SINGER [3] te kunnen aantoonen, dat er met de gal voortdurend vet wordt afgescheiden in den darm; deze hoeveelheid is echter zoo gering, dat men haar kan verwaarloozen.

Verder kan vet onder bepaalde omstandigheden door de nier worden afgescheiden; B. SCHONDORFF [4] nam waar, dat bij inspuiten van vet in een ader een duidelijk aantoonbare hoeveelheid vet en eiwit in de urine verschijnt. Men verwarre deze z.g. lipurie niet met chylurie, een toestand die alleen voorkomt wanneer er een verbinding tot stand is gekomen tusschen de lymphe-wegen en de urine-wegen. Onder normale omstandigheden wordt geen vet met de urine afgescheiden.

5. Ten slotte kan het vet uit het bloed verdwijnen, doordat

---

[1] K. HIRUMI. Biochem. Zeitschr. 139. 336. 1923.
[2] J. WOHLGEMUTH. Biochem. Zeitschr. 21. 381. 1909.
[3] K. GLASSNER en S. SINGER. Medizin. Klin. 1909. No. 51.
[4] B. SCHONDORFF. Pflüger's Arch. 117. 291. 1907.

het omgezet wordt in cholesterine, phosphatide, koolhydraat of eiwit.

Dat de stofwisseling der vetten nauw samenhangt met die der vetachtige stoffen is reeds lang bekend en men kan een overgang van vet in cholesterine of phosphatide wel bij voorbaat verwachten, omdat het toedienen van vet een toenemen van de hoeveelheid cholesterine en phosphatides in het bloed ten gevolge heeft, terwijl omgekeerd cholesterine-toedienen een toenemen van het vetgehalte van het bloed veroorzaakt.

Toch is er van een mogelijken overgang van vet in phosphatides niets met zekerheid bekend. Overgang vet in phosphatides.

J. B. LEATHES [1] neemt aan, dat de vetten vóór de verbranding eerst in de lever worden verwerkt, waarbij de vorming van phosphatides van groot belang zou zijn. Verder konden J. JOANNOVICS en P. PICK [2] aantoonen, dat het gehalte van de lever-phosphatides aan onverzadigde vetzuren ten nauwste samenhangt met het vet uit het voedsel.

W. R. BLOOR [3] beschouwt de lecithine niet alleen als een voorstadium van het orgaanvet, maar ook als een der voornaamste transport-vormen van vetzuren in het lichaam, waarbij de vorming van phosphatides bij de vetopslorping zou plaats hebben in de roode bloedlichaampjes.

In den allerlaatsten tijd is er in ons land een onderzoek verschenen, waarvan de uitkomsten er duidelijk op wijzen, dat bij koeien de vorming van melk-vet plaats heeft uit phosphatides.

P. ROODZANT [4] vond bij koeien, dat het lecithine-gehalte van het slagaderlijk bloed van de melk-klier veel grooter is dan dat van het aderlijke bloed; er moet dus een onttrekken van phosphatides uit het bloed plaats hebben in de melk-klier. Verder kwam bij dit onderzoek duidelijk aan het licht, dat het vetgehalte van de melk ten nauwste samenhangt met het gehalte van het bloed aan phosphatides, iets waarop reeds vroeger door B. SJOLLEMA [5] was gewezen.

Van een mogelijken overgang van vet in cholesterine is iets meer bekend. Dat er bij de voeding met vet regelmatig een toenemen voorkomt van gehalte van het bloed aan cholesterine, bewijst niet veel, sinds H. ARNDT [6] aantoonde, dat dit toenemen bij honden ver- Overgang vet in cholest.

---

[1] J. B. LEATHES. Problems in animal metabolism. London. 1906.
The Lancet. 1909. blz. 593.
and RAPER. The Fats. Sec. Edit. London. 1925.
and MEYER-WEDELL. Journ. o. Physiol. 38. proc. 38. 1909.

[2] J. JOANNOVICS en P. PICK. Wien. klin. Wschr. 23. 5731. 1910.

[3] W. R. BLOOR. Physiologic. Rev. 2. 92. 1923.

[4] P. ROODZANT. Dissert. Utrecht. 1931.

[5] B. SJOLLEMA. Voeding en melkproductie. Cultura. 1923.

[6] H. ARNDT. Zeitschr. f. exper. Med. 54. 391. 1927.

klaard kan worden door vrij-geven van cholesterine uit de voorraden (milt).

J. LIFSCHUTZ [1] heeft de meening uitgesproken, dat er in het lichaam voortdurend cholesterine zou gevormd worden door oxydatie van oliezuur, welk proces dan zou verloopen volgens het schema: $3C_{18}H_{34}O_2+O = 2C_{27}H_{46}O+H_2O$.

Als bewijsvoering voor deze stelling haalde hij aan, dat er in het lichaam steeds meer cholesterine met de gal verloren gaat, dan met het voedsel wordt opgenomen.

Van meer beteekenis is het werk van S. LEITES [2], die door het onderzoek van slag-aderlijk en aderlijk bloed bij alimentaire hyperlipaemie en hyper-lipoidaemie kon aantoonen, dat milt en longen cholesterine aan het bloed onttrekken, terwijl het verminderen van de hoeveelheid cholesterine in het bloed gepaard gaat met een toenemen van de hoeveelheid vet. Voorts kon hij waarnemen, dat het opnemen van vet uit het bloed door de lever gepaard gaat met een toenemen van het cholesterine-gehalte van het bloed in de lever-ader.

Daar nu verder door WALDVOGEL aangetoond was, dat de autolyse van de lever gepaard gaat met een toenemen van de hoeveelheid cholesterine, en door REICHER en ARTOM dat de lever bij doorstroomen met tri-olein, cholesterine vormt, staat de vorming van cholesterine uit vet in het organisme vrijwel vast.

Voor de omzetting van vet in koolhydraat, zie blz. 34.

De veranderingen, die het vet ondergaat, alvorens verbrand te worden, waarbij de energie vrijkomt, welke veranderingen men samenvat onder den naam intermediaire stofwisseling, worden besproken in het hoofdstuk over den samenhang van de stofwisseling der vetten met die der koolhydraten.

De Beteekenis van de lever voor de vetstofwisseling.

Hoewel uit de onderzoekingen van KNOOP, EMBDEN en vele anderen, de groote beteekenis van de lever voor de stofwisseling van het vet zeer duidelijk blijkt, zijn er toch nog onderzoekers, die daaraan twijfelen.

D. R. DRURY en F. MC. MASTER [3] deelen mede, dat 24 uur na het wegnemen van de lever bij konijnen, de verbranding van het vet weer normaal plaats heeft. Deze onderzoekers besluiten dan ook: „Evidently the liver plays no essential part in the breaking down of fat".

Dit onderzoek behoeft echter nog nadere bevestiging.

De Beteekenis van het centrale zenuwstelsel voor de vetstofwisseling.

Dat het centrale zenuwstelsel van beteekenis moet zijn voor de stofwisseling van het vet, kan men bij voorbaat verwachten, omdat men de beteekenis daarvan kent voor de stofwisseling van de kool-

---

[1] J. LIFSCHUTZ. Arch. f. Pharmac. 265. 350 en 265. 450. 1927.
[2] S. LEITES. Bioch. Zeitschr. 184. 273. 1927.
[3] D. R. DRURY en F. MC. MASTER. Journ. o. exper. Med. 49. 765. 1929.

hydraten (CL. BERNARD, 1854; ASCHNER, 1912) en men weet, dat beide processen nauw met elkaar samenhangen.

Verder wijzen in die richting verschijnselen bij enkele abnormale toestanden, zooals de dystrophia adiposo-genitalis, waarvan de oorzaak wordt gezocht in de hypophyse en het periodieke braken bij kinderen, waaronder men een afwijking van de vet-stofwisseling verstaat, waarvan de oorzaak wordt gezocht in de hersenen.

Reeds TERROINE sprak in 1919 de meening uit, dat er een bijzonder mechanisme moet bestaan, dat het gehalte van het bloed aan cholesterine regelt, omdat dit onder verschillende omstandigheden zoo standvastig is.

W. RAAB [1] was de eerste, die een stelselmatig onderzoek instelde naar de functie van het centrale zenuwstelsel met betrekking tot de stofwisseling van het vet.

Hij meende daarbij te kunnen aantoonen, dat het inspuiten onder de huid van pituitrine of pituglandol regelmatig een vermindering van het gehalte van het bloed aan vet ten gevolge heeft, welke vermindering eenige uren aanhoudt, waarna het gehalte van het bloed aan vet weer langzaam toeneemt tot de normale waarde; het inspuiten van uittreksels van de voorkwab van de hypophyse, van thyreoidine en van insuline bleek in dit opzicht onwerkzaam te zijn.

Verder kwam bij dit onderzoek aan het licht, dat pituitrine in de hersenkamers gebracht veel sterker werkt dan onder de huid. Ten overvloede kon RAAB aantoonen, dat deze werking uitblijft, wanneer te voren de bodem van de derde hersenkamer (speciaal het infundibulum en tuber cinereum) was beschadigd, of wanneer het halsmerg was doorgesneden.

RAAB verklaarde dit afnemen van het gehalte van het bloed aan vet, door aan te nemen, dat de organen, vooral de lever, na het inspuiten van deze hormonen meer vet opnemen.

In overeenstemming hiermede is de uitkomst van een onderzoek van R. COOPE en E. N. CHAMBERLAIN (gecit. naar GEELMUYDEN [2]), die bij konijnen konden waarnemen, dat het vet-gehalte van de lever bij dieren die met pituitrine waren behandeld tweemaal zoo groot was, dan bij normale dieren.

De Beteekenis van de milt voor de vet-stofwisseling.

Reeds geruimen tijd kent men verschillende ziekte-toestanden waarbij een vergroote milt voorkomt en waarbij die milt zeer rijk is aan vet-achtige stoffen; later heeft men deze ziekten in drie vormen verdeeld:

1. de ziekte van NIEMANN-PICK, waarbij de milt een zeer groot gehalte aan lecithine heeft,

---

[1] W. RAAB. Wien. Arch. f. inn. Mediz. 7. 443. 1924.
Zeitschr. f. d. ges. exper. Mediz. 49. 179. 1926.

[2] H. GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 26. 1. 1928.

2. de ziekte van SCHÜLLER-CHRISTIAN, waarbij de milt rijk is aan cholesterine,

3. de ziekte van GAUCHER, waarbij men een bijzonder groot gehalte van de milt aan kerasine aantreft. (zie H. WESTENBRINK [1]).

Naar aanleiding hiervan is door KUSUNOKI de meening uitgesproken, dat de milt ook onder normale omstandigheden deel zou nemen aan de stofwisseling van het vet, doordat de reticulum-cellen vetten en vet-achtige stoffen uit het bloed opnemen en verder verwerken.

Een stelselmatig onderzoek naar deze beteekenis werd voor het eerst uitgevoerd door S. LEITES [2], waarbij aan het licht kwam, dat de alimentaire hyperlipaemie sterker was uitgesproken wanneer de milt te voren was weggenomen, terwijl daarbij de z.g. ,,hypo-lipaemische phase'' ontbreekt.

Verder bleek bij dit onderzoek, dat het toedienen van vet in een ader wel een toenemen van het gehalte van het bloed aan vet ten gevolge heeft, wanneer de milt was weggenomen, maar niet bij normale honden. De oorzaak voor dit verschijnsel zou volgens LEITES kunnen zijn:

1. dat de milt onder normale omstandigheden vet uit het bloed opneemt,

2. dat het wegnemen van de milt een verandering in de werking van de lever ten gevolge heeft, in dien zin, dat het vet-splitsend en vet-opslorpend vermogen van de lever is afgenomen.

Voor deze laatste opvatting pleiten de uitkomsten van de proeven van KOBAYASKA en L. ASHER (gecit. naar LEITHES), die konden waarnemen dat de geïsoleerde lever meer aceton vormt uit vetzuren, wanneer uittreksels van de milt werden toegevoegd en de proefnemingen van JOANNOVICS en PICK, waarbij bleek, dat na toedienen van levertraan de lever minder vet opnam na het wegnemen van de milt.

Door een verder ingesteld onderzoek toonde LEITES aan, dat het vetgehalte van het bloed uit de leverader kleiner wordt, wanneer het gehalte van het bloed uit de miltader aan vet toeneemt; deze laatste vermeerdering gaat gepaard met het verdwijnen van cholesterine uit het bloed in de milt.

LEITES meende hieruit de gevolgtrekking te mogen maken, dat ,,endogeen'' in de milt, gevormd vet (uit cholesterine?) in de lever wordt afgebroken. Alleen dit ,,endogeen'' gevormd vet zou in de lever worden afgebroken. Wanneer men nu de milt wegneemt, dan

---

[1] H. WESTENBRINK. Nederl. tijdschr. v. Geneesk. 1931. IV. blz. 4983.

[2] S. LEITES. Biochem. Zeitschr. 186. 436. 1927.
idem. 190. 286. 1927.

zou er geen vet-ontleding meer in de lever plaats hebben, met het gevolg, dat het vet uit het bloed niet zoo snel wordt weggenomen. Het gevolg daarvan zou een sterke vet-afzetting in de stapelplaatsen van het lichaam zijn, die LEITES regelmatig kon waarnemen in de nierstreek bij dieren, waarbij de milt was weggenomen.

De Beteekenis van de longen voor de vetstofwisseling.

Wanneer men bedenkt, dat eiwitstoffen en koolhydraten, die in den darm worden opgenomen, onmiddellijk naar de lever worden vervoerd, waar belangrijke veranderingen van deze stoffen plaats hebben en men ziet, dat het vet geheel of grootendeels met de lymphe via den ductus thoracicus wordt vervoerd en dus het eerst in de long aankomt, dan ligt het voor de hand, dat H. ROGER en E. BINET [1] zich afvroegen, heeft de long misschien een leidende rol te vervullen bij de stofwisseling van het vet?

Deze onderzoekers wezen er voor het eerst op, dat het vetgehalte van het bloed uit het rechter deel van het hart steeds 10% grooter is, dan dat van het bloed uit de slagaderen; bovendien konden zij waarnemen, dat het inspuiten van vet in een ader, geen toenemen van het vet-gehalte van het bloed in de slagaderen ten gevolge heeft, omdat naar hun meening het vet wordt vastgehouden in de longen. ROGER en BINET noemen deze werking van de longen „lipopexie".

LEITES heeft deze theorie over de beteekenis van de longen voor de stofwisseling van het vet nog verder uitgebreid, doordat hij meende te kunnen waarnemen, dat de longen het vermogen hebben om uit vetzuur en glycerine vet te kunnen opbouwen.

Door A. HAMSIK en U. LOMBROSO [2] was reeds eerder aangetoond, dat longweefsel in vitro het vermogen heeft om uit vetzuur en glycerine vet te vormen. Verder vindt men in de literatuur enkele opgaven over de beteekenis van de schildklier [3] en den eierstok [4] voor de stofwisseling van het vet, maar een stelselmatig onderzoek naar den rol, die deze klieren in dit opzicht zouden spelen, is tot nu toe nog niet verricht.

---

[1] ROGER en BINET. Bull. de l'Acad. de Med. 86. 97, 129 en 203. 1921.
idem. 88. 1140. 1923.

[2] A. HAMSIK en U. LOMBROSO. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 90. 489. 1914.
U. LOMBROSO. Arch. intern. d. Physiol. 22. 1 en 9. 1923.

[3] S. LEITES. Biochem. Zeitschr. 221. 32. 1929.
ABELIN en KÜRSTEINER. Biochem. Zeitschr. 198. 19. 1928.
idem. 199. 103. 1928.

[4] DRURY en MAC MASTER. Journ. o. exper. Med. 49. 765. 1929.

DE STOFWISSELING DER PHOSPHATIDES.

Door A. BOKAY [1] is aangetoond, dat de lipase van het maagsap en van het alvleeschkliersap het vermogen heeft om phosphatides in vitro te ontleden tot vetzuur, stikstofhoudende base en glycerinephosphorzuur. Sommige onderzoekers meenen dan ook, dat de ontleding in den darm eveneens zoover zou gaan (TH. BRUGSCH en N. MASUDA [2]), terwijl J. CRONHEIM [3] kon aantoonen, dat hier de ontleding tot staan komt wanneer choline is afgesplitst, welke laatste stof van groote beteekenis is voor de darmbewegingen (R. MAGNUS [4] en LE HEUX [5]).

Veel onderzoekers stellen zich ook voor, dat door de lipase alleen het vetzuur van de phosphatides wordt afgesplitst, terwijl voor de ontleding van de verbinding van glycerine en phosphorzuur een ander enzym noodig zou zijn, n.l. een glycerophosphatase, dat in het darmslijmvlies kon worden aangetoond [6].

H. PAAL [7], S. PORTES [8] toonden aan, dat de alvleeschklier-lipase wel lecithine kan ontleden in tegenstelling met het maagsap. Ook de trypsine zou in dit opzicht onwerkzaam zijn.

In het algemeen vindt men in de literatuur over de ontleding der phosphatides in het darmkanaal veel tegenstrijdigheden. H. MAGISTRIS [9] zocht de oorzaak hiervoor voor het grootste deel in het feit, dat hij in zuivere lecithine na eenigen tijd steeds choline en vetzuren kon aantoonen.

Nog veel minder is er met zekerheid bekend van het opslorpen der

---

[1] A. BOKAY. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1. 157. 1877.
[2] BRUGSCH en MASUDA. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 8. 617. 1911.
[3] J. CROHNHEIM. Zeitschr. f. physik. u. diaet. Therap. 14. 257. 1910.
[4] R. MAGNUS. Münch. med. Wschr. 1925. blz. 249.
[5] LE HEUX. Pflüger's Arch. 179. 177. 1920; 190. 280. 1921.
[6] gecit. naar E. ABDERHALDEN. Lehrbuch der physiol. Chem. Urban und Schwarzenberg. 1931. blz. 80.
[7] H. PAAL. Biochem. Zeitschr. 211. 244. 1929.
[8] S. PORTES. Journ. amer. med. Assoc. 91. 1248. 1928.
[9] H. MAGISTRIS. Ergebn. d. Physiol. 31. 165. 1931.

ontledingsproducten van de phosphatides, of van de phosphatides als zoodanig, door de epitheelcellen van den darm.

Het schijnt, dat de opslorping van de phosphatides evenwijdig gaat met het opnemen van het vet. In het bovenste deel van den dunnen darm kon B. SLOWTZOFF [1] nog phosphatides en ontledingsproducten daarvan aantoonen, terwijl deze verder in den darm niet meer te vinden waren.

Hoe de phosphatides worden opgenomen, na ontleding, of als zoodanig, weet men niet. Alleen R. EHRMANN en H. KRUSPE [2] meenden te kunnen waarnemen, dat phosphatides ongesplitst door de epitheelcellen van den darm werden opgenomen. Niettegenstaande deze waarnemingen gelukt het meestal niet, om door toedienen van phosphatides met het voedsel het gehalte van het bloed aan deze vet-achtige stoffen te vergrooten (S. LEITES [3]).

Van den rol, die de phosphatides in het lichaam spelen, heeft men nog maar een zeer vage voorstelling.

BLOOR meent, dat deze stoffen het voornaamste transport-middel van vetzuren in het lichaam zijn, waarbij dan een vorming van phosphatides uit vetzuren zou plaats hebben in de roode bloedlichaampjes.

Zeer waarschijnlijk spelen deze vet-achtige stoffen een niet onbelangrijken rol bij de stolling van het bloed, terwijl men weet, dat zoowel de phosphatides als de cholesterine van beteekenis zijn voor processen van serologischen aard. Zeer merkwaardig is de mededeeling van WERNER en SZECSI [4], die aantoonden, dat in de haarvaten van de huid de phosphatides belangrijke veranderingen kunnen ondergaan onder den invloed van ultra-violette stralen, welke veranderingen voornamelijk bestaan in een ontleding.

In overeenstemming hiermede is de waarneming van H. MAGISTRIS [5], dat ovolecithine door bestraling met ultra-violette stralen choline afsplitst. Deze opgaven worden echter tegengesproken door M. GUGGENHEIM en W. LÖFFLER [6]. Opmerkenswaard is ook het feit, dat het gehalte van verschillende organen aan phosphatides zoo standvastig is, waarbij men het grootste gehalte steeds vindt in de hartspier. Mede door de waarneming van W. BIEDERMANN [7], dat na electrische prikkeling van het spierweefsel het gehalte aan phosphatides kleiner wordt, meenen veel onderzoekers, dat deze vet-achtige stoffen van beteekenis zijn voor de samentrekking van het spierweefsel.

---

[1] B. SLOWTZOFF. Beitr. chem. Physiol. u. Pathol. 7. 508. 1905.
[2] R. EHRMANN en H. KRUSPE. Berl. klin. Wschr. 50. 1111. 1913.
[3] S. LEITES. Biochem. Zeitschr. 184. 310. 1927.
[4] WERNER en SZECSI. Münch. med. Wschr. 1908. blz. 374.
[5] H. MAGISTRIS. Biochem. Zeitschr. 210. 85. 1929.
[6] M. GUGGENHEIM en W. LÖFFLER. Biochem. Zeitschr. 74. 208. 1916.
[7] W. BIEDERMANN. Ergebn. d. Biol. 2. 497. 1927.

Wanneer men hierbij bedenkt, dat H. JOST [1] meent, dat wanneer in de lever uit vet koolhydraat ontstaat, de phosphatides daarbij een tusschenstof zouden vormen en dat verscheidene onderzoekers meenen, dat de spierwerking alleen tot stand komt door verbranding van koolhydraten, terwijl toch ook de vetten als brandstof voor de spierwerking indirect een rol spelen, dan kan men in het onderzoek van BIEDERMANN misschien een belangrijke aanwijzing vinden voor de stelling, dat het vet eerst wordt omgezet in koolhydraat, waarbij de phosphatides een tusschenstof zijn, terwijl de koolhydraten verbrand worden bij de spierwerking.

Veel omstreden is ook den samenhang van de hoeveelheid en de samenstelling der phosphatides in de organen met het vet uit het voedsel.

Waarschijnlijk spelen de onverzadigde vetzuren in het lichaam een belangrijken rol, terwijl men weet, dat deze hoofdzakelijk voorkomen in de phosphatides.

J. JOANNOVICS en P. PICK toonden aan, dat bij de voeding met vet, het gehalte van de lever aan onverzadigde vetzuren toeneemt, *parallel* met een grooter worden van de hoeveelheid phosphatides, waardoor deze onderzoeker meende, dat deze vet-achtige stoffen belangrijke tusschenstoffen zijn bij de intermediaire vetstofwisseling.

Dat men een dergelijk proces niet alleen in de lever, maar ook in andere organen (vooral in spierweefsel) kan waarnemen, toonde R. G. SINCLAIR [2] aan, die er echter tevens op wees, dat dit proces niet zoo eenvoudig is zooals JOANNOVICS en PICK zich dat voorstelden.

Wanneer men jonge muizen met een vet-arm voedsel groot brengt, dan is het jodiumgetal van de phosphatides in de lever en in het spierweefsel zeer klein. Wanneer SINCLAIR dergelijke dieren nu veel vet gaf, dan nam de hoeveelheid phosphatides in de organen niet veel toe, maar wel de onverzadigdheid; dit laatste heeft vooral in de lever zeer snel plaats.

Hebben de phosphatides nu eenmaal een hoogen graad van onverzadigdheid bereikt, dan is deze zoo goed als niet meer te veranderen door wijzigingen in het vetgehalte van het voedsel; de organen hebben dus een sterke neiging om de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in de phosphatides standvastig te houden. Uit deze en nog andere proeven besluit SINCLAIR, dat de beteekenis der phosphatides verder reikt, dan door de meeste onderzoekers wordt aangenomen, die er alleen een tusschenstof bij de intermediaire vetstofwisseling in zien.

Verder is van belang de vraag, of de phosphatides uit het voedsel kunnen gemist worden en of het lichaam deze stoffen kan opbouwen.

---

[1] H. JOST. Zeitschr. f. physiol. Chem. 197. 790. 1931.

[2] R. G. SINCLAIR. Journ. o. biol. Chem. 86. 579. 1930; 88. 575. 1930; 92. 245. 1931; 95. 393. 1932.

Of het organisme zonder phosphatides in het voedsel kan blijven bestaan, weet men niet, omdat de proeven daarover mislukt zijn.

W. STEPP [1] en W. RÖHL [2] toonden aan, dat men dieren, die uitsluitend voedsel kregen, dat van te voren met alcohol en aether was uitgetrokken, niet in het leven kan houden en zij besloten hieruit, dat de vet-achtige stoffen niet uit het voedsel kunnen worden gemist.

Door TH. OSBORNE en L. B. MENDEL [3] is echter bewezen, dat men door deze behandeling met alcohol en aether enkele bijkomstige voedingsstoffen verwijderde.

Verschillende planten hebben het vermogen om phosphatides te vormen.

Volgens G. TRIER [4] zou onder den invloed van het licht uit koolzuur en water door de planten lecithine gevormd kunnen worden, waarbij als tusschenproduct voorkomen, formaldehyde, glycolaldehyde en colamine.

A. TICHOMIROFF [5] bewees, dat het ei van de zijde-rups zonder twijfel in staat is om phosphatides te vormen, terwijl W. MAXWELL [6] kon aantoonen, dat ook in het kippen-ei een vergrooten van de hoeveelheid phosphatides is waar te nemen bij het broeden.

Ten slotte meent E. ABDERHALDEN bij honden het vermogen om deze vet-achtige stoffen op te bouwen, te hebben aangetoond.

Voor zoover mij bekend, heeft men bij menschen over dit onderwerp tot nu toe nog geen proeven genomen.

---

[1] W. STEPP. Biochem. Zeitschr. 22. 452. 1909.
[2] W. RÖHL. Verhandl. Kongr. f. inn. Med. 29. 607. 1912.
[3] TH. OSBORNE en L. MENDEL. Journ. o. biol. Chem. 17. 401. 1914; 20. 397. 1915.
[4] G. TRIER. Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eeiweiszstoffe und Lecithine. Berlin. Borntraeger. 1912.
[5] A. TICHOMIROFF. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9. 518 en 566. 1885.
[6] W. MAXWELL. Amer. Chem. Journ. 13. 428. 1891; 15. 185. 1893.

DE STOFWISSELING VAN DE CHOLESTERINE.

Dat de cholesterine door het darmepithelium kan worden opgenomen, is buiten allen twijfel, tenminste wanneer zij tegelijk met vet wordt toegediend.

Regelmatig vindt men na een cholesterine-vetmaaltijd een toenemen van het gehalte van het bloed aan cholesterine, soms van 100%.

Naar het schijnt, wordt cholesterine alleen, zonder vet toegediend, niet door de epitheelcellen van den darm opgeslorpt. HOPPE-SEYLER drukte dit als volgt uit: „de vetten banen den weg voor de cholesterine".

Naast het vet schijnt ook de gal van groote beteekenis te zijn voor het opnemen van cholesterine door het darm-epithelium. Zoo kon R. SCHÖNHEIMER [1] aantoonen, dat natriumdesoxycholaat het opslorpen van de cholesterine sterk bevordert.

Over de vraag, of cholesterine alleen als zoodanig of ook als esters kan worden opgeslorpt door het darm-epithelium, loopen de meeningen zeer uiteen.

S. THANHAUSER [2] toonde in de gal en J. MUELLER[3] in het alvleeschkliersap een enzym aan, dat in vitro het vermogen heeft om cholesterine-esters te ontleden. Toch meent SANO [4], dat zoowel vrije als gebonden cholesterine door de epitheelcellen van den darm kunnen worden opgenomen.

Wanneer men veronderstelt, dat cholesterine-esters eérst in den darm worden ontleed alvorens te worden opgeslorpt, dan moet men ook aannemen, dat de darmcellen het vermogen bezitten om de ontledingsproducten weer op te bouwen, omdat men hoofdzakelijk cholesterine-esters terugvindt in de lymphe van den ductus thoracicus en in het bloed.

---

[1] R. SCHÖNHEIMER. Biochem. Zeitschr. 147. 258. 1924.
Vichows Arch. 249. 1. 1924.
Zeitschr. f. physiol. Chem. 180. 1, 25 en 32. 1929.

[2] S. THANNHAUSER. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 141. 290. 1923.

[3] J. MUELLER. Journ. o. biol. Chem. 27. 463. 1917.

[4] SANO. Tohoku Journ. exper. Med. 1. 448. 1920; 4. 417. 1924.

In overeenstemming hiermede is de bevinding van J. MUELLER, die in het mengsel van cholesterine, vetzuur en alvleeschkliersap een duidelijke vorming van cholesterine-esters kon waarnemen. Hetzelfde is vastgesteld door NOMURA [1].

Zeer waarschijnlijk heeft het darm-epithelium ook het vermogen, om plantaardige sterines op te nemen [2].

Vanuit de epitheelcellen van den darm wordt de cholesterine of de esters daarvan hoofdzakelijk afgegeven aan de lymphe van het centrale chylvat, om daarna langs den ductus thoracicus naar het bloed te worden vervoerd [3], maar NEDWEDSKI [4] en A. MASSNIKOW [5] konden aantoonen, dat een klein deel van de in den darm opgeslorpte cholesterine onmiddellijk aan het bloed kan worden afgestaan.

Waar de cholesterine uit het bloed wordt afgezet, weet men niet zeker; zeer waarschijnlijk heeft dit plaats in de milt en in het beenmerg.

Naar aanleiding van de waarneming, dat het cholesterine-gehalte van het bloed niet onbepaald kleiner wordt bij onthouden van voedsel, zelfs niet na zeer lang hongerlijden, veronderstelde men, dat het lichaam het vermogen heeft om zelf cholesterine te vormen.

Maar ook zonder dat men voedsel onthoudt, kan men berekenen, dat er in het lichaam steeds cholesterine moet worden gevormd, omdat er voortdurend meer wordt afgescheiden in den darm (door de gal en het slijmvlies van den dikken darm), dan er cholesterine met het voedsel wordt opgenomen. Dit is overtuigend aangetoond door W. BEUMER en F. LEHMANN [6].

Waar echter deze vorming plaats heeft en uit welke stoffen, weet men niet.

Terwijl A. CHAUFFARD [7] veronderstelde, dat de bijnier voor deze cholesterine-vorming het voornaamste orgaan zou zijn, is deze meening bestreden door L. ASCHOFF [8] en M. LANDAU [9] en WACKER en HUECK [10] konden aantoonen, dat het wegnemen van de bijnieren zelfs een toenemen van het gehalte van het bloed aan cholesterine tengevolge heeft.

Naar aanleiding van de waarneming, dat men bij voeding met

---

[1] NOMURA. Tohoku Journ. exper. Med. 4. 1924; 5. 323. 1925.
[2] FRASER en GARDNER. Proc. Roy. Soc. Biol. 81. 230. 1920.
[3] J. MUELLER. Journ. o. biol. Chem. 22. 1. 1916.
[4] NEDWEDSKI. Pflüger's Arch. 214. 337. 1926; 219. 619. 1916.
[5] A. MASSNIKOW en B. HINSKY. Zeitschr. f. klin. Med. 102. 65. 1926; 105. 228. 1926.
Zeitschr. f. exper. Med. 52. 171. 1926; 53. 100. 1926.
[6] W. BEUMER en F. LEHMANN. Zeitschr. f. exper. Med. 37. 274. 1923.
[7] A. CHAUFFARD. Presse Med. No. 30. 1922.
[8] L. ASCHOFF. Beitr. pathol. Anat. 47. 1. 1910.
[9] M. LANDAU. Die Nebennierenrinde. Jena. 19155.
[10] L. WACKER en HUECK. Biochem. Zeitschr. 100. 1919.

olijf-olie steeds een toenemen vindt van het gehalte van het bloed aan cholesterine, meende J. LIFSCHÜTZ, dat er in het lichaam steeds cholesterine zou worden gevormd door oxydatie van oliezuur (zie blz. 22).

Toch geloof ik, dat het grooter worden van het gehalte van het bloed aan cholesterine na voeding met olijf-olie niet bewijst, dat er een vorming van cholesterine uit dit vet plaats heeft, wanneer niet door de schrijvers uitdrukkelijk wordt medegedeeld, dat de door hen gebruikte olijf-olie vrij was van cholesterine.

Het is mij n.l. bij onderzoek gebleken, dat olijf-olie steeds een aanmerkelijke hoeveelheid cholesterine bevat.

In ieder geval is het zeker, dat het lichaam het vermogen heeft om cholesterine te vormen; vooral bij den groei van het jonge individu en bij de ontwikkeling van eieren is dit proces van groot belang [1].

Zeker is ook, dat een deel van de cholesterine, die door de gal wordt afgescheiden, weer door de epitheelcellen van den darm wordt opgeslorpt. Toch schijnt een dergelijk proces alleen maar voor te komen in het eerste gedeelte van den dunnen darm, omdat de cholesterine daarna snel wordt gereduceerd tot coprosterine door de bacterien, terwijl deze laatste stof merkwaardigerwijze niet door den darmwand kan worden opgenomen.

Terwijl men vroeger meende, dat de cholesterine hoofdzakelijk wordt afgescheiden door galblaas, weet men thans, dat op deze wijze minder cholesterine het lichaam verlaat, dan door de afscheiding in het slijmvlies van den dikken darm (SPERRY). Verder heeft men kleine hoeveelheden cholesterine kunnen aantoonen in het speeksel, de urine en in de talg.

Zeker is, dat cholesterine in het lichaam niet wordt verbrand noch omgezet in een andere stof, maar dat het onveranderd wordt afgescheiden; cholesterine kan dus geen energie leveren.

---

[1] S. TANNHAUSER en H. SCHRABER. Zeitschr. f. physiol. Chem. 127. 278. 1923.

OVER DEN SAMENHANG VAN DE STOFWISSELING DER VETTEN MET DIE DER KOOLHYDRATEN.

Dat de stofwisseling van het vet ten nauwste samenhangt met die van de koolhydraten, blijkt in de eerste plaats uit het zoo gemakkelijk overgaan van koolhydraten in vetten in het lichaam.

De vorming van vet uit koolhydraat.

Dat een dergelijk proces in het lichaam voorkomt is reeds langen tijd geleden aangetoond door onderzoekingen over het vetmesten van varkens en ganzen met koolhydraat, die verricht werden door F. SOXHLET [1], E. MEISSL en F. STROHMER [2], M. RUBNER [3] en vele anderen. Waar zich echter deze overgang afspeelt en langs welke wegen, is nog niet met zekerheid bekend. Wel is het waarschijnlijk, dat deze vetvorming zich voordoet op de plaats waar het vet wordt afgezet.

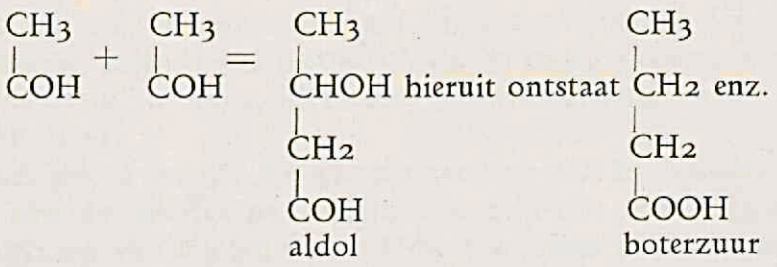
Door E. WERTHEIMER [4] werd aangetoond, dat op deze plaatsen eerst glycogeen wordt afgezet, terwijl in vetweefsel, dat alleen een mechanische rol heeft te vervullen en waarin de hoeveelheid vet weinig verandering ondergaat, geen glycogeen wordt aangetroffen.

E. FISCHER is wel de eerste geweest, die de meening uitsprak, dat door verbinding van 3 moleculen hexose stearine-zuur zou ontstaan. Dat echter een dergelijke omzetting niet in het lichaam voorkomt, is waarschijnlijk gemaakt door H. WIELAND [5].

Door NENCKI [6] en HOPPE-SEYLER [7] was de waarneming gedaan, dat een der ontledingsstoffen van de suiker aceet-aldehyde kan zijn. Naar aanleiding hiervan stelde MAGNUS-LEVY [8] zich voor, dat uit dit aceet-aldehyde door de z.g. aldol-condensatie vetzuren trapsgewijs zouden worden opgebouwd, waarbij dan de volgende omzettingen zouden plaats hebben:

---

[1] F. SOXHLET. Zeitschr. d. landw. Vereins. Bayern. Aug. 1881.
[2] E. MEISSL en F. STROHMER. Sitzber. Akad. f. Wissensch. 88. III. Juli-heft, 1883.
[3] M. RUBNER. Zeitschr. f. Biol. 22.
[4] E. WERTHEIMER. Pflüger's Arch. 217. 728. 1927.
[5] H. WIELAND. Ergebn. d. Physiol. 20. 499. 1922.
[6] NENCKI. Journ. prakt. Chem. 17. 105. 1878.
[7] HOOPE-SEYLER. Zeitschr. f. physiol. Chem. 3. 351. 1879.
[8] MAGNUS-LEVY. Arch. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1902. blz. 365.



Ook bestaat de mogelijkheid, dat 2 mol. aldol zich met elkaar vereenigen tot CH_3-CH(OH)-CH_2-CH(OH)-CH_2-CH(OH)-CH_2-COH, waaruit caprylzuur kan ontstaan: CH_3-$(CH_2)_6$-COOH.

Het ontstaan van vet uit aceet-aldehyde en aldol is met zekerheid aangetoond bij de gistcellen Endomyces vernalis door H. HAEHN en W. KINNTOF [1].

Naar aanleiding van deze waarnemingen heeft men zich afgevraagd, kan ook het omgekeerde in het lichaam plaats hebben?

De vorming van koolhydraat uit vet

Dat uit vet koolhydraat kan ontstaan bij het ontkiemen van zaden die veel olie bevatten is met zekerheid aangetoond door O. FÜRTH [2]. Ook mag men een dergelijke omzetting als bewezen beschouwen bij dieren in den winterslaap. Op dit gebied zijn reeds tientallen jaren geleden belangrijke onderzoekingen gedaan door R. DUBOIS [3] en MERZBACHER [4], bij marmotten en egels. Het bleek hierbij, dat het lichaamsvet, dat vóór den winterslaap rijkelijk aanwezig is, langzaam afneemt (het gewichtsverlies van de dieren bedraagt gemiddeld 2 gr. per dag), terwijl het glycogeen-gehalte van lever en spieren vrijwel gelijk blijft. Tevens kon men daarbij waarnemen, dat het ademhalings-quotient aanmerkelijk kleiner wordt (door PEMBREY [5] werden waarden van 0,7 gevonden), om op het oogenblik, dat het dier ontwaakt, weer snel tot 1 of daarboven toe te nemen.

MAGNUS-LEVY [6] en E. PFLÜGER [7] bewijzen op grond van theoretische overwegingen, dat dit klein ademhalings-quotient niet bewijst, dat er een overgang van vet in koolhydraat plaats heeft, maar dat het evengoed een gevolg kan zijn van een koolhydraatvorming uit eiwit. Daar het echter gebleken is, dat de stikstof-afscheiding bij dieren in den winterslaap minimaal is, komt een dergelijke omzetting niet in aanmerking.

Deze verschijnselen bij dieren in den winterslaap waargenomen:

---

[1] H. HAEHN en W. KINNTOF. Chem. Ber. 56. 439. 1923.
Chemie der Zelle und Gewebe. 12. 115. 1925.

[2] O. FÜRTH. Hofmeister's Beiträge. 4. 430. 1903.

[3] R. DUBOIS. C. R. Soc. Biol. 46. 821. 1894.

[4] MERZBACHER. Ergebn. d. Physiol. 3. 214. 1904.

[5] PEMBREY. Journ. o. Physiol. 27. 407. 1901; 29. 195. 1903.

[6] MAGNUS-LEVY. Zeitschr. f. klin. Med. 56. 83. 1905.

[7] E. PFLÜGER. Pflüger's Arch. 103. 1. 1904.

het afnemen van de hoeveelheid vet in het lichaam, terwijl het gehalte aan glycogeen gelijk blijft; het kleine ademhalings-quotient en de minimale stikstof-afscheiding, rechtvaardigen de opvatting, dat er gedurende dien tijd vet wordt omgezet in koolhydraat.

Niettegenstaande deze feiten, die het zeer waarschijnlijk maken, dat ook bij de hoogere dieren en bij den mensch een dergelijke omzetting kan voorkomen, is dit laatste nog steeds niet bewezen.

Dat glycerine suiker kan vormen staat vast: volgens M. CREMER [1] en H. LUTJE [2] wordt 40% van alle glycerine in het lichaam omgezet in druivensuiker, terwijl W. CHAMBERS en H. DEUEL [3] meenen dat ongeveer alle glycerine in koolhydraat wordt omgezet.

De vetzuren echter geven meer moeilijkheden.

Daar men volgens het onderzoek van KNOOP weet, dat de vetzuren worden afgebroken door de z.g. β-oxydatie, waarbij dus telkens azijnzuur wordt afgesplitst, heeft men zich beijverd om aan te toonen, dat azijnzuur in het lichaam onder bepaalde omstandigheden suiker kan vormen.

H. GEELMUYDEN [4] meende bij honden die met phlorizine waren vergiftigd, te kunnen aantoonen, dat Na-acetaat in de buikholte ingespoten, omgezet wordt in suiker.

T. THUNBERG [5] stelt zich een ingewikkelder weg voor; volgens dezen onderzoeker zou uit azijnzuur eerst oxaalzuur worden gevormd, terwijl A. RINGER, E. FRÄNKEL en L. JONAS [6] het oxaalzuur aanzien als de eigenlijke glucose-vormer.

Deze laatste onderzoekers konden de meening van GEELMUYDEN niet bevestigen, omdat zij bij het inspuiten van Na-acetaat onder de huid of in de buikholte, geen verandering zagen optreden in het ademhalingsquotient.

Door I. CHAIKOFF en J. WEBER [7] werd aangetoond, dat het inspuiten van adrenaline bij honden zonder alvleeschklier, die drie dagen geen insuline en geen voedsel hadden gekregen, een toenemen van de hoeveelheid suiker in de urine veroorzaakt, die zij alleen konden verklaren door aan te nemen, dat vet uit de voorraden van het lichaam omgezet werd in suiker.

In overeenstemming hiermede is de uitkomst van een dergelijk onderzoek, dat verricht werd door H. EPPINGER, W. FALTA en C. RÜDINGER [8].

Verder is een zeer groot aantal onderzoekingen gedaan waarbij

---

[1] M. CREMER. Münch. med. Wschr. 1902. blz. 944.
[2] H. LUTJE. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1904. blz. 98.
[3] W. CHAMBERS en H. DEUEL. Journ. o. biol. Chem. 65. 21. 1905.
[4] H. GEELMUYDEN. Scand. Arch. f. Physiol. 40. 211. 1922.
[5] T. THUNBERG. idem. 40. 1. 1922.
[6] A. RINGER, E. FRÄNKEL en L. JONAS. Journ. o. biol. Chem. 14. 539. 1913.
[7] I. CHAIKOFF en J. WEBER. idem. 76. 813. 1928.
[8] H. EPPINGER, W. FALTA en C. RÜDINGER. Zschr. f. klin. Med. 66. 1. 1908.

men de veranderingen naging, die het toedienen van vet had op het ademhalingsquotient, terwijl men daaruit besluiten heeft getrokken aangaande een overgang van vet in koolhydraat; maar ook langs dezen weg heeft men dit vraagstuk niet kunnen oplossen.

Daarbij komt nog, dat het nagaan van het ademhalingsquotient zeer moeilijk is en dat men met de verschillende werkwijzen zeer veel bronnen van fouten in het oog moet houden. Men kan slechts dan op deze wijze verder komen, wanneer de allerstrengste critiek wordt uitgeoefend op de werkwijze en op de verkregen uitkomsten. Dit is bij de verschillende onderzoekingen lang niet altijd het geval geweest. A. A. HYMANS VAN DEN BERG [1] zegt hiervan: „Ik acht het buiten twijfel dat er in de literatuur al te kwistig en te oppervlakkig met cijfers voor het R.Q. (ademhalingsquotient) werd omgesprongen".

Daar bij verschillende toestanden waarbij door het lichaam geen suiker wordt verbrand, de spierkracht onverminderd kan blijven, kan men de vraag: wordt vet omgezet in suiker, vervangen door een andere: *kan de spierwerking tot stand komen door verbranding van vet?*

De Beteekenis van het vet voor de spierwerking.

Verschillende toestanden wijzen er op dat de koolhydraten een bijzondere plaats innemen bij de verbrandingsprocessen en dat die niet zonder schade kunnen worden gemist. Wanneer het gelukt om aan te toonen, dat de spierwerking alleen tot stand kan komen door verbranding van koolhydraat, dan is het als bewezen te achten, dat vet in het lichaam onder bepaalde omstandigheden kan worden omgezet in koolhydraat.

De eersten, die meenden, dat de spieren alleen koolhydraat verbranden, waren CHAUVEAU en KAUFMANN [2], wier meening hoofdzakelijk steunde op het feit, dat het bloed uit de slagader van de spier steeds meer suiker bevat, dan dat uit de ader.

KROGH en LINDHARD [3] deden nauwkeurige onderzoekingen bij menschen en geven wel toe, dat bij den spierarbeid de voorkeur wordt gegeven aan koolhydraten, maar zij willen er geen bewijs in zien voor de stelling, dat vet eerst wordt omgezet in suiker, alvorens als brandstof door de spieren te worden verbruikt.

Verder heeft men zeer veel proeven gedaan, waarbij men door gas-analyse van de werkende spier trachtte uit te maken of vet wordt omgezet in koolhydraat of dat het als zoodanig wordt verbrand [4]. Aan deze proefnemingen zijn zooveel technische moeilijkheden verbonden bij de uitvoering, dat de uitkomsten met de grootste voorzichtigheid moeten worden beoordeeld (GEELMUYDEN).

---

[1] A. A. HYMANS V. D. BERG. Voordrachten over suikerziekte. Oosthoek. Utrecht. 1930.

[2] CHAUVEAU en KAUFMANN. C. R. Acad. Sciences. 122. 429. 594. 1098, 1163. 1896.

[3] KROGH en LINDHARD. Biochem. Journ. 14. 290. 1920.

[4] J. BANCROFT. Ergebn. d. Physiol. 1. 699. 1900.

De nieuwere onderzoekingen over de chemische processen, die zich afspelen bij den spierarbeid, beginnen met het onderzoek van FLETCHER en HOPKINS [1], die meenen dat de scheikundige omzettingen bij de samentrekking van de spier zonder zuurstofverbruik plaats hebben, waarbij melkzuur wordt gevormd; in de rust verdwijnt het melkzuur weer wanneer zuurstof toetreedt.

In tegenstelling nu met de meening van A. HILL [2], dat de moederstof van dit melkzuur geen koolhydraat is, konden FROSCHBACH en SCHÄFFER [3] aantoonen, dat de hoeveelheid koolhydraat in de spier bij arbeid afneemt, terwijl PARNAS en WAGNER [4] bij spierstijfheid vonden, dat er een evenredige hoeveelheid melkzuur gevormd werd als er suiker verdween.

Van meer belang voor de vraag of vet als zoodanig door de spieren kan worden verbruikt, zijn de doorstroomingsproeven aan spieren verricht.

J. LEATHES [5] meent, dat de spier geen vet als brandstof kan gebruiken, omdat hij bij zijn doorstroomingsproeven geen afnemen van het vetgehalte van de doorstroomingsvloeistof kon waarnemen. Tot eenzelfde slotsom kwam WINFELD [6]. Men moet bij deze laatste proeven echter wel bedenken, dat zij verricht werden aan uitgesneden spieren. Daarom lijkt het onderzoek van E. LAFON [7] veel belangrijker omdat het werd verricht aan de werkende M. Levator labii sup. van het paard in het lichaam; deze onderzoeker kwam daarbij tot de slotsom, dat de spieren wel vet als zoodanig kunnen gebruiken bij de verbranding.

Samenvattend kan men zeggen: de overgang van vet in koolhydraat is niet bewezen maar wel waarschijnlijk te achten; de meeste onderzoekers staan dan ook op het standpunt, dat een dergelijk proces onder bepaalde omstandigheden in het lichaam kan voorkomen.

Buiten het al of niet bestaan van een overgang van koolhydraten en vetten in elkaar, bij hoogere dieren en bij den mensch, zijn er nog veel waarnemingen gedaan, die er op wijzen, dat de vet- en koolhydraat-stofwisseling althans ten nauwste met elkaar samenhangen.

In dit opzicht is vooral het voorkomen van hyperlipaemie en acidose bij suikerziekte een bron van veel studie geweest, zonder dat men evenwel heden ten dage een duidelijk inzicht heeft in de ontstaaanswijze van deze belangrijke toestanden.

---

[1] FLETCHER en HOPKINS. Proc. o. the roy. Soc. o. London. 89. 444. 1917.
[2] A. HILL. Ergebn. d. Physiol. 15. 340. 1916.
[3] FROSCHBACH en SCHÄFFER. gecit. naar GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 21. 1. 274. 19.
[4] PARNAS en WAGNER. Biochem. Zeitschr. 61. 387. 1914.
[5] J. LEATHES. The Lancet. 1909. blz. 593.
[6] WINFELD. Journ. o. Physiol. 49. 171. 1915.
[7] E. LAFON. C. R. Acad. d. Sciences. 156. 1248. 1913.

Hyperlipaemie bij suikerziekte.

Dat bij suikerziekte dikwijls een melk-achtig bloedserum kan worden waargenomen, is reeds zeer langen tijd bekend; wel moet men daarbij bedenken, dat nog al eens vergissingen voorkwamen, b.v. door verwarring met leucaemie.

De oudste beschrijvingen vindt men bij RAUCH [1], ZAUDY [2], GRAUPNER [3] en B. FISCHER [4].

Oorspronkelijk verklaarde men het ontstaan van dit groot gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, door aan te nemen, dat de verbranding van het vet in mindere mate plaats had, waardoor vet in het bloed wordt opgehoopt, dat met het voedsel is opgenomen.

In den laatsten tijd echter zijn er verscheidene waarnemingen gedaan, die het meer dan onwaarschijnlijk maken, dat dit overtollig vet in het bloed alleen afkomstig zou zijn van het voedsel. De voornaamste hiervan zijn de volgende:

Men vindt deze hyperlaemie bij suikerziekte zoowel bij personen die veel vet met het voedsel opnemen, als bij menschen die op een vet-arm dieet staan.

Verder is zeer dikwijls gebleken wanneer men lijders aan suikerziekte op het dieet van PETRÈN, dat zeer veel vet bevat, stelt, dat de hyperlaemie in sterke mate kan afnemen, terwijl daar tegenover staat, dat het zelden of nooit gelukt om deze hyperlaemie tot verdwijnen te brengen door een vet-arm of vet-vrij dieet alleen.

Daarom zijn de meeste onderzoekers de meening toegedaan, dat het vet, dat de hyperlaemie bij suikerziekte veroorzaakt, afkomstig is uit de voorraden in het lichaam, die groote hoeveelheden vet zouden afstaan, om naar andere plaatsen in het lichaam (waarschijnlijk naar de lever) vervoerd te worden. Dit symptoom wordt daarom door de duitsche schrijvers in navolging van G. ROSENFELD „Fettwanderung" genoemd, terwijl men gewoonlijk van een transporthyperlipaemie spreekt.

Toch is het niet uitgesloten, dat deze groote hoeveelheid vet in het bloed voor een deel afkomstig is uit het voedsel. Zoolang men echter niet over middelen beschikt om het verschil uit te maken tusschen het vet uit het voedsel en het vet uit de voorraden in het lichaam in het bloed, zal men dit vraagstuk niet licht met zekerheid oplossen. Misschien zou een onderzoek naar de z.g. haemoconien hier verder kunnen helpen, omdat A. NEUMANN en G. KREIDL (zie blz. 18) meenen te hebben aangetoond, dat deze vet-druppeltjes alleen afkomstig zijn van het vet dat met de lymhpe uit den ductus thoracicus

---

[1] RAUCH. Dissert. Leipzig. 1895.

[2] ZAUDY. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 70. 301. 1901.

[3] GRAUPNER. Dissert. Göttingen. 1898.

[4] B. FISCHER. Virchow's Arch. 172. 30 en 218. 1903.
Volledige literatuur over hyperlipaemie bij suikerziekte vindt men bij H. GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 26. 1. 1927.

in het bloed wordt gestort, terwijl het vet, dat door de voorraden in het lichaam aan het bloed wordt afgestaan, ultra-microscopisch niet zichtbaar is.

Niettegenstaande de zeer groote hoeveelheid arbeid die besteed is aan het vraagstuk van het ontstaan en de beteekenis voor het organisme van de hyperlipaemie bij suikerziekte, is deze laatste nog even raadselachtig als 30 jaar geleden, toen men de studie hierover begon.

Belangrijke aanwijzingen in het vraagstuk van de samenhang van vet- en koolhydraat-stofwisseling heeft ook het symptoom van de acidose bij suikerziekte gegeven, de toestand waarbij men een groot gehalte van het bloed aan z.g. aceton-stoffen aantreft.

Acidose bij suikerziekte.

Sedert de beroemde doorstroomingsproeven van de lever verricht door F. KNOOP [1] weet men, dat de vetzuren in de lever worden afgebroken door de z.g. β-oxydatie, waarbij telkens twee koolstofatomen worden afgesplitst. Bij vetzuren met een even aantal koolstofatomen komt er zoodoende een oogenblik dat er boterzuur overblijft. Dit wordt geoxydeerd tot β-oxy-boterzuur, dat door verdere oxydatie overgaat in acetyl-azijnzuur, terwijl dit laatste door afsplitsen van koolzuur aceton vormt.

Dit onderzoek werd volledig gemaakt door G. EMBDEN [2], die kon aantoonen, dat alleen vetzuren met een even aantal koolstofatomen als aceton-vormers kunnen werken, terwijl die met een oneven aantal C-atomen nooit dergelijke stoffen kunnen vormen.

In overeenstemming hiermede is de waarneming, die bij lijders aan suikerziekte is gedaan door J. BAER en L. BLUM [3], dat boterzuur en capronzuur met het voedsel toegediend wel een grootere aceton-uitscheiding veroorzaakt, terwijl valeriaanzuur dit niet doet.

Oorspronkelijk hebben de scheikundigen zich tegen deze meening verzet, omdat algemeen werd aangenomen, dat de oxydatie van koolstofketens in vitro, plaats heeft aan het laatste C-atoom. Nadat H. DAKIN [4] had aangetoond, dat vetzuren met waterstofperoxyde geoxydeerd worden aan het β-koolstof-atoom, was deze tegenstand overwonnen.

Later hebben J. BAER en L. BLUM [5] door doorstroomingsproeven aan de lever aangetoond, dat uit phenylaline en tyrosine eveneens aceton kan worden gevormd.

Het feit, dat de aceton-stoffen alleen ontstaan uit vetzuren met een even aantal koolstof-atomen, is aanleiding geweest voor veel

---

[1] F. KNOOP. Hofmeister's Beiträge. 6. 150. 1905.

[2] G. EMBDEN. idem. 8. 129. 1906.
idem. 11. 318. 1908.

[3] J. BAER en L. BLUM. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac. 55. 89. 1906; 56. 92. 1906; 59. 321. 1908.

[4] H. DAKIN. Journ. o. Biol. Chem. 4. 77. 1908.

[5] J. BAER en L. BLUM. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac. 56. 92. 1907.

proefnemingen omtrent de vraag, kan men door het toedienen van vetten die alleen vet-zuren bevatten met een on-even aantal C-atomen het ontstaan van de acidose voorkomen?

Het eerst hebben zich met deze vraag bezig gehouden A. RINGER en L. JONAS [1], maar zij konden een dergelijk vet niet samenstellen.

Dit gelukte het eerst aan KAHN [2], die een vet samenstelde, het z.g. intarvine, dat volgens zijn opgaven alleen vetzuren zou bevatten met een on-even aantal koolstof-atomen. Met dit vet is veel gewerkt, maar met zeer verschillende uitkomsten.

Zoo deelen sommige onderzoekers mede, dat het vervangen van het voedingsvet door intarvine een afnemen van de ketonurie bij lijders aan suikerziekte ten gevolge heeft (STRAUSS en WEST [3]; KAHN [4]); daarentegen verschijnen zooveel mededeelingen, die het tegenovergestelde berichten, dat dit vet in vergetelheid raakt (zie SEVRINGHAUS [5]; STERN [6]; LUNDIN [7]).

P. VERKADE en J. COOPS [8] hebben dit vraagstuk nog eens ter hand genomen en al hebben hun proefnemingen de bruikbaarheid van vetten met een on-even aantal koolstof-atomen niet kunnen bewijzen, toch zijn deze proeven van groot belang, omdat deze een beter inzicht geven in de ontleding der vetzuren in het lichaam.

Deze onderzoekers gingen eerst na of het intarvine werkelijk geen vetzuren bevat met een even aantal C-atomen en zij kwamen daarbij tot de slotsom, dat flinke hoeveelheden van zuren met 14, 16 en 18 koolstof-atomen aanwezig zijn en het dus niet te verwonderen is, dat onderzoekingen met dit vet op niets zijn uitgeloopen.

Daarom werd in samenwerking met de Calve-fabrieken te Delft een vet samengesteld, dat alleen undecylenzuur bevatte (een vetzuur met 11 C-atomen); deze tri-undecylaat glycerine-ester is een smakeloos en reukeloos vet, dat door het lichaam goed wordt opgenomen.

Het bleek nu bij proeven op menschen, waarbij het voedsel-vet werd vervangen door dit vet, dat toch acidose tot ontwikkeling kwam; bij een nader onderzoek bleek het gevormde zuur undecaandizuur, $COOH(CH_2)_9COOH$, te zijn, wat dus gevormd werd door oxydatie van de eindstandige CH_3-groep.

Het blijkt uit deze onderzoekingen dus, dat vetzuren behalve aan

---

[1] A. RINGER en L. JONAS. Journ. o. biol. Chem. 14. 43. 1913.

[2] KAHN. Proc. o. the Soc. exper. Biol. a. Med. 19. 265. 1922.
Amer. Journ. o. med. Science. 166. B. 26. 1923.

[3] STRAUSS en WEST. Proc. o. the Soc. exper. Biol. a. Med. 21. 485. 1924.

[4] KAHN. Arch. intern. Med. 36. 44. 1925.

[5] SEVRINGHAUS. Journ. o. biol. Chem. 59.

[6] STERN. Medizin. Klin. 21. 958. 1925.

[7] LUNDIN. Journ. Metabol. Research. 4. 151. 1923.

[8] P. VERKADE en J. COOPS. Biochem. Zeitschr. 223. 394. 1930.
P. VERKADE. Verslag van de vergadering van het klin. Genootschap te Rotterdam op Dec. 1931. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1932. II. blz. 1782.

het β-koolstof-atoom ook kunnen worden geoxydeerd aan het eindstandige C-atoom. Dat een dergelijke verandering in de vetzuren door KNOOP niet is gevonden, verklaart VERKADE uit het feit, dat KNOOP vetzuren gebruikte, waarin aan het einde een phenyl-groep was ingevoerd. Dat G. EMBDEN nooit dergelijke verbindingen heeft waargenomen, is toe te schrijven aan het feit, dat hij alleen het gevormde diaceetzuur naging en zich niet om andere stoffen daarbij bekommerde.

Nu is het reeds langen tijd bekend, dat deze ophooping van acetonstoffen in het bloed en in de urine voorkomt bij een tekort aan koolhydraten in het voedsel, terwijl het toevoeren van koolhydraten meestal voldoende is om de vorming van deze stoffen tegen te gaan of geheel te verhinderen.

G. ROSENFELD drukte dit als volgt uit: „de acetonstoffen verbranden in het vuur der koolhydraten." Later, toen men wist, dat deze stoffen voornamelijk uit vetzuren ontstaan, werd dit gezegde veranderd in het gevleugelde woord: „de vetten verbranden in het vuur der koolhydraten."

Tegen de juistheid hiervan komt H. GEELMUYDEN [1] met kracht op, omdat bij suikerziekte sterke graden van ketonurie kunnen voorkomen, ook wanneer dezelfde hoeveelheden koolhydraat worden verbrand als bij normale menschen.

Dit is eveneens het geval bij zwangerschapsglycosurie, het periodieke braken bij kinderen en bij chloroform-vergiftiging, waarbij ook behoorlijke hoeveelheden suiker kunnen worden verbrand, terwijl toch acetonaemie bestaan kan.

Wanneer men het belangrijke werk van G. ROSENFELD [2] bestudeert, dan treft het daarbij onmiddellijk, dat ketonurie en vettransport zoo dikwijls samengaan. Zoo treft men deze toestanden aan bij suikerziekte, zwangerschapsglycosurie, phloridzinevergiftiging, de z.g. pancreasdiabetes, hongertoestand, vergiftiging met chloroform en phosphorus en bij het periodieke braken bij kinderen.

Verder is het bekend, dat bij al deze toestanden het glycogeengehalte van de lever zeer klein is. Het schijnt dan ook, dat er een antagonisme bestaat tusschen het glycogeen- en het vet-gehalte van de lever, waarvoor H. GEELMUYDEN de volgende verklaring geeft: wanneer er geen glycogeen meer in de lever is, dan wordt het vet naar dit orgaan vervoerd om daar omgezet te worden in koolhydraat, waarbij de acetonstoffen een tusschenproduct vormen. Deze gedachte is reeds eerder uitgesproken door v. MINKOWSKY, K. SPIRO en MAGNUS-LEVY (gecit. naar GEELMUYDEN, l.c.).

---

[1] H. GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 21. 1. 274.

[2] G. ROSENFELD. Ergebn. d. Physiol. 1. 651. 1902; 2. 50. 1903. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac. 55. 179 1906; 55. 344. 1906.

Door J. B. LEATHES is het waarschijnlijk gemaakt, dat het vet alvorens verbrand te worden, eerst in de lever wordt gedesatureerd (zie blz. 21).

Men zou zich dus kunnen voorstellen, dat wanneer alle suiker is verbruikt, de voorraden van het vet in het lichaam worden aangesproken, waarbij er dus volgens LEATHES transport van vet naar de lever plaats heeft.

De meening van LEATHES is niet in tegenspraak met die van KNOOP, omdat deze laatste bij zijn doorstroomingsproeven alleen vetzuren gebruikte met ten hoogste 10 koolstof-atomen. Het is dus zeer goed mogelijk, dat grootere koolstofketens eerst uiteen vallen in kleinere deelen na de desaturatie, welke kleinere deelen dan verder gesplitst worden door de β-oxydatie zooals KNOOP heeft aangegeven.

Men vraagt zich af, waardoor komen de boven besproken verschijnselen, hyperlipaemie en acidose, tot stand. Daarbij zal men het eerst denken aan het tekort aan insuline en zich de vraag voorleggen: *welke beteekenis heeft insuline voor de stofwisseling van het vet?*

De beteekenis van insuline voor de stofwisseling van het vet.

Door U. LOMBROSO [1] is er reeds opmerkzaam op gemaakt, voordat men het insuline kende, dat de alvleeschklier de vetstofwisseling regelt nog op een andere wijze dan door de uitwendige afscheiding.

Zoo werd ook door LOMBROSO en GENTILE [2] aangetoond, dat de kunstmatig doorstroomde lever een sterk vetsplitsend vermogen heeft, wanneer het dier op het hoogtepunt van de vertering was, terwijl dit niet werd waargenomen, wanneer de alvleeschklier was weggenomen, tenzij het dier te voren was behandeld met insuline.

Een zelfde verschijnsel werd door ROGER en BINET [3] vastgesteld voor het longweefsel.

Indachtig de meening van LEATHES, dat vetten alvorens te worden verbrand, eerst in de lever worden gedesatureerd, gingen HEPNER en WAGNER [4] de jodiumgetallen na van de lever-vetzuren bij normale dieren en bij honden die van te voren met een flinke dosis insuline waren ingespoten. Het bleek daarbij, dat door insuline de desaturatie en het vet-transport naar de lever worden geremd. Dit is des te merkwaardiger, daar bij honden die vergiftigd waren met phloridzine, een sterkere werkzaamheid van de lever in dit opzicht onder invloed van insuline kon worden waargenomen. HEPNER en WAGNER willen dan ook aan insuline een dubbele werkzaamheid op de vetstofwisse-

---

[1] U. LOMBROSO. Pflüger's Arch. 112. 531. 1906;
Arch. ital. de Biolog. 42. 336. 1904.
Arch. f. Exper. Pathol. u. Pharmac. 56. 357. 1907.
idem. 60 407. 1910.
Arch. die Fisiol. 8. 209. 1915.

[2] U. LOMBROSO en GENTILE. Arch. intern. d. Physiol. 23. 357. 1924.

[3] ROGER en BINET. Scand. Arch. f. Physiol. 49. 215. 1926.

[4] HEPNER en WAGNER. Biochem. Zeitschr. 189. 322. 1927.
idem. 193. 187. 1927.

ling toekennen: bij normale dieren een vermindering van de vetafbraak en bij lijders aan suikerziekte een versnelling van deze processen.

In een latere mededeeling van deze onderzoekers wordt verslag uitgebracht van de volgende proef: van twee groepen van honden, wordt de eerste groep gevoed terwijl de andere hongerlijdt; beiden worden 3 uur na het inspuiten van een flinke dosis insuline gedood en de lever fijngewreven. De leverpap van deze beide groepen wordt in twee deelen verdeeld, waarvan de eene helft onmiddellijk op de grootte van het vet-gehalte wordt onderzocht, terwijl de andere helft 4 uur aan autolyse wordt blootgesteld, nadat 20 cc. natrium-fluoride van 1% was toegevoegd.

Het bleek hierbij, dat bij normale dieren een duidelijke vermindering van het vetgehalte was waar te nemen, terwijl de leverpap van de dieren die in hongertoestand verkeerden, een flinke vermeerdering van de hoeveelheid vet te zien gaven.

In overeenstemming hiermede vindt ook TANGL [1] dat de invloed van het inspuiten van insuline op het bloed anders is bij normale honden dan bij dieren waarbij de alvleeschklier was weggenomen. Bij normale honden vond TANGL, dat het gehalte van het bloed aan vet en onverzadigde vetzuren grooter wordt na het inspuiten van insuline; terwijl bij de honden zonder alvleeschklier wel de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in het bloed toeneemt, maar dat in tegenstelling met hetgeen bij normale dieren werd gevonden, het vetgehalte van het bloed kleiner wordt.

Uit het beloop van de krommen, die een beeld geven van de veranderingen in het gehalte van het bloed aan vet en onverzadigde vetzuren en van de suiker, meende TANGL te mogen besluiten, dat onder den invloed van insuline vet overgaat in koolhydraat, waarbij de onverzadigde vetzuren een tusschenproduct vormen.

T. FURUKUBO [2] toonde aan, dat het dagelijksch inspuiten van een kleine dosis insuline (1/3 E. per K.G. lichaamsgewicht) de hoeveelheid vetzuur in het spierweefsel sterk doet toenemen, terwijl na een groote dosis insuline het gehalte van het spierweefsel aan vet kleiner wordt.

Hoewel uit deze onderzoekingen blijkt, dat insuline van beteekenis is voor de stofwisseling van het vet, zijn er toch verscheidene onderzoekers, die iedere werking van de insuline in dit opzicht bestrijden (BLIX en RAAB).

Nog steeds heeft men geen duidelijk beeld van de werking van dit hormoon en zijn er zeer veel theorieën daarover opgesteld, een rijkdom, die het onbetwistbaar teeken is van de armoede aan inzicht.

---

[1] H. TANGL. Biochem. Zeitschr. 241. 87. 1931.

[2] T. FURUKUBO. The Journ. o. Biochem. 13. 185. 1931.

H. GEELMUYDEN meent, dat insuline geen onmiddellijken invloed heeft op de verbranding der koolhydraten, maar dat dit hormoon de suikerstofwisseling slechts indirect regelt. Het kan de verbranding bevorderen door intermediaire processen in gang te zetten, maar vooral kan het een invloed oefenen op de stofwisseling, door de werking op de klieren met inwendige afscheiding.

Dit laatste is wel zeer waarschijnlijk, omdat alle klieren met inwendige afscheiding nauw met elkaar samenhangen.

In dit verband is het belangrijk te weten, dat KRAUS [1] bij 22 gevallen van suikerziekte ontaardingsprocessen vond in de schildklier, de bij-schildkliertjes, de bijnieren, de hypophyse en in de geslachtsklieren.

Daarom meent ook S. POLLAK [2] dat bij suikerziekte alle klieren met inwendige afscheiding zijn afgedaan, waarbij wel de alvleeschklier in de eerste plaats komt.

Daar door W. RAAB [3] is aangetoond, dat insuline geen invloed heeft op de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vetachtige stoffen, maar dat uittreksels van de midden- en achterkwab van de hypophyse een sterke werking in dit opzicht hebben, is het zeker niet uitgesloten, dat een stoornis in de inwendige afscheiding van de alvleeschklier indirect invloed kan hebben op de stofwisseling van het vet, door haar werking op de andere klieren met inwendige afscheiding.

---

[1] KRAUS. Vichow's Arch. 247. 1. 1923.

[2] S. POLLAK. Ergebn. inn. Med. u. Kindeh. 22. 237. 1923.

[3] W. RAAB. Wien. Arch. f. inn. Med. 7. 443. 1924.
Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 49. 179. 1926.

WERKWIJZEN VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VETTEN EN VET-ACHTIGE STOFFEN.

INLEIDING.

Alvorens over te gaan tot het bespreken van de werkwijzen, die ons ter beschikking staan voor het onderzoek naar de hoeveelheid vetten en vet-achtige stoffen in het bloed, is het noodig, vast te stellen, welke stoffen men onder deze namen samenvat, omdat hieromtrent verschillende opvattingen bestaan.

De naam lipoïde- of vetachtige stoffen, is afkomstig van E. OVERTON en door hem het eerst gebruikt voor alle stoffen, die de karakteristieke oplosbaarheid der vetten bezitten. Later heeft men hierin verandering gebracht. Op het oogenblik hebben verschillende onderzoekers een eigen indeeling van deze stoffen bedacht en geven zij ieder een eigen omschrijving van het begrip lipoïde-stoffen.

Alleen I. BANG [1] hield zich aan het oude begrip lipoïde-stoffen, zooals het door E. OVERTON is ingevoerd. Hij rekent tot de lipoïdestoffen alle vet-achtige stoffen, die oplosbaar zijn in alcohol en aether.

Sommigen echter trekken de grenzen verder.

Zoo noemt FR. CZAPEK [2] alle bij gewone temperatuur vloeibare stoffen van den cel-inhoud, die in tegenstelling met de in water oplosbare *HYDROïDE-STOFFEN*, niet in water, maar alleen in organische oplosmiddelen oplossen, LIPOïDE-STOFFEN.

S. LOEWE [3] vat onder den naam lipoïde-stoffen een veel kleiner aantal stoffen samen en verstaat hieronder alleen die stoffen, die in organische oplosmiddelen een colloïdale oplossing geven.

J. B. LEATHES gebruikt den term lipoïde-stoffen niet, maar wil

---

[1] I. BANG. Chemie und Biochemie der lipoide. Wiesbaden. Bergmann. 1911. Biochemie der Zellipoide. Ergebn. d. Physiol. 6. 131. 1907. idem. 8. 463. 1909.

[2] FR. CZAPEK. Ber. deutsch. Bot. Ges. 37. 207. 1919.

[3] S. LOEWE. Zeitschr. Neurol. 7. Heft 1. 1911.

het begrip „fats" daarvoor in de plaats stellen en wel in den allerwijdsten zin; hij rekent hiertoe alle stoffen, die samenhangen met de vetstofwisseling [1].

W. R. BLOOR [2] wil in navolging van LEATHES den naam lipoïdestoffen geven aan alle stoffen, die met deze vetstofwisseling samenhangen.

M.i. kan een zoo vaag omgrenzen van de begrippen vet en lipoïdestoffen, zooals die door LEATHES en BLOOR wordt voorgesteld, weinig instemming verwekken.

Ook de invoering van nieuwe namen kon de verwarring slechts grooter maken.

Zoo stelde GIES [3] voor om den term „lipine" te gebruiken; verder trachtte men den naam lipoïne in te voeren [4], terwijl voor de lipines en lipoïnes samen de benaming liposes werd voorgesteld; doch geen van deze nieuwe namen hebben zich weten te handhaven in de literatuur.

H. MAGISTRIS [5], die nog kort geleden een goed overzicht over den stand van onze kennis van deze stoffen in het licht heeft gegeven, houdt de begrippen vet en lipoïde-stoffen gescheiden.

Het lijkt mij ongetwijfeld van voordeel, met MAGISTRIS uit het vage begrip lipoïde-stoffen, een scherp omgrensde, en in bouw en samenstelling goed bekende groep van stoffen, uit te lichten, de vetten en vetzuren. Tot de overblijvende groep van stoffen, de lipoïde- of vet-achtige stoffen, kan men dan in de eerste plaats die rekenen, welke in samenstelling overeenkomst met vetten bezitten en bijv. nog vetzuren bevatten en veelal in oplosbaarheid eveneens nog met die der echte vetten min of meer overeenkomen, maar er van verschillen in samenstelling voornamelijk, doordat zij phosphorus en stikstof of een van beide bevatten.

Intusschen heeft men met deze indeeling nog geen rekening gehouden met een stof, die men toch algemeen tot de vet-achtige rekent, n.l. cholesterine. Deze stof, een onverzadigde aromatische alcohol, heeft, wat de samenstelling betreft, niets met vetten te maken en dat men haar tot de vet-achtige stoffen brengt, berust slechts op hare oplosbaarheid en het vermoedelijke verband, dat zij heeft met de stofwisseling der vetten.

Het begrip lipoïde- of vet-achtige stoffen is onmogelijk scherp te omgrenzen, omdat voortdurend nieuwe stoffen gevonden worden en omdat van verschillende van die producten de samenstelling en eigenschappen nog niet goed bekend zijn.

---

[1] J. B. LEATHES. The Fats. London. 1913.
[2] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 25. 577. 1916.
[3] W. GIES en ROSENBLOOM. Biochem. Bull. 1911/12. 1. 270.
[4] A. GRÜN. Analyse der Fette und Wachse. Bd. 1. Berlin. Springer. 1925.
[5] H. MAGISTRIS. Ergeb. d. Physiol. 31. 165. 1931.

A. Werkwijzen voor het onderzoek naar het gehalte van het bloed aan neutraalvet en vetzuren.

Geschiedenis.

Reeds langen tijd was het bekend, dat bij sommige ziektegevallen het bloedserum het uiterlijk van melk kan hebben. Een nauwkeurige beschrijving van dergelijke gevallen vindt men reeds bij M. Dobson [1] en bij P. Traill [2].

De eerste echter, die zorgvuldig naging, waardoor deze troebelheid wordt veroorzaakt, was Babington [3], die daarbij tot het besluit kwam, dat een emulsie van vet er aan ten grondslag ligt.

W. Hewson [4] vergeleek deze emulsie met de z.g. melkbolletjes in de melk en hij bereidde uit zulk serum een aanzienlijke hoeveelheid vet.

Het gehalte van het bloed aan vet werd voor het eerst onderzocht door Christison [5], die daarbij waarden vond van 3 tot 5% bij lijders aan gewrichtsaandoening.

B. Fischer [6] beschrijft een geval van diabetes mellitus, waarbij de patient in coma stierf en bij wien een sterke graad van hyperlipaemie werd gevonden. Hij onderzocht het vetgehalte door onmiddellijk na den dood 100 cc. bloed uit te trekken met aether en daarna dezen van het filtraat te verdampen. Door weging van de rest werd de grootte van het vetgehalte bepaald, waarbij Fischer een uitkomst verkreeg van 18,129%.

E. Graupner [7] meende de grootte van het vetgehalte van bloed te kunnen vaststellen, door bloed van lijders aan hyper-lipaemie geruimen tijd te laten staan en daarna de dikte te meten van de vetlaag, die boven komt drijven. Hij kwam op deze wijze tot een vetgehalte van 20%.

Fischer merkt zeer terecht op, dat men met deze wijze van werken uitkomsten verkrijgt, die van geen waarde zijn. Bijna steeds gebruikt men dan ook de werkwijze door Fischer aanbevolen, waarbij men na het bloed uitgetrokken te hebben met aether, door weging de hoeveelheid vet bepaalt na verdampen van den aether van het filtraat.

Ook voor het onderzoek naar het vetgehalte van organen werd deze werkwijze gebruikt, maar het bleek al spoedig, dat uittrekken

---

[1] M. Dobson. Medic. Observ. by a Soc. of Physic. London. 1775.
[2] P. Traill. Phill. Ann. 5. 179.
[3] Babington en Mariet. gecit. Nasse. Unters. z. Physiol. u. Path. blz. 300. gecit. Naunyn. a.a.o.s. 239.
[4] W. Hewson. Disquis exper. de Sanguinis natura. Ludg. Batav. 1785. 145.
[5] Christison. Edinburgh med. a. surg. journ. 39. 1831.
[6] B. Fischer. Arch. f. Path. Anat. u. Physiol. 1903. 172. blz. 30 en 218.
[7] E. Graupner. Ueber Lipaemie bei Diabetes Mellitus. Diss. Berlin. 1898.

met aether lang niet voldoende is en dat er belangrijke hoeveelheden vet in het bloed of weefsel achterblijven. Daarom werden er verschillende wijzigingen aangebracht.

E. PFLÜGER [1] stelde voor, om het weefsel eerst te behandelen met citroenzuur en daarna uit te trekken met aether, waarin citroenzuur zoo goed als onoplosbaar is.

C. DORMEYER [2] meent een volledig uittrekken te bereiken, door het weefsel eerst bloot te stellen aan een kunstmatige vertering met pepsine en zoutzuur.

G. ROSENFELD [3] trok het weefsel afwisselend uit met alcohol en chloroform en na indampen van dit uittreksel werd de rest behandeld met aether.

E. BOGDANOW [4] gebruikte alcohol en aether, evenals O. FRANK [5].

J. MERKING [6] kookte het weefsel eerst met zoutzuur en trok daarna uit met aether.

L. v. LIEBERMANN en S. SZEKELY [7] verzeepten de esters eerst met sterke loog en trokken daarna uit met aether.

W. GLIKIN [8] is dan nog de eenige, die petroleumaether gebruikte om het weefsel uit te trekken.

Een grondig onderzoek naar de waarde van al deze verschillende werkwijzen werd toen ingesteld door M. KUMAGAWA en K. SUTO [9]; de nieuwe wijze van werken, die door deze onderzoekers daarbij werd aangegeven, wordt heden ten dage nog steeds gebruikt om daaraan de nauwkeurigheid der z.g. „micromethoden" te toetsen.

Bij dit onderzoek nu is gebleken, dat alcohol het beste uittrekmiddel is, maar voor onderzoek naar de hoeveelheid ongeschikt, omdat er zoo veel verontreinigingen meekomen. Verder werd gevonden, dat het petroleumaether-uittreksel haast geen verontreinigingen bevat, maar dat het uittrekken met petroleumaether, zoo onmiddellijk op het weefsel of bloed toegepast, onvoldoende is en zelfs meer dan 11% van het vet daar in achter kan laten.

Door Y. SHIMIDZU [10] werd de gang van het onderzoek, zooals aangegeven was door KUMAGAWA en SUTO, eenigszins gewijzigd en geschikt gemaakt voor het onderzoek naar het vetgehalte van het bloed. Het groote bezwaar van deze werkwijze is, dat er 10 cc. bloed voor noodig is.

---

[1] E. PFLÜGER. Arch. f. d. ges. Physiol. 1892. dl. 51.
[2] C. DORMEYER. Arch. f. d. ges. Physiol. 61. 341 en 65. 90.
[3] G. ROSENFELD. Centralbl. f. Inn. Mediz. 21. 833. 1900.
[4] E. BOGDANOW. Arch. f. d. ges. Physiol. 68. 431.
[5] O. FRANK. Zeitschr. f. Biol. 35. 549.
[6] J. MERKING. Arch. f. d. ges. Physiol. 73. 172.
[7] L. v. LIEBERMANN en S. SZEKELY. Arch. f. d. ges. Physiol. 72. 360.
[8] W. GLIKIN. Arch. f. d. ges. Physiol 95. 107. 1903.
[9] M. KUMAGAWA en K. SUTO. Biochem. Zeitschr. 8. 212. 1908.
[10] Y. SHIMIDZU. Biochem. Zeitschr. 28. 1910.

Daarna is door W. R. BLOOR [1] in 1914 een werkwijze uitgedacht, die veel minder tijd en minder bloed vereischt. Hij ging hierbij als volgt te werk: 5 cc. bloed wordt uitgetrokken met een mengsel van 3 dl. alcohol en 1 dl. aether; dit uittreksel wordt verzeept met loog, vervolgens ongeveer geneutraliseerd en daarna uitgegoten in veel water. Er ontstaat dan een witte nevel, die veroorzaakt wordt door de onoplosbare vetzuren en de cholesterine. De sterkte van deze nevel is een maat voor het gehalte aan vetzuur en cholesterine en wordt vergeleken met een standaard-vloeistof in een nephelometer. Daarna wordt het gehalte aan cholesterine afzonderlijk colorimetrisch nagegaan met de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD en deze waarde van de totale hoeveelheid „vetzuur" afgetrokken.

De uitkomsten, die men echter op deze wijze verkreeg, bleken steeds grooter te zijn dan die, welke men vond met de gravimetrische werkwijze.

F. CSONKA [2] meende hiervoor de oorzaak te hebben gevonden in het feit, dat cholesterine een grootere „nephelometrische waarde" heeft dan de vetzuren, waardoor men dus van de algeheele waarde steeds te weinig aftrok voor de cholesterine.

Daarom verbeterde W. R. BLOOR [3] zijn werkwijze in 1922, waarbij hij de cholesterine scheidde van de vetzuren, door uit te trekken met kouden chloroform, waarin de cholesterine gemakkelijk oplost, terwijl de zeepen hierin niet overgaan.

Van verschillende zijden werd op deze wijze van werken critiek geoefend; vooral G. BLIX heeft zeer veel bezwaren er tegen geopperd.

Trouwens W. R. BLOOR zelf heeft de onvolkomenheid van zijn werkwijze ingezien, en deze later door een andere vervangen, waarbij hij het nephelometrische beginsel geheel heeft verlaten. De voornaamste bezwaren tegen Bloor's oude werkwijze zijn de volgende:

1. Voor een goede vergelijking mag de samenstelling van den standaard niet veel verschillen van de samenstelling van het bloedvet. Het gevolg daarvan is, dat de standaard-vloeistof zóó moet zijn samengesteld, dat het smeltpunt van het vetzuurmengsel hierin vrijwel overeenkomt met het smeltpunt van het normale bloedvet-mengsel. Daarom kan men deze manier van werken alleen gebruiken voor het z.g. „post-absorptieve stadium" van het bloed, waarbij de samenstelling van het bloedvet vrijwel standvastig zou zijn.

2. Wanneer er in de grootte van het gehalte van het bloed aan vet aanzienlijke veranderingen plaats hebben bij een proefneming.

---

[1] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 27. 377. 1914.
[2] F. CSONKA. Journ. o. Biol. Chem. 34. 577. 1918.
[3] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 52. 191. 1922.

dan maakt men dus fouten met deze werkwijze (over wisseling van de grootte van het vetgehalte zie L. CONDORELLI [1]).

3. Wanneer men beide emulsies eenigen tijd laat staan, voordat men de vergelijking maakt, dan hebben veranderingen plaats in deze beide vloeistoffen, doordat de vetzuurdeeltjes bezinken en samenballen. Alleen wanneer de verandering in beide vloeistoffen gelijk zijn, kan men de vergelijking zonder fouten te maken doen. Dit laatste is echter lang niet altijd het geval, zeker niet, wanneer de samenstelling van beide vloeistoffen veel uiteenloopt; dus maakt men zoodoende vaak fouten.

4. Ten slotte biedt het werken met den nephelometer praktisch zoowel als theoretisch groote bezwaren.

Niettegenstaande al deze bezwaren en het feit, dat BLOOR zelf zijn werkwijze heeft verlaten, is deze toch een der meest gebruikte.

Korten tijd nadat BLOOR zijn eerste werkwijze had bekend gemaakt in 1914, heeft I. BANG [2] een eigenaardig beginsel ingevoerd voor het onderzoek naar het gehalte van bloed aan vetten en vetachtige stoffen. Het bloed wordt bij deze werkwijze opgezogen in een bijzonder soort filtreerpapier, dat gewoonlijk aangeduid wordt met den naam „Bang-papiertje" en daarna snel gewogen aan een torsie-balans. Vervolgens wordt het papiertje uitgetrokken met alcohol en aether, en het vet verzeept met een paar druppels loog van 0,1 n sterkte. Met deze zeep-oplossing, die in een microburet wordt gebracht, wordt 1 cc. calciumchloride van bekende sterkte getitreerd, tot er een schuimvorming ontstaat, die minstens 5 min. blijft bestaan.

Het groote bezwaar van deze wijze van werken ligt, zooals men onmiddellijk zal inzien, in het vaststellen van het eindpunt der titratie.

Deze werkwijze heeft zoo goed als geen praktische toepassing gevonden. Enkele wijzigingen werden er in aangebracht door WEEHUIZEN, en WEEHUIZEN-CARPENTIER ALTING. Met deze wijzigingen is er door J. DE LANGEN en W. SCHUT [3] mede gewerkt, maar nadien leest men geen enkele mededeeling meer van onderzoekingen, waarbij van deze werkwijze gebruik is gemaakt.

De onvolkomenheid van zijn werkwijze inziend, deelde BANG [4] twee jaren later een andere mede, die op een geheel ander beginsel berust.

---

[1] L. CONDORELLI. Riforma Med. 38. 746. 1922.

[2] I. BANG. Mikromethoden zur Bestimmung einiger Blutbestandteile. Bergmann. 1916.

[3] J. DE LANGEN en W. SCHUT. Mededeel. geneesk. Lab. te Weltevreden. 3e serie. A. 1919. No. 2.

[4] I. BANG. Bioch. Zeitschr. 91. 86. 1918.

Bij het schoonmaken van glaswerk gebruikte men reeds lang een mengsel van kaliumbichromaat en zwavelzuur, waarmede het vet wordt geoxydeerd.

Deze werkwijze bracht BANG op de gedachte om het vet uit het bloed ook te oxydeeren met het mengsel kaliumbichromaat-zwavelzuur, waarbij chroom-oxyde ontstaat.

De overmaat kaliumbichromaat maakt jodium vrij uit kaliumjodide dat is toegevoegd, waarna men het vrijgekomen jodium titreert met thiosulfaat.

Het uittrekken van de vetten en vet-achtige stoffen uit het bloed gebeurt bij deze werkwijze op een zeer eigenaardige manier.

Het bloed wordt weer opgevangen in een papiertje en dit wordt na drogen uitgetrokken met petroleumaether, waarbij dan alleen het vet en de vrije cholesterine oplossen.

Volgens BANG gaat er geen spoor van phosphatides, vetzuurzeepen of cholesterine-esters in den petroleumaether over. Deze stoffen worden vervolgens uit het papiertje getrokken met alcohol, waardoor men het z.g. tweede uittreksel met alcohol verkrijgt. Met deze (men zou het „gefractioneerde extractie" kunnen noemen) wijze van werken gelukte het BANG om de hoeveelheid neutraalvet en vetzuren, cholesterine en cholesterine-esters in het bloed afzonderlijk te onderzoeken. Vooral het scheiden van neutraalvet en vetzuren is dikwijls van beteekenis en is nog met geen enkele andere werkwijze gelukt.

Bij mijn proeven trok ik het bloed uit met het alcohol-aethermengsel, zonder van een Bang-papiertje gebruik te maken. Dit uittreksel werd ingedampt tot droog en de droge rest uitgetrokken met petroleum-aether (het eerste uittreksel met petroleum-aether); wat daarna nog van de droge rest achterbleef, werd opgelost in alcohol (het tweede uittreksel met alcohol).

Het bleek mij nu, dat het tweede uittreksel met alcohol geen cholesterine meer bevatte, maar dat de cholesterine-esters, zoowel als de vrije cholesterine overgegaan waren in het eerste uittreksel met petroleum-aether. Hetzelfde bleek het geval te zijn met de phosphatides; ook hiervan was geen spoor meer aan te toonen in het tweede uittreksel met alcohol.

Ook H. JASTROWITZ [1] vond bij zijn proeven, dat er van het „gefractioneerd uittrekken" niets terecht komt.

G. BLIX [2] wijst in zijn critiek op de werkwijze van BANG er nadrukkelijk op, dat die wijze van uittrekken alleen geldt voor bloed, dat gedroogd is in een Bang-papiertje en niet, wanneer men het bloed als zoodanig uittrekt.

Er is geen andere werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, die zoo

[1] H. JASTROWITZ. Zeitschr. f. d. ges. exp. Mediz. 27. 276. 1922.

[2] G. BLIX. Skan. Arch. f. Physiol. 48. 267. 1926.

aan scherpe critiek is onderworpen geworden, als deze werkwijze van BANG.

Door verschillende onderzoekers werden soms zeer uiteenloopende waarden gevonden bij dubbelbepalingen. Dit ligt zeker voor een groot deel aan het feit, dat verontreiniging bij deze werkwijze een zoo grooten rol speelt, omdat men alleen het gehalte aan organische stof bepaalt.

Een andere moeilijkheid is gelegen in de z.g. reductie-coëfficienten.

De oxydatie der vetten en vet-achtige stoffen door middel van het mengsel kaliumbichromaat en zwavelzuur is lang niet volledig, d.w.z. gaat niet tot de vorming van koolzuur en water; bovendien werken de verschillende stoffen niet even sterk reduceerend. Daarom heeft BANG de z.g. reductie-coëfficienten berekend voor olie-zuur en cholesterine, waarmede men de uitkomst moet vermenigvuldigen. Daarbij wordt dan de grootte van het gehalte aan vetzuur berekend als oliezuur. Door de verschillende onderzoekers worden nu verschillende waarden gevonden voor deze reductie-coëfficienten, zooals uit het onderstaand lijstje blijkt:

reductie-coëff.	BANG	BLIX	FLEISCH	BLOOR	VASILEWSKA
voor olie-zuur	2,50	2,06	2,50	2,29	2,65
voor cholesterine	2,45	2,47		2,62	

BLOOR [1] geeft in zijn critiek op de werkwijze van BANG de reden hiervoor aan: „the reason for the differences in the oxydation-factor is not far to seek, since the oxydation of the fatty acids by BANG's procedure is incomplete (less than two-thirds). The end-point would therefore be subject to various influences such as environnemental temperature and the rate of cooling of the reaction mixture (BLIX states that the temperature factor is unimportant) and the presence of foreign substances either oxydable of acting as catalysts".

Het gelukte BLOOR ook met deze werkwijze niet om overeenstemmende uitkomsten bij dubbelbepalingen te verkrijgen.

G. BLIX [2] heeft de werkwijze van BANG grondig bestudeerd en gebruikt deze, na er enkele wijzigingen in aangebracht te hebben, die het beginsel niet raken, met goed gevolg.

Ook A. FLEISCH [3] is een voorstander van deze werkwijze en heeft zeer veel onderzoekingen er mede gedaan, waarbij hij tot het besluit komt: „die BANG-sche mikrolipoidbestimmung besitzt somit eine hohe Konstanz ihrer Resultate".

Toch zijn er ook nog geheel andere geluiden gehoord.

---

[1] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 77. 53. 1928.

[2] G. BLIX. Studies on diabetic lipeamia. London. 1925. Skan. Arch. f. Physiol. 48. 267. 1926.

[3] A. FLEISCH. Bioch. Zeitschr. 177. 453. 1926.

JOH. MAAS [1] acht in haar scherpe critiek deze werkwijze totaal onbruikbaar. Haar bezwaren zijn als volgt samen te vatten:

1. Bij een dergelijk krachtig oxydatie-middel, zooals het mengsel kaliumbichromaat en zwavelzuur is, spelen verontreinigingen (stof, sporen vet van de vingers van den onderzoeker, enz.) een groote rol. Doordat men zoo weinig bloed gebruikt, (100 tot 130 mG.), waarin 0,1 tot 0,2 mG. cholesterine aanwezig is en nog minder vet, worden de kleinste verontreinigingen van beteekenis en maakt men bij de berekening per 100 cc. nog een aanzienlijke fout.

2. BANG gebruikte een z.g. bloedpapiertje om het bloed op te vangen en werpt dit in de vloeistof, waarmede hij wil uittrekken. Bij deze wijze van werken mag men toch veronderstellen, dat nu eens meer, dan weer minder vezeltjes van het papier zullen loslaten, die later eveneens door het mengsel kaliumbichromaat-zwavelzuur zullen worden geoxydeerd.

3. Daar de oxydatie niet tot het einde afloopt, d.w.z. niet tot de vorming van koolzuur en water, moet men, om het gehalte aan vet juist te kunnen berekenen, veronderstellen, dat de oxydatie steeds op eenzelfde trap blijft staan. Hierbij echter spelen verschillende omstandigheden een rol, waarbij de temperatuur wel de voornaamste is. Ook BLOOR heeft vroeger op dit bezwaar tegen de werkwijze van BANG gewezen.

BANG gebruikte bij de oxydatie alleen de warmte die ontstaat door het vermengen van de bichromaat-oplossing met het sterke zwavelzuur. De temperatuur, waarbij de daarop volgende reactie zich zal afspelen, moet dus afhankelijk zijn: 1. van het watergehalte van het zwavelzuur, 2. van de oorspronkelijke temperatuur der vloeistoffen, die dus afhankelijk is van de kamertemperatuur, 3. van de snelheid, waarmee het mengsel afkoelt.

A. FLEISCH en S. LEITES [2], die beiden veel onderzoekingen met de werkwijze van BANG gedaan hebben en daarmede goede uitkomsten verkregen, maken zich eenvoudig van de critiek van JOH. MAAS af, door te zeggen, dat zij onnauwkeurig heeft gewerkt.

In Nederland is door J. J. VAN LEEUWEN [3] de werkwijze van BANG gebruikt, die in zijn mededeeling de punten, door JOH. MAAS opgesteld, tracht te weerleggen.

Wat nu betreft punt 1, daarbij merkt hij op, dat voor een goed physico-chemisch onderzoek het gebruik van zuiver en schoon glaswerk steeds een eerste vereischte is. Men mag toch veronderstellen,

---

[1] JOH. MAAS. Bioch. Zeitschr. 144. 379. 1924.
[2] S. LEITES. Bioch. Zeitschr. 184. 273. 1927.
[3] J. J. VAN LEEUWEN. Dissert. Leiden. 1930.

dat dergelijke grondbeginselen aan JOH. MAAS niet geheel onbekend zijn. Een vraag is echter (die door VAN LEEUWEN ontloopen wordt), of men een dergelijke zuiverheid, die noodig zou zijn voor deze werkwijze, om alle fouten te vermijden, ooit kan bereiken.

Bij punt 2 merkt hij op, dat het loslaten van papiervezeltjes kon voorkomen worden door deze van te voren lang te schudden met het uittrek-middel, een wijze van werken die eerder reeds aangegeven was door FÖRSTER [1]. Hoe VAN LEEUWEN heeft nagegaan, dat nu werkelijk geen vezeltjes meer loslieten, vermeldt hij niet.

Over het derde punt, uit de critiek van JOH. MAAS, dat zeker het voornaamste bezwaar tegen de werkwijze van BANG inhoudt, zwijgt hij geheel.

Alles bij elkaar genomen, zegt ons een dergelijk weerleggen van de bezwaren, die door JOH. MAAS waren geopperd, hoegenaamd niets.

A. v. SZENT-GYORGYI [2] wijst op de onmogelijkheid om met de werkwijze van BANG de cholesterine zuiver uit te trekken; dit zou volgens hem alleen gelukken, door deze eerst om te zetten in de digitonine-ester.

Er is echter mijns inziens nog een ander bezwaar tegen de werkwijze van BANG aan te voeren.

Alle werkwijzen voor het onderzoek naar het gehalte van het bloed aan vetten en vet-achtige stoffen, berusten op karakteristieke oplosbaarheid of on-oplosbaarheid van deze stoffen in bepaalde oplosmiddelen. In deze oplosmiddelen zullen echter steeds nog andere stoffen oplossen, hetzij bekende stoffen of onbekende. Daar men nu met BANG's werkwijze alleen maar de hoeveelheid *organische stof* bepaalt, zal men zeer waarschijnlijk te groote waarden vinden.

Daar nu het uittrekken van de verschillende vet-achtige stoffen verder is gegrond op de z.g. „gefractioneerde extractie", d.w.z. op de absolute onoplosbaarheid van de cholesterine-esters, phosphatides en vetzuurzeepen in petroleumaether, zal men ongetwijfeld kleine fouten maken, omdat absolute onoplosbaarheid niet bestaat. Ook al vindt men met de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD, dat er geen cholesterine oplost in de petroleum-aether, dan nog is het goed mogelijk, dat een zoo kleine hoeveelheid merkbaar is, wanneer men het gehalte aan organische stof bepaalt met een zoo gevoelig mengsel als kaliumbichromaat-zwavelzuur. Dit nu is door BANG niet voldoende nagegaan.

Al deze kleinigheden krijgen in de werkwijze van BANG beteekenis, omdat men met zeer weinig bloed werkt en men dus de uitkomst met ongeveer 1000 moet vermenigvuldigen bij de berekening per 100 cc. bloed.

---

[1] FÖRSTER. Bioch. Zeitschr. 146. 562. 1924.

[2] A. v. SZENT-GYORGYI. Bioch. Zeitschr. 136. 112. 1925.

In dit verband is het misschien nuttig er op te wijzen, dat alle werkwijzen voor het onderzoek naar het gehalte van bloed of weefsels aan vet en vet-achtige stoffen, min of meer gebrekkig zullen zijn, omdat ze allen berusten op deze karakteristieke oplosbaarheid. Daarbij komt nog:

1. dat vet-achtige stoffen zeer zwakke lichamen zijn, die gemakkelijk veranderen, vooral de phosphatides. Daarbij komt het voor, dat kleine veranderingen in bouw of samenstelling groote veranderingen in de oplosbaarheid geven.

2. Verder komt het voor, dat vet-achtige stoffen, die geheel onoplosbaar zijn, in aceton bijvoorbeeld, daarin wel oplossen bij de aanwezigheid van andere, wel in aceton oplosbare vet-achtige stoffen.

3. Sommige vet-achtige stoffen schijnen physische of chemische verbindingen aan te gaan met andere bestanddeelen van het bloed (eiwitstoffen) en zijn daardoor soms niet uit te trekken. De hoeveelheid van deze vet-achtige stoffen is zeer wisselend en afhankelijk van de behandeling van het bloed (drogen).

4. De oplosbaarheid van enkele onzuiverheden, zooals kleurstoffen, komt erg overeen met die van de vet-achtige stoffen, waardoor deze verontreinigingen moeilijk of niet zijn te verwijderen.

Op al deze bezwaren is door G. BLIX uitvoerig gewezen in zijn studie over de werkwijze van BANG.

Wanneer men nu de cholesterine uit het bloed zuiver in oplossing meent te hebben, wat dus zelden of nooit het geval zal zijn en men bepaalt hierin de grootte van het gehalte met de werkwijze van BANG of langs colorimetrischen weg (reactie van LIEBERMANN-BRUCHARD), dan is gemakkelijk in te zien, dat men op de eerste manier meer fouten maakt dan op de laatste. Immers bij BANG's werkwijze bepaalt men de hoeveelheid organische stof in deze oplossing, waarbij dus iedere verontreiniging gevonden wordt; bij de colorimetrische werkwijze bepaalt men alleen de hoeveelheid van die stof, die de reactie geeft van LIEBERMANN-BURCHARD. Nu zijn er tot nu toe geen stoffen bekend, die ook deze kleurreactie geven, wat natuurlijk niet wil zeggen, dat er geen zijn. Maar ook al zouden er enkele stoffen in die oplossing aanwezig zijn, die ook de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD geven, dan nog zal de fout, die men maakt, met deze laatste werkwijze kleiner zijn, dan die, welke men maakt met BANG's werkwijze, omdat men zeker een deel van de verontreinigingen buiten zijn berekening laat.

Hetzelfde geldt natuurlijk ook voor de vetten en phosphatides.

Deze werkwijze, die zooveel becritiseerd is, is natuurlijk ook her-

haalde malen gewijzigd, welke veranderingen echter meestal van ondergeschikt belang zijn.

De werkwijze is wel het best bestudeerd door G. BLIX [1], die er ook enkele wijzigingen in aanbracht.

Andere veranderingen zijn die van L. CONDORELLI [2], P. VASILEWSKA [3] en van T. VON FELLENBERG [4].

Een andere werkwijze, die op hetzelfde beginsel berust, is die van GADE [5], waarbij de oxydatie der vetten wordt bewerkstelligd door een overmaat kaliumpermanganaat; de rest van het permanganaat wordt teruggetitreerd met oxaalzuur.

Deze werkwijze wordt nooit toegepast, omdat ze buiten de bezwaren, die men tegen BANG's werkwijze heeft geopperd, er nog enkele aan toevoegt.

H. BING en H. HEKSCHER [6] achten de verontreinigingen een overwegend bezwaar tegen het gebruik van de werkwijze van BANG en stellen daarom een nieuwe wijze van onderzoek voor, die op het volgende beginsel berust: door barium-zouten wordt het vetzuur uit een alcoholische oplossing neergeslagen, waarbij een troebelheid ontstaat, die men in een nephelometer kan vergelijken met een standaardsuspensie, welke gemaakt werd van kaolin en 15% gelatine.

Voor deze werkwijze gelden de bezwaren, tegen BLOOR's nephelometrische werkwijze reeds opgenoemd, natuurlijk nog in veel grootere mate, omdat men hier twee geheel verschillende suspensies vergelijkt.

W. PORTHEINE [7] becritiseert deze werkwijze, m.i. geheel terecht, zeer scherp en wel om de volgende redenen: men weet in het geheel niet, wat er eigenlijk bepaald wordt, terwijl BING en HEKSCHER ook geen enkele poging vermelden om na te gaan, wat men eigenlijk met bariumchloride neerslaat.

PORTHEINE vindt deze werkwijze een stap achteruit in de werkwijzen voor het onderzoek naar het gehalte van het bloed aan vet, omdat men uitkomsten verkrijgt, zonder dat men ook maar bij benadering kan zeggen wat ze aanduiden.

Daarna werd door C. STEWART en A. WHITE [8] een nieuwe weg voor het onderzoek aangegeven, met een geheel nieuw beginsel. De vetten worden in deze werkwijze verzeept en het vrijgekomen vetzuur getitreerd met loog van 0,1 n sterkte. Op deze werkwijze, die ik

---

[1] G. BLIX. Skan. Arch. f. Physiol. 48. 267. 1926.

[2] CONDORELLI. Riforma med. 1922. 38. 746.

[3] P. VASILEWSKA. Trav. Inst. Nencki. 1923. No. 28 van chem. Zentr. 1925. 1. 2715.

[4] T. VON FELLENBERG. Bioch. Zeitschr. 188. 365. 1927.

[5] H. E. GADE. Bibliot. Laeger Købenk. 91. 1.

[6] H. BING en H. HEKSCHER. Bioch. Zeitschr. 149. 79. 1924.

[7] W. PORTHEINE. Nephelometrische bloedvetbepalingen bij lijders aan suikerziekte. Dissert. Utrecht. 1927.

[8] C. STEWART en A. WHITE. Biochem. Journ. 19. 840. 1925.

voor mijn onderzoek heb uitgekozen, kom ik later nog uitvoerig terug.

Door mej. DR. KOBUS [1] is een nieuwe werkwijze aangegeven in haar proefschrift „Het bloedvet bij kinderen gemeten in monomoleculaire laag". Deze werkwijze berust op het feit, dat vetten en vetachtige stoffen zich op een watervlak uitbreiden in een mono-moleculaire laag, wanneer het oppervlak maar groot genoeg is, een eigenschap, die door LANGMUIR is gevonden. Met een toestel, dat gebouwd is door LANGMUIR-ADAM, werd de grootte van het oppervlak gemeten en hieruit het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen berekend.

Ook deze werkwijze heeft tot nu toe geen practische toepassing gevonden.

BLOOR [2], die het voornaamste bezwaar tegen BANG's werkwijze gelegen vindt in de onvolledige oxydatie der vetten, met als gevolg de verschillende reductie-coëfficienten bij verschillende onderzoekers, heeft zelf in 1928 een werkwijze medegedeeld, die berust op het beginsel van BANG. maar hij gebruikte daarbij als oxydatiemiddel het mengsel van G. SIMON en M. NICLOUX [3], in welk mengsel zilver als katalysator wordt gebruikt en waarmede BLOOR het vet meende te oxydeeren tot CO_2 en H_2O.

Voor deze werkwijze gelden natuurlijk nog de andere bezwaren, die tegen de werkwijze van BANG zijn geopperd, ook al zou de oxydatie nu werkelijk standvastiger zijn. Het nadeel van het mengsel van SIMON en NICLOUX is echter, dat hier temperatuur en tijd een grootere rol spelen dan bij het oxydatie-mengsel van BANG. Een nieuw bezwaar is hier, dat de terug-oxydatie door de zuurstof uit de lucht gemakkelijker kan plaats hebben, waarvoor men dus bijzondere voorzorgsmaatregelen moet nemen.

De eenige colorimetrische werkwijze, die er bestaat voor het onderzoek naar het gehalte van bloed aan vet, is medegedeeld door J. A. MILROY [4] in 1928.

Na het uittrekken van het vet volgens de werkwijze van BLOOR, wordt het neutraalvet gekleurd met Nijl-blauw-hydrochloride.

Deze kleurstof werd het eerst gebruikt door LORRAIN-SMITH [5] voor het kleuren van neutraalvet.

Ook deze wijze van werken is practisch nooit toegepast.

Naar aanleiding van de titratie-werkwijze van C. STEWART en

---

[1] E. KOBUS. Het bloedvet bij kinderen gemeten in monomoleculaire laag. Diss. Leiden. 1926.

[2] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 77. 53. 1928.

[3] G. SIMON en M. NICLOUX. Bull. Soc. Chim. biol. 1927. 9. 758.

[4] J. A. MILROY. Biochem. Journ. 22. 1206. 1928.

[5] LORRAIN SMITH. Journ. Path. Bact. 12. 1. 1908 en 15. 53. 1911.

A. WHITE werd door J. STODDARD en P. DRURY [1] een nieuwe werkwijze ingevoerd, om enkele bezwaren van de eerste te ontgaan.

Bij het bespreken van de door mij gevolgde werkwijze, kom ik nog op deze van STODDARD en DRURY, die geen vooruitgang is gebleken, terug.

Ten slotte werd een laatste nieuwe wijze van onderzoek uitgewerkt door S. KATSURA en T. HATAKEYAMA [2], die een titrimetrische werkwijze is, opgebouwd uit een vereeniging van de werkwijzen van BANG en BLOOR.

Deze werkwijze, die ook nog door geen enkele onderzoeker is nagegaan, bezit de som van de bezwaren, die er tegen het gebruik van beide genoemde werkwijzen bestaan; bovendien is de weg, die bij het onderzoek wordt gevolgd, door de onderzoekers slecht verantwoord.

Beschrijving van de gevolgde werkwijze voor het onderzoek naar het vet-gehalte van bloed.

Het beginsel van de werkwijze van C. STEWART en A. WHITE [3], dat ook door mij is gebruikt, is het volgende: het bloedvet wordt uitgetrokken met een mengsel van alcohol en aether; na filtreeren wordt het vet verzeept door aan het uittreksel 5 cc. loog van 0,1 n sterkte toe te voegen en dit mengsel op een waterbad in te dampen tot droog; STEWART en WHITE veronderstellen (stilzwijgend), dat het verzeepen volledig is. Na het verzeepen der vetten wordt de toegevoegde loog nauwkeurig geneutraliseerd met 5 cc. zoutzuur van 0,1 n sterkte en even verwarmd om het opgenomen koolzuur uit te drijven. Daarna wordt het bij het verzeepen vrij gekomen vetzuur getitreerd met loog van 0,1 n sterkte uit een bijzonder soort buret.

Wanneer men met weinig bloed werkt, b.v. met ½ cc., dan bedraagt de hoeveelheid vet-zuur, die daaruit vrijkomt door verzeepen, ongeveer 2,5 mG., voor normaal bloed. Deze hoeveelheid vetzuur is aequivalent met 0,097 cc. loog van 0,1 n sterkte, wanneer we veronderstellen met oliezuur te maken te hebben. Men begrijpt, dat dergelijke kleine hoeveelheden niet te titreeren zijn met een gewone micro-buret.

Daarom gebruikten STEWART en WHITE voor hun onderzoek een z.g. buret van P. REHBERG.

Bij het onderzoek naar de grootte van het ammoniak-gehalte van

---

[1] J. STODDARD en P. DRURY. Journ. o. Biol. Chem. 84. 741. 1929.
[2] S. KATSURA en T. HATAKEYAMA. Bioch. Zeitschr. 234. 462. 1931.
[3] C. STEWART en A. WHITE. Biochem. Journ. 19. 840. 1925.

het bloed gebruikte REHBERG [1] een buret, waarmede men af kan lezen tot in 0,1 mm^3.

Deze buret bestaat uit een capillaire buis, die een lumen heeft van 0,8 tot 0,9 mm., zoodat 0,1 cc inhoud is verdeeld over een lengte van 15 tot 20 cM. Aan het ondereind van deze buis bevindt zich een kwikreservoir, van waaruit men door middel van een schroef het kwik kan doen stijgen in de capillaire buis. De spoed van de schroef is zoo, dat met een omdraai het kwik ongeveer 4 mm. stijgt.

Boven aan de capillaire buis is door middel van een gummislangetje een omgebogen buisje bevestigd, waarvan het einde is uitgetrokken tot een opening van 0,8 tot 1 mm.

Wanneer het kwik op het nulpunt is gesteld, en de capillaire buis is gevuld met de loog, waarmede men wil titreeren, kan men dus door het kwik langzaam omhoog te draaien, loog uit de capillaire buis in de vloeistof drijven, die men wil titreeren. Om hierbij nu onafhankelijk te zijn van de vorming van druppels, wordt het einde van het omgebogen buisje even onder de oppervlakte van de vloeistof die men wil titreeren, gebracht. Ten einde een goed vermengen van de vloeistoffen te krijgen, wordt door middel van een dun buisje koolzuurvrije lucht door de vloeistof geblazen.

Het vullen van de buret kost eenige moeite.

Daartoe wordt het bovenstuk er van verwijderd en het kwik omhooggedraaid tot boven in de capillaire buis; door het kwik vervolgens naar beneden te draaien, terwijl men het einde van de capillaire buis in een bakje met loog houdt, kan men deze gemakkelijk vullen. Daarna moet het losse bovenstuk afzonderlijk gevuld worden en vervolgens weer op de capillaire buis worden gezet, waarbij men op zijn hoede moet zijn, om te verhinderen, dat men luchtbelletjes insluit.

Volgens REHBERG zou een klein luchtbelletje van 1 tot 5 mm. lengte, dat bij het titreeren mee op en neer beweegt, geen fouten geven bij het onderzoek. De grootste titratie-fout zou op deze manier hoogstens 0,9 mm^3. bedragen.

Het beginsel van deze buret is door REHBERG niet uitgedacht, maar eenzelfde soort instrument werd eerder reeds door A. KROGH [2] gebruikt bij zijn micro-gas-analyse.

Ik heb bij mijn onderzoek de buret van P. REHBERG niet als zoodanig gebruikt, omdat zij mijns inziens belangrijke bezwaren heeft.

1. Het vullen van de buret is zeer omslachtig en kost veel tijd.
2. Bij het vullen op de manier, zooals STEWARTH en WHITE opgeven, is het onmogelijk om te voorkomen, dat de loog niet in aanraking komt met de buitenlucht, waarbij er door het kool-

[1] P. REHBERG. Biochem. Journ. 19. 270. 1925.
[2] A. KROGH. Skan. f. Physiol. 20. 279. 1908.

zuur zeker veranderingen in zullen ontstaan. Deze veranderingen zijn natuurlijk zeer gering, maar worden van beteekenis door de kleine hoeveelheid, die men gebruikt.

3. Bij het opzetten van het bovenstuk is het onmogelijk te voorkomen, dat daarbij kleinere of grootere luchtbelletjes binnendringen. Volgens REHBERG zouden deze kleine belletjes niet van beteekenis zijn. Echter ziet men, dat luchtbelletjes, wanneer ze van onder naar boven geschoven worden bij de titratie, zichtbaar toenemen in grootte, omdat de druk kleiner wordt. Bovendien geeft deze lucht, door het koolzuur, wat er in aanwezig is, veranderingen in de loog.

4. De bevestiging van het bovenstuk aan de buret door middel van een gummislangetje is niet in overeenstemming met de nauwkeurigheid, die men van het instrument wil eischen. Immers men wil aflezen tot in tienduizendste kubieke centimeters en men mag toch verwachten, dat er bij een dergelijk vereenigen van twee buizen, wel eens zooveel verloren gaat.

Deze bezwaren nu waren gemakkelijk te ondervangen.

Daarom nam ik een capillaire buis, waarvan de inhoud van 0,4 cc. verdeeld is tot in duizendste kubieke centimeters over 1 M. lengte en boog die aan het einde om op dezelfde manier als het losse stuk bij REHBERG's buret, zoodat de buret nu uit een stuk bestaat (zie figuur 1). Verder werd even boven het kwikreservoir (a) een zij-buisje (b) aangebracht, waardoor de voorraad-flesch met loog (c) voortdurend met de buret was verbonden, zonder ooit in aanraking te komen met de lucht.

Tusschen het kwikreservoir, de capillaire buis en het zij-buisje werd nu een driewegkraan (d) aangebracht.

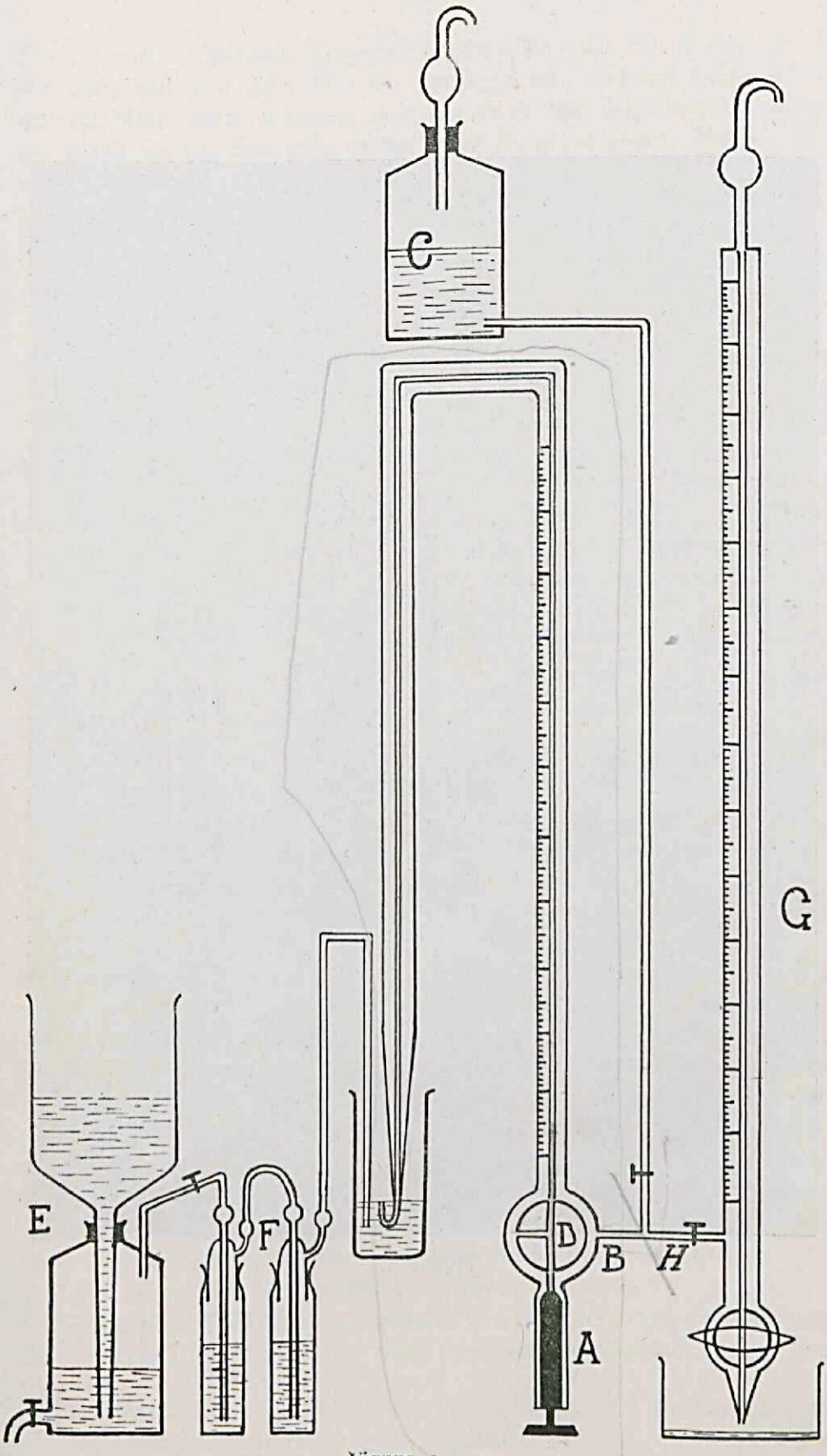
Het vullen van de buret is nu zeer gemakkelijk, en zonder fouten uit te voeren. Daartoe wordt dan de kraan zoo geplaatst, dat er alleen de verbinding bestaat tusschen voorraad-flesch en capillaire buis, waarbij de buret zich van zelf vult, wanneer de flesch hoog geplaatst is.

Daarna draait men de kraan 90 graden om, zoodat er alleen de verbinding tusschen kwikreservoir en buret bestaat, waarna men dan vóór de titratie het kwik eerst op het nulpunt brengt.

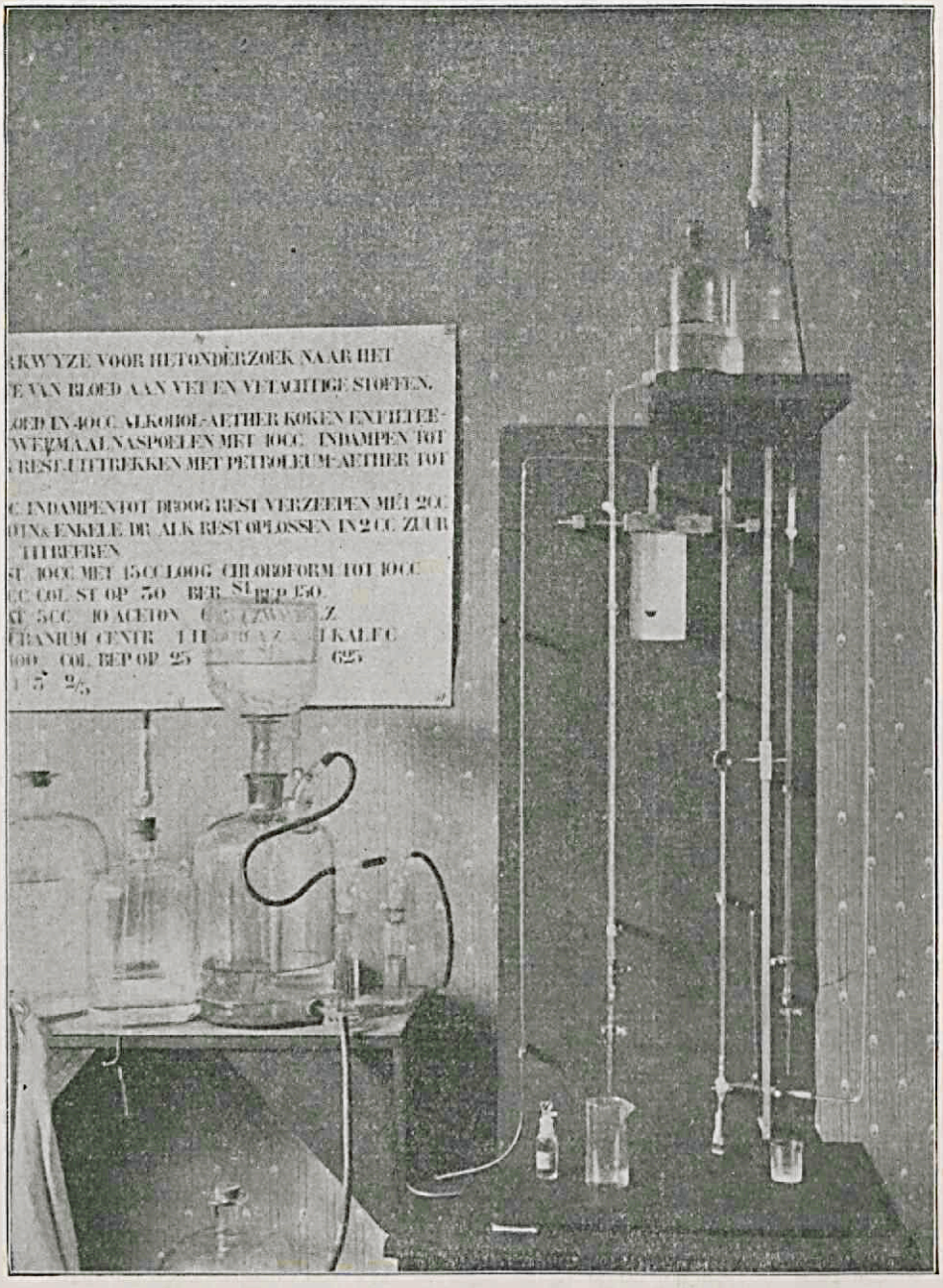
Met dit instrument had ik dus het voordeel, dat vullen veel eenvoudiger is, terwijl er nooit lucht ingesloten wordt en de loog ook niet verandert door de buitenlucht.

Enkele kleine veranderingen, die bij het titreeren pas wenschelijk bleken, werden later nog aangebracht.

Het is namelijk zeer moeilijk om een schroef te snijden, die bij het naar beneden draaien geen kwik meeneemt, zoodat er dus voort-



Figuur 1.


KWYZE VOOR HET ONDERZOEK NAAR HET
E VAN BLOED AAN VET EN VETACHTIGE STOFFEN.
OED IN 40 CC ALKOHOL-AETHER KOKEN EN FILTEE-
WERMAAL NASPOELEN MET 10 CC INDAMPEN TOT
REST UITTREKKEN MET PETROLEUM-AETHER TOT
C INDAMPEN TOT DROOG REST VERZEEPEN MET 2 CC
OTN & ENKELE DR ALK REST OPLOSSEN IN 2 CC ZUUR
TITREEREN
ST 10 CC MET 15 CC LOOG CHLOROFORM TOT 10 CC
CC COL ST OP 30 BER ST BEP 150
ST 5 CC 10 ACETON
CRANIUM CENTR
COL BEP OP 25
625

Figuur 2.

durend verlies optreedt. Bovendien bleek het, dat bij de schroeven, die door mij zijn gebruikt, het kwik in de capillaire buis voortdurend bleef dalen, wanneer men het flink had opgedraaid, zoodat het kwik in het reservoir onder druk komt te staan. Na het beeindigen van de titratie moest ik dan zeer snel aflezen; maar wanneer ik even weifelde omtrent het eindpunt van de titratie, liep het kwik enkele streepjes terug en werden er dus fouten gemaakt. Dat vaststellen van den eersten omslag van de phenolphtaleïne is echter niet altijd even gemakkelijk, vooral niet, wanneer men voortdurend wordt gehinderd door opstijgende luchtbelletjes.

Daarom heb ik de schroef vervangen door een zuiger, die zeer goed heeft voldaan en geen druppeltje kwik doorliet, ook niet, wanneer het kwik flink onder druk werd gebracht. Toch is het dalen van de kwikkolom steeds iets blijven bestaan.

Een tweede moeilijkheid, die ik ook eerst bemerkte bij het werken met de buret, was gelegen in het andere uiteinde.

Zooals REHBERG en STEWART en WHITE opgeven, wordt de uitgetrokken punt van het omgebogen deel van de buret onder de vloeistofspiegel gebracht, zoodat men onafhankelijk is van druppelvorming en men de kleinste hoeveelheid loog in de vloeistof kan overbrengen. Daar ik echter steeds een alcoholische oplossing van de vetzuren titreerde, bleek spoedig, dat direct, nadat de punt van de buret onder de alcohol-spiegel was gebracht, de soortelijk lichtere alcohol in de loog opsteeg en deze spoedig over een lengte van soms 5 cM. rood kleurde.

Daarom werd de punt van de buret omgebogen, waardoor het opstijgen werd voorkomen.

Het vermengen van de vloeistof bij het titreeren bereikte ik evenals STEWART en WHITE, door lucht uit een gashouder (e) er doorheen te blazen, welke lucht van koolzuur wordt bevrijd door twee wasch-fleschjes (f) met sterke loog. De, voor het verzeepen van het vet benoodigde, loog van 0,1 n. sterkte, werd afgemeten met een gewone micro-buret (g), die door de verbinding (h) werd gevuld uit dezelfde voorraadflesch. Verder had ik aan het toestel eveneens een buret bevestigd met een voorraadflesch met zwavelzuur van 0,1 n. sterkte, welke noodig is om de „verzeepings-loog" te neutraliseeren. Deze buret met voorraad-flesch is in de schematische teekening (figuur 1) niet aangegeven; in de photographie van het toestel (figuur 2) is deze buret te zien, links van beide andere buretten.

Alles bijeen, ziet het toestel er uit als op figuur 2.

Bij het onderzoek naar het gehalte van het bloed aan vet kan men de volgende onderdeelen aan deze werkwijze onderscheiden:

1. het uittrekken van de vetten uit het bloed, met daarop volgend filtreeren en reinigen van dit uittreksel;

2. het verzeepen der vetten in dit uittreksel;

3. het neutraliseeren van de loog, die noodig was voor dit verzeepen;

4. het titreeren van de vrijgekomen vetzuren.

Achtereenvolgens zullen deze verschillende bewerkingen worden besproken en zal worden opgegeven, welken weg daarbij gevolgd werd; daarbij zal zooveel mogelijk de reden besproken worden, waarom ik deze of gene werkwijze verkoos boven een andere.

1. HET UITTREKKEN VAN DE VETTEN UIT HET BLOED is altijd een moeilijk punt geweest bij de verschillende werkwijzen van onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan deze stoffen. Van de verschillende oplosmiddelen zijn alcohol, aether, chloroform, petroleumaether, aceton en benzol wel de meest gebruikte.

Volgens M. KUMAGAWA en K. SUTO [1] is de onderlinge verhouding van de grootte van het vermogen van deze oplosmiddelen om vet uit weefsels te trekken, wanneer men de grootte van dit vermogen van alcohol als 100 neemt, als volgt:

alcohol	100	aether abs.	46
methyl-alcohol	99	aceton	62
chloroform	77	benzol	53
petroleum-aether	45		

Deze cijfers gelden echter alleen voor het uittrekken van de vetten en vet-achtige stoffen uit vleesch-poeder; door W. KLEIN en L. DINKIN [2] werden echter voor bloedserum nog grootere verschillen gevonden:
alcohol 0,076, chlorofrm 0,061, aceton 0,023 en petroleumaether 0,010.

I. BANG [3] besluit uit deze cijfers het volgende: daar petroleumaether een beter oplosmiddel voor de vetten is dan alcohol en het vet in het bloed in emulsie toestand voorkomt, moet men wel veronderstellen, dat er in den alcohol ook nog andere stoffen oplossen, die niet in de petroleum-aether overgaan.

Dit laatste zou volgens BANG ook het geval zijn.

Toch heeft deze wijze van redeneeren niet veel waarde, wanneer men bedenkt, dat in melk het vet ook in emulsie toestand aanwezig is, maar toch met aether daaruit niet uit te trekken is. Volgens de onderzoekingen van N. STORCH [4] is het waarschijnlijk, dat de

---

[1] M. KUMAGAWA en K. SUTO. Bioch. Zeitschr. 8. 212. 1908.
[2] W. KLEIN en L. DINKIN. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 92. 302. 1904.
[3] I. BANG. Bioch. Zeitschr. 91. 235. 1918.
[4] N. STORCH. verg. Malys Jahresber. 27.

vetbolletjes omgeven. zijn door een vliesje van een slijmachtige stof, die moeilijk oplosbaar is.

Dat alcohol bij het uittrekken ook nog veel andere stoffen oplost en dat dus het alcohol-uittreksel veel verontreinigingen bevat, is aangetoond door KUMAGAWA en SUTO, die de verschillende oplosmiddelen nauwkeurig hebben onderzocht. Zij komen aan het einde van het eerste hoofdstuk tot de volgende slotsom: „zur Erzielung maximaler menge Aether-extractes aus dem Organpulver, ist der alkohol das beste Extraktionsmittel, dessen Leistungsfähigkeit von keinen anderen Mittel erreicht werden kann." Iets later zegt hij van het alcohol-uittreksel: „aber dieselbe eignet sich für die quantitatieve Fettbestimmung durchaus nicht, weil das nach dieser Methode dargestellte Aether-extrakt eine so grosze Menge Verunreinigungen einschlieszt, dasz die letzteren je nach der Fleischarten 20 bis 46,2% der Fettarten ausmachen".

BANG trok het bloed uit met petroleum-aether gedurende 10 min. bij kamertemperatuur, maar deze wijze van werken is zeker onvoldoende.

P. v. SZENT-GYORGYI [1] toonde aan, dat bij het uittrekken volgens BANG bij kamertemp. 10 tot 20% der vetten in het bloed achterblijven. Ook G. BLIX [2] vindt een rest van 13 tot 15%.

Later heeft I. BANG [3] benzol gebruikt, een oplos-middel, dat zeer weinig is onderzocht wat betreft het vermogen om vetten en vetachtige stoffen uit het bloed uit te trekken.

Het meest gebruikt is wel de werkwijze van BLOOR, waarbij de eiwitstoffen worden neergeslagen en het neerslag warm wordt afgefiltreerd. Hij gebruikt hiervoor een mengsel van drie deelen alcohol en een deel aether en hiervan 100 cc. op 3 cc. bloed.

Vooral J. MUELLER [4] heeft deze wijze van uittrekken grondig onderzocht en hij vat zijn bevindingen als volgt samen: „The alkohol-aether extraction-method itself is most excellent, and has been shown to give good results in gravimetric determinations . . . If blood is added directly to alcohol or aether, or if blood is run slowly into a mixture of three parts alcohol to one of aether using three parts of blood to a hundred of solvent, and the whole then brought to a boil in a waterbath (BLOOR's method) the extraction will be found as practically complete, as shown by quantitative test of the protein residue after filtration".

Ook J. FEIGL [5] vindt deze wijze van uittrekken verreweg het beste, ook al is ze niet absoluut volledig.

---

[1] P. v. SZENT-GYORGY.. Bioch. Zeitschr. 146. 226. 1924.
[2] G. BLIX. Skan. Arch. f. Physiol. 48. 1926.
[3] I. BANG. Bioch. Zeitschr. 91. 86. 1918.
[4] J. MÜLLER. Journ. v. biol. Chem. 25. 549. 1916.
[5] JOH. FEIGL. Bioch. Zeitschr. 88, 53. 1918.

Toch meenen P. v. SZENT-GYORGYI en TOMINAGA [1], dat zoowel bij BANG's als bij BLOOR's wijze van uittrekken, 10 tot 20% der vetten en vet-achtige stoffen in het bloed achterblijven.

BLOOR [2] zelf meent, dat het onvolledig uittrekken, dat men zou bereiken met het alcohol-aether mengsel, alleen geldt, wanneer men bloedlichaampjes of geheel bloed gebruikt, maar niet, wanneer men het serum of plasma onderzoekt.

Alles bij elkaar genomen geloof ik, dat men het beste het mengsel van alcohol en aether kan gebruiken voor het uittrekken van de vetten en vet-achtige stoffen uit het bloed, wanneer men daarbij in het oog houdt, dat het niet onmogelijk is, dat er kleine hoeveelheden vet in het bloed achterblijven.

Bovendien is deze wijze van werken de meest gebruikte en best onderzochte.

Zoo wordt ze gebruikt in de oude en nieuwe werkwijze van BLOOR, in de werkwijze van BING en HEKSCHER, in die van STEWART en WHITE, in de colorimetrische werkwijze van MILROY, in de nieuwere titrimetrische werkwijze van STODDARD en DRURY en in die van KATSURA en HATAKEYAMA.

Om echter het uittrekken zoo volledig mogelijk te maken, verwarmde ik het mengsel bloed-alcohol-aether eerst tot kooktemperatuur en liet het daarna enkele minuten staan. Een nadeel van dit verwarmen is, dat er een vrij sterke bruine verkleuring optreedt, die stoort bij het onderzoek naar de grootte van het cholesterine-gehalte, welke moeilijkheid op eenvoudige wijze was te ondervangen (zie bij blz. 83).

Door KUMAGAWA en SUTO is de grootte van het vermogen van de verschillende middelen om vet uit het bloed te trekken nauwkeurig nagegaan, waarbij is gebleken, dat alcohol het grootste vermogen heeft, maar dat het uittreksel veel verontreinigingen bevat, terwijl het petroleum-aether-uittreksel zoo goed als geen andere stoffen bevat.

Bij het bespreken van de werkwijze van GLIKIN, die voor het uittrekken petroleum-aether gebruikte, zeggen zij: „Wenn auch demnach das nach der Methode von GLIKIN dargestellte Petroleum-aether-extrakt sich durch seine Reinheit auszeichnet, so werden leider 11,14% vom Werte der hohen Fettsäure bei dieser Methode vernachlässigt".

De vereeniging van deze twee eigenschappen nu, het groote vermogen om vet uit het bloed uit te trekken van den alcohol en de zuiverheid van het petroleum-aether-uittreksel, meende ik te kunnen bereiken, door het bloed eerst te behandelen met het alcohol-aether-mengsel bij kooktemp. en het neerslag der eiwitstoffen af te filtreeren;

---

[1] P. v. SZENT-GYORGYI en TOMINAGA. Bioch. Zeitschr. 146. 226.

[2] W. R. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 77. 53. 1928.

daarna het filtraat in te dampen tot droog, waarbij er voor gezorgd moet worden, dat de rest regelmatig over den bodem verdeeld is en daarna deze rest uit te trekken met petroleum-aether.

Daarbij blijkt nu, dat er een aanzienlijke hoeveelheid stoffen achterblijft, die dus in den alcohol wel en in de petroleum-aether niet oplosbaar is. Deze verontreinigingen, die oplosbaar zijn in water, blijken bij nader onderzoek geen vet of vet-achtige stoffen te bevatten. Er konden in aangetoond worden: chloriden, anorganische phosphaten en suiker.

Dat in de petroleum-aether al het vet oplost uit de gedroogde rest, mag als zeker worden aangenomen.

Later, bij het bespreken van de werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan cholesterine en phosphatides, zal blijken, dat deze rest ook geen van deze beide stoffen bevat, en ik er dus bij mijn onderzoek geheel geen rekening mee behoefde te houden.

Bij deze wijze van werken moet tweemaal worden gefiltreerd, waarbij men er dus voor heeft te zorgen, dat er geen vetten of vetachtige stoffen uit het filter worden opgenomen en dat er geen in achterblijven. Daarom werd alleen asch-vrij filtreerpapier gebruikt en werden kolf en filter telkens tweemaal nagespoeld met 5 cc. alcohol-aether-mengsel bij de eerste filtratie en met 5 cc. petroleum-aether bij de tweede.

2. Het filtraat wordt daarna VERZEEPT met natronloog, om later, na het neutraliseeren van deze „verzeepingsloog", het vrijgekomen vetzuur te kunnen titreeren. Daarvoor is echter noodig, dat we ons van te voren de volgende vragen stellen:

a. wordt het aanwezige vet practisch geheel gesplitst in glycerine en vetzuren?

b. worden er buiten de vetten nog andere stoffen gesplitst, waarbij eveneens zuren vrijkomen?

Nu worden er bij de verschillende werkwijzen zeer verschillende hoeveelheden natronloog gebruikt van zeer verschillende sterkte.

Zoo gebruikt BLOOR [1] voor het verzeepen van vet 0,1 cc. zeer sterke natronloog, die verkregen wordt door water te laten neerslaan op zuiver natrium, in een vochtige ruimte. Hiermee verkrijgt hij zeker een volledige hydrolyse der vetten, maar even zeker worden daarbij andere stoffen gesplitst, waarbij ook vetzuren vrij komen, b.v. cholesterine-esters. Voor de werkwijze van BLOOR schaadt dit echter niet, omdat hij het totale gehalte aan vetzuur wil bepalen. Voor mijn werkwijze is deze manier van verzeepen onbruikbaar.

[1] W R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 52. 191. 1922.

BANG daarentegen gebruikt in zijn werkwijze van 1916 twee druppels natronloog van 0,1 n. sterkte en zou hiermee een volledig verzeepen der vetten verkrijgen. Dat dit echter niet altijd het geval is, vindt volgens BANG zijn oorzaak in het carbonaat-gehalte der loog en in het voorkomen van zuur in den alcohol en aether, waardoor een gedeelte van de loog wordt geneutraliseerd.

STEWART en WHITE gebruiken voor het verzeepen 5 cc. loog van 0,1 n. sterkte, terwijl ze met 1 cc. bloed werken.

T. V. FELLENBERG verzeept met alcoholische kaliloog en MILROY in zijn colorimetrische werkwijze met alcoholische natronloog, terwijl STODDARD en DRURY 0,1 cc. verzadigde natronloog-oplossing gebruikten.

Daar aan STEWART en WHITE bij proeven is gebleken, dat 5 cc. 0,1 n. natronloog voldoende is voor een practisch volledig verzeepen der vetten in 1 cc. bloed en BANG voor het vet uit 0,1 tot 0,2 cc. bloed 2 druppels van deze loog gebruikt, heb ik in mijn werkwijze, waarbij ik uitging van 0,2 cc. bloed 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte gebruikt en meen hiermee een volledig verzeepen der vetten te verkrijgen.

Dit is echter door mij niet door opzettelijk daartoe ingestelde proeven nagegaan, omdat daarvoor noodig is, dat men eerst volkomen zuivere vetten bereidt, b.v. op de wijze, zooals die is aanbevolen door M. SCHEY [1].

Bovendien is dit onderzoek reeds gedaan door STEWART en WHITE, die hun zuivere vetten ook op deze wijze hebben bereid.

Toch is er wel een argument aan te voeren, dat het meer dan waarschijnlijk maakt, dat in mijn werkwijze de vetten volledig verzeept worden.

Immers, wanneer er een onvolledig splitsen der vetten plaats had, d.w.z. wanneer de hydrolyse op een bepaald punt zou blijven stilstaan, dan mag men toch veronderstellen, dat die splitsing nu eens verder, dan weer minder ver zou gaan, afhankelijk van min of meer kleine verschillen in temperatuur en andere omstandigheden. Het gevolg zou dan zijn, dat de uitkomsten niet met elkaar in overeenstemming waren bij dubbelbepalingen.

De goed overeenstemmende uitkomsten, die ik op deze wijze kon verkrijgen, ook wanneer het verzeepen langer werd voortgezet of een andere keer eens wat meer water werd toegevoegd, waardoor het langer duurde voordat het mengsel ingedampt was tot droog, pleiten mijns inziens sterk voor een volledige splitsing der vetten. Het beantwoorden van de tweede vraag, of er namelijk buiten de vetten nog andere stoffen gesplitst worden, bij welke splitsing ook zuren vrijkomen, geeft meer moeilijkheden.

---

[1] M. SCHEY. Rec. d. Trav. Chim. Pays-Bas. 18. 169.

Wat betreft die andere stoffen, daarbij kunnen we alleen de cholesterine-esters en de phosphatides in het oog houden.

Of er buiten deze nog andere lichamen voorkomen, die bij een eventueele splitsing vetzuren geven, is niet bekend, maar zeker niet uit te sluiten. In ieder geval zal hun gehalte zeer gering zijn in vergelijking met de bekende stoffen en de hoeveelheid vetzuur, die bij een splitsing vrij zou kunnen komen, practisch van geen waarde.

De cholesterine-esters worden bij deze tamelijk kort durende verwarming met loog van 0,1 n. sterkte zeker niet gesplitst. BANG [1] vermeldt dit uitdrukkelijk.

Bovendien heeft TH. HESS THAYSSEN [2] aangetoond, dat bij een verwarming van 24,3 mG. cholesterine-oliezuur ester met 25 cc. natronloog van 20% gedurende twee uur slechts 3,5% van de ester verzeept was.

Het is dus onmogelijk, dat bij deze kortdurende verwarming (hoogstens een half uur) met loog van 0,1 n. sterkte een merkbare hoeveelheid cholesterine-ester zou worden gesplitst.

De andere stoffen, die we in het oog moeten houden, zijn de phosphatides; deze nu worden bij dit proces zeer waarschijnlijk wel gesplitst.

BANG zegt er van: de phosphatides worden zeker gesplitst, maar de fout, die daardoor ontstaat, is klein, omdat het gehalte van het bloed aan phosphatides zoo klein is.

Hoe groot deze fout is, m.a.w. hoeveel vetzuur er uit de phosphatides op deze wijze vrijkomt, is niet na te gaan, omdat men alle phosphatides, in het bijzonder de phosphatides, die in het bloed voorkomen, nog lang niet kent; bovendien is het zeer moeilijk na te gaan, welk deel van deze stoffen bij deze wijze van verzeepen gesplitst zal worden.

Hoe dit ook zij, hierin ligt ongetwijfeld een fout van de werkwijze, waarvan men de grootte echter niet gemakkelijk kan nagaan.

Het bloedvet wordt dus verzeept met 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte, waarbij ik dezelfde loog gebruikte als voor de titratie, zoodat ik maar één oplossing noodig had, waarvan de sterkte nauwkeurig bekend moet zijn.

Deze loog wordt afgetapt door middel van een gewone microburet, die op dezelfde voorraad-flesch is aangesloten (zie figuur).

Het is gewenscht vóór het verzeepen, het petroleum-aether-uittreksel van het bloed, dat de vetten bevat, eerst in te dampen tot droog en daarna de rest op te lossen in alcohol en deze oplossing te verzeepen.

---

[1] I. BANG. Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden. 1916.

[2] TH. HESS THAYSSEN. Bioch. Zeitschr. 62. 89. 1914.

Het voordeel hiervan is, dat het contact van vetten en loog veel gemakkelijker wordt, terwijl het verzeepen der vetten sneller en volledeger verloopt, wanneer men verzeept met een mengsel van loog en alcohol, dan wanneer men loog alleen gebruikt [1].

3. Daarna moet de toegevoegde ,,verzeepingsloog'' nauwkeurig worden GENEUTRALISEERD met 2 cc. zuur (ik gebruikte hiervoor zwavelzuur) van 0,1 n. sterkte.

Dat dit neutraliseeren zeer nauwkeurig moet geschieden en dat de sterkte van het zuur precies bekend moet zijn, spreekt wel van zelf.

STODDARD en DRURY, die een zeer omslachtige werkwijze hebben bedacht, vinden dit neutraliseeren een overwegend bezwaar tegen de werkwijze van STEWART en WHITE, omdat ze meenen, dat een fout van 0,1% in het aflezen van het zuur of de loog, een fout van 45% geeft in de uitkomst van het bloedvetgehalte. Hoe ze hierbij aan deze getallen zijn gekomen, is mij niet duidelijk.

Er wordt toegevoegd voor het neutraliseeren 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte; wanneer daarbij een fout wordt gemaakt van 0,1%, dan geeft men 0,001 cc., laten we zeggen, te veel; 0,001 cc. loog van 0,1 n. sterkte komt overeen met 0,0512 mG. palmitine-zuur. Daar men nu in normaal bloed gewoonlijk 2 mG. vetzuur vindt in 0,2 cc. bloed, berekend als palmitine-zuur, beteekent dit dus een fout van ongeveer 2% en niet van 45%.

Men zou ook in plaats van te neutraliseeren, direct de overmaat loog kunnen nagaan, die er na het verzeepen nog over is, maar dit is beslist te ontraden. Gedurende het verwarmen van de alkalische vloeistof, zal er zeker koolzuur uit de lucht worden gebonden, waardoor men dus een te groote uitkomst zal vinden. Daarom moet men de vloeistof eerst duidelijk zuur maken, wat men bereikt door de ,,verzeepingsloog'' te neutraliseeren en daarna op een waterbad aan de kook brengen, om zoodoende al het koolzuur uit te drijven.

4. Ten slotte rest nog te bespreken de TITRATIE.

Hierbij is de keuze van den indicator van het grootste belang.

In het algemeen is de aangewezen indicator, bij de titratie van een zwak zuur met een sterke base, phenolphtaleïne [2].

Wanneer men de neutralisatie-kromme nagaat van een zwak zuur met een sterke base, b.v. van azijnzuur met natronloog, dan blijkt, dat bij het neutrale punt ($p_H = 7$) nog lang niet al het azijnzuur is

---

[1] vergel. HOPPE, SEYLER-THIERFELDER. Handbuch der Physiol. u. Pathol. Chem. Analyse. Springer. 1924. blz. 104.
verder A. KOSSEL en K. OBERMÜLLER. Zschr. Physiol. Chem. 14. 599. en 15. 321.

[2] J. A. KOLTHOFF. Der Gebrauch von Farben-indikatoren.

gebonden. Dit is pas het geval, wanneer men $p_H = 8{,}87$ heeft bereikt, het punt, waarbij phenolphtaleïne zwak rose is gekleurd (de omslagbreedte van phenolphtaleïne ligt tusschen p_H 8,2 en p_H 10).

Titreert men nu nog even verder, dan bereikt men direct p_H 11, wat dus beteekent, dat phenolphtaleïne donkerrood kleurt (zie Tabel).

Neemt men aan, dat men 100 cc. azijnzuur met loog titreert, terwijl het volume gelijk blijft, dan vindt men volgende waarden voor de p_H:

100 cc. azijnzuur			
0 cc.	loog	p_H	2,78
100 cc. azijnzuur			
10 cc.	loog	p_H	3,8
100 cc. azijnzuur			
50 cc.	loog	p_H	4,75
100 cc. azijnzuur			
90 cc.	loog	p_H	5,70
100 cc. azijnzuur			
95 cc.	loog	p_H	6,03
100 cc. azijnzuur			
100 cc.	loog	p_H	8,87
100 cc. azijnzuur			
101 cc.	loog	p_H	11,0

Tabel overgenomen uit KOLTHOFF.
Der Gebrauch von Farbenindikatoren.

STODDARD en DRURY gebruiken bij hun titratie phenolblauw als indicator, waardoor ze zeker een aanzienlijke fout maken.

De omslag-breedte van phenolblauw ligt tusschen p_H 3,1 en p_H 4,6.

Uit de tabel ziet men onmiddellijk, dat dan nog lang niet al het zuur is geneutraliseerd. Men vindt dus met deze werkwijze ongetwijfeld te kleine waarden voor het gehalte van het bloed aan vetten.

Om de bruikbaarheid van deze wijze van titreeren en die van het instrument na te gaan, heb ik van een oplossing van oliezuur in alcohol, die 250 mG. per 100 cc. alcohol bevatte, telkens 1 cc. (dus 2,5 mG. olie-zuur) getitreerd met loog van 0,1 n. sterkte uit de micro-buret, met twee druppels phenolphtaleïne als indicator.

Daarbij werd verbruikt:
0,0842
0,0838
0,0846
0,0835
0,0840

0,0836
0,0838
0,0845
0,0830
0,0835
0,0840
0,0839
0,0835

0,0838 cc. loog van 0,1 n. sterkte. Hierbij blijkt, dat de grootste en kleinste waarde 0,0016 cc. loog uiteen liggen, wat een maximale titratiefout van ongeveer 2% beteekent.

Evenals bij elke werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan vet en vet-achtige stoffen, moet men bijzondere voorzorgsmaatregelen nemen voor de zuiverheid van glaswerk en reagentia.

Al het glaswerk, dat werd gebruikt, werd van te voren ontvet met kokende loog van 20% en daarna gekookt met koningswater. Vervolgens werd het langdurig met water nagespoeld en onder gedestilleerd water bewaard.

Voor het gebruik werd het nogmaals met gedestilleerd water flink gespoeld en dan gedroogd in een broedstoof bij 120°.

Wat betreft de zuiverheid der reagentia, hierbij komt het er vooral op aan, dat ze vrij zijn van zuur of loog.

Dit geldt in de eerste plaats voor den alcohol, omdat de handelsalcohol duidelijk zuur bevat. Daarom werd alle alcohol, die ik gebruikte, eerst tweemaal overgedestilleerd met loog, waarna ze zuurvrij bleek te zijn.

Als indicator bij de titratie gebruikte ik een oplossing van phenolphtaleïne in dezen zuurvrijen alcohol tot een sterkte van 1%.

Voor het filtreeren werd alleen asch-vrij filtreerpapier gebruikt.

Uitvoering van de werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het vet-gehalte van bloed in 0,2 cc.

0,2 cc. bloed wordt opgezogen in een bloedpipet en daarna langzaam uitgeblazen in een klein kolfje, waarin zich 10 cc. van het alcohol-aether-mengsel bevindt. Men moet daarbij het kolfje voortdurend bewegen, om te voorkomen, dat er een groot stolsel ontstaat, wat het uittrekken der vetten aanmerkelijk zou bemoeilijken, maar wat tot nadeel heeft, dat men de pipet niet kan naspoelen met de

vloeistof uit het kolfje, zooals men b.v. doet bij de bloedsuikerbepalingen. Hierbij blaast men het bloed op den bodem van de vloeistof, zoodat er nog geen vermengen plaats heeft en spoelt de pipet met de bovenstaande vloeistof na.

Bij de vetbepaling spoelt men de pipet na, door ze enkele malen vol te zuigen met het alcohol-aether-mengsel en dit uit te blazen in het kolfje.

Dit mengsel wordt nu onder voortdurend bewegen verwarmd tot kooktemp. op een waterbad en daarna warm gefiltreerd door asch-vrij filtreerpapier in een ander kolfje van dezelfde grootte. Het eerste kolfje en het filter worden tweemaal nagespoeld met 5 cc. alcohol-aether-mengsel bij kooktemp.

Het filtraat wordt nu op een waterbad ingedampt tot droog, waarbij men er voor moet zorgen, dat de korst, die overblijft, gelijkmatig over den bodem verdeeld is, om het daaropvolgende uittrekken met petroleum-aether volledig te doen zijn.

Wanneer tot goed droog is ingedampt, wordt de rest uitgetrokken met ongeveer 5 cc. petroleum-aether en dit uittreksel over asch-vrij filtreerpapier gefiltreerd in een wijde reageerbuis; hierbij worden kolf en filter tweemaal nagespoeld mt 3 cc. petroleum-aether.

Dit petroleum-ather uittreksel wordt weer ingedampt tot droog, daarna de rest opgelost in 1 cc. zuurvrijen alcohol en voor het verzeepen 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte toegevoegd. Dit mengsel wordt op het waterbad ingedampt tot droog, waarbij de vetten volledig worden gesplitst (duurt ongeveer ½ uur).

De overblijvende rest lost men op in 1 cc. zuurvrijen alcohol en voegt daarna toe 1 cc. zwavelzuur van 0,1 cc. sterkte voor het neutraliseeren van de „verzeepingsloog". Daarna brengt men deze oplossing der vetzuren aan de kook op een waterbad, om het koolzuur uit te drijven.

Na afkoeling voegt men twee druppels phenolphtaleïne toe en titreert met loog van 0,1 n. sterkte uit de micro-buret tot den eersten omslag van de phenolphtaleïne.

Bij de berekening bedenke men, dat 0,1 cc. loog van 0,1 n. sterkte niet overeenkomt met 26,9 mG. tripalmitine, zooals STEWART en WHITE in hun mededeeling opgeven, maar met 2,69 mG.

Met deze werkwijze vindt men na eenige oefening goed overeenstemmende uitkomsten bij dubbelbepalingen:

proef	bepalingen a	b	
1	891	879	
2	110	103	
3	118	111	
4	167	170	
5	100,5	100,5	
6	851	877	
7	725	745	mGr. tripalmitine per 100 cc. bloed.
8	835	839	
9	968	947	
10	1046	1042	
11	1313	1392	
12	525	512	
13	633	651	
14	952	908	

Nadat ik het onderzoek reeds had beëindigd, verscheen er een mededeeling van C. H. LONG en L. M. VENNING [1], waarin werd medegedeeld, dat het onderzoek naar het gehalte van het bloed aan vet, gedaan op de wijze, zooals STEWART en WHITE aangeven, waardeloos zou zijn, omdat bij het verzeepen van het vet in het alcohol-aether-uittreksel van het bloed, uit de daarin aanwezige glucose organische zuren zouden ontstaan, die bij de titratie natuurlijk aanleiding geven tot fouten.

Zeker is het waar, dat er bij verwarmen van een glucose-oplossing met loog, een aanmerkelijke hoeveelheid zuur ontstaat.

Ik trok echter het bloed op een andere wijze uit, als gedaan werd door STEWART en WHITE. Het bleek mij nu, dat bij het reinigen van het alcohol-aether uitreksel van het bloed met petroleum-aether, zooals ik steeds deed, de aanwezige glucose *niet* in den petroleum-aether overgaat.

Wel blijkt er een flinke hoeveelheid glucose in het alcohol-aether-uittreksel van het bloed aanwezig te zijn, waarmede dus de waardeloosheid van de oorspronkelijke werkwijze van STEWART en WITE wel als bewezen is te achten.

Om verder aan te toonen, dat deze fout niet geldt voor de door mij gevolgde werkwijze, onderzocht ik een hoeveelheid bloed, die ik in twee porties van 50 cc. verdeelde. De eene portie (a) werd zoo onderzocht op de grootte van het vetgehalte, terwijl aan de andere portie (b) eerst 2 gr. glucose werd toegevoegd.

Daarbij vond ik voor de grootte van het gehalte van het bloed aan vet:

---

[1] C. H. LONG en L. M. VENNING. Journ. o. biol. Chem. 96. 397. 1932.

	in portie a	in portie b	
proef 1	1000,33	963,72	mGr. per 100 cc. bloed
2	1008,75	998,13	
3	1028,93	937,45	
4	975,13	973,19	
5	1027,58	984,36	

Waarbij dan blijkt, dat in dit opzicht met de door mij gevolgde werkwijze geen fouten worden gemaakt.

Dat ik zelfs in portie b kleinere waarden vind voor de grootte van het vetgehalte, schrijf ik toe aan het feit, dat de rest, die ontstaat na indampen van het alcohol-aether-uittreksel, zeer veel suiker bevatte, zoodat het uittrekken van het vet uit deze strooperige rest door middel van petroleum-aether iets werd bemoeilijkt.

B. Werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan cholesterine.

De oude werkwijzen van H. Schulte en J. Barbieri [1] en die van K. Obermueller [2], waarbij het aether-uittreksel wordt verzeept, daarna met barium-zouten de zeepen neergeslagen en in het filtraat de cholesterine door wegen bepaald wordt, hebben nog slechts een historische waarde.

Evenzoo de werkwijze van K. Obermueller [3] uit den lateren tijd, waarbij het gehalte aan cholesterine wordt onderzocht door de hoeveelheid broom, die geaddeerd kan worden.

Eenigszins betrouwbare uitkomsten gaven de werkwijzen van Hoppe-Seyler [4], waarbij het aether-uittreksel van bloed wordt verzeept en uit het onverzeepbare deel na reinigen het gewicht van de cholesterine bepaald wordt en de werkwijze van E. Ritter [5], die het onverzeepbare deel oplost in alcohol en hieraan een even groot volume water toevoegt, waarbij de cholesterine neerslaat. Dit neerslag wordt afgefiltreerd en gewogen.

Beiden maken een aanzienlijke fout, omdat het verzeepen, zooals dat door Hoppe-Seyler en Ritter wordt bewerkstelligd, verre

---

[1] H. Schulze en J. Barbieri. Journ. prakt. Chem. 25. 159. 1882.
[2] K. Obermueller. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 16. 143. 1892.
[3] K. Obermueller. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 15. 37. 1891.
[4] Hoppe-Seyler. Lehrbuch der physiol. chem. Analyse. 1903.
[5] E. Ritter. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 34. 430. 1902.

van volledig is, zooals door A. KOSSEL en K. OBERMUELLER werd aangetoond [1].

In den tijd, die hierop volgde, werden hoofdzakelijk colorimetrische werkwijzen uitgedacht.

Reeds H. BURCHARD [2] probeerde de door hem gewijzigde reactie van L. V. LIEBERMANN te wijzigen tot een werkwijze voor het onderzoek naar de hoeveelheid, maar het gelukte hem niet eenigszins betrouwbare uitkomsten te verkrijgen.

H. ISCOVESCO [3] trachtte met de kleurreactie van TSCHUGAJEFF een werkwijze voor de bepaling van de hoeveelheid cholesterine uit te werken, maar zijn werkwijze heeft zich niet kunnen handhaven, omdat de reactie van TSCHUGAJEFF op zich zelf al zeer moeilijk is uit te voeren en omdat verontreinigingen een groote rol spelen.

De eerste, die met de reactie van V. LIEBERMANN-BURCHARD een werkwijze uitdacht, die goede uitkomsten gaf, is A. GRIGAUT [4] geweest.

Het volgende jaar deelde A. GRIGAUT [5] een werkwijze mede, waarbij de grootte van het gehalte aan cholesterine kon onderzocht worden in grootere hoeveelheden weefsel of bloed, door wegen.

C. WESTON [6] gebruikte de kleurreactie van SALKOWSKY voor een colorimetrische werkwijze, maar kreeg hiermee geen overeenstemmende uitkomsten.

Daarna volgt in 1912 de werkwijze van W. AUTHENRIETH en C. FUNK [7], waarmede men zich langen tijd heeft tevreden gesteld en die in hoofdzaak overeenkomt met de werkwijze van GRIGAUT.

Nadat A. WINDAUS [8] zijn bekende neerslag-reactie met digitonine had medegedeeld, heeft men bij veel werkwijzen gebruik gemaakt van het vormen van deze oplosbare ester.

Zoo dachten W. BLOOR en KNUDSON [9] een werkwijze uit, die een vereeniging is van WINDAUS' neerslag-reactie en de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD.

TH. HESS-THAYSSEN [10] en FRASER en J. GARDNER [11] hebben de reactie van WINDAUS nauwkeurig nagegaan en de fouten, die daardoor ontstonden, dat een deel van de ester oploste in alcohol, er uit verwijderd.

---

[1] A. KOSSEL en K. OBERMÜLLER. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 14. 559. 1890.
[2] H. BURCHARD. Beitrag zur Kenntnis des Cholesterins. Diss. Rostock. 1883.
[3] H. ISCOVESCO. C. R. d. l. Soc. d. Biol. 1908.
[4] A. GRIGAUT. C. R. d. l. Soc. d. Biol. 7. 5. 791 en 14. 5. 827. 1910.
[5] A. GRIGAUT. C. R. d. l. Soc. d. Biol. 18. 11. 441. 1911.
[6] C. WESTON. Journ. Med. Research. 1912. 26. 47.
C. WESTON en KENT. Journ. Med. Research. 1912. 26. 531.
[7] W. AUTHENRIETH en C. FUNK. Münch. med. Wochenschr. 23. 1243. 1913.
[8] A. WINDAUS. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 65, 1910. 110.
[9] W. BLOOR en KNUDSON. Journ. o. Biol. Chem. 27. 107. 1916.
[10] TH. HESS THAYSSEN. Bioch. Zeitschr. 62. 89. 1914.
[11] FRASER en J. GARDNER. Proc. o. the Royal Soc. 82. 559. 1910.

Verder zijn er nog een groot aantal andere werkwijzen, die deze kleurreactie gebruiken, waarvan de voornaamste zijn die van: HENES [1], MEYERS en GORHAM [2], BLOOR [3], F. CSONKA [4], A. GETTLER en W. BAKER [5] en CL. BERNARD [6].

De tegenwoordig in gebruik zijne werkwijzen kan men in drie groepen indeelen:

a. de colorimetrische-,
b. de titrimetrische-,
c. de gravimetrische werkwijzen.

a. DE COLORIMERISCHE WERKWIJZEN. Van de zeer vele kleurreacties, die er bestaan op cholesterine, zijn als voornaamste te noemen. de reacties van:

LIEBERMANN-BURCHARD [7], SALKOWSKY [8], TSCHUGAJEFF [9], K. OBERMUELLER [10], H. SCHIFF [11], C. NEUBERG-RAUCHWERGER [12], HIRSCHSOHN [13], G. DENIGES [14], L. GOLODITZ [15] en L. KAHLENBERG [16].

Van al deze reacties zijn er maar twee bruikbaar gebleken voor het onderzoek naar de hoeveelheid van cholesterine, n.l. die van LIEBERMANN-BUACHARD en die van SALKOWSKY, waarbij de eerste verreweg bovenaan staat, terwijl de kleurreactie van SALKOWSKY alleen is gebruikt in de werkwijze van WESTON en die van S. KRASTELEWSKY.

Practisch staat dus ons alleen de kleurreactie van LIEBERMANN-BUACHARD ten dienste, de reactie, waarbij door toevoegen van sterk zwavelzuur en azijnzuur-anhydride een groene verkleuring te voorschijn komt.

Op dezen grondslag zijn verschillende werkwijzen gebaseerd, die

---

1 HENES. Proc. N. Y. Path. Soc. 1913. 13. 155.
2 MEYERS en GORHAM. Post-Graduata. 1914. 29. 938 en Arch. Int. Med. 1917. 20. 599.
3 W. R. BLOOR. Journ. Biol. Chem. 24. 227. 1916.
4 F. CSONKA. Journ. o. Biol. Chem. 24. 431. 1916.
5 A. GETTLER en W. BAKER. Journ. o. Biol. Chem. 25. 211. 1916.
6 CH. BERNARD. Journ. o. Biol. Chem. 35. 15. 1918.
7 L. v. LIEBERMANN. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 18. 1. 1804. 1885. BURCHARD. Diss. Rostock. 1891.
8 L. SALKOWSKY. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. 6. 207. 1891.
9 TSCHUGAJEFF. Ref. Zeitschr. f. angewan. Chem. 1900. 618.
10 K. OBERMUELLER. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 15. 38. 1891.
11 H. SCHIFF. Liebigs Annal. d. Chem. 104. 332. 1857 en 115. 335. 1906.
12 C. NEUBERG-RAUCHWERGER. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 47. 335. 1906.
13 HIRSCHSOHN. Pharm. Centralbl. 43. 357. 1902.
14 G. DENIGES. Bull. d. l. Soc. d. Pharm. d. Bordeaux. 1903.
15 L. GOLODITZ. Chemikerzeit. 32. 160. 1908 en Ber. d. deutsch. chem. Ges. 41. 252. 1908.
16 L. KAHLENBERG. Journ. o. Biol. Chem. 52. 217. 1922.

echter alleen uiteenloopen in de wijze, waarop men de cholesterine uit het bloed of weefsel uittrekt.

In de werkwijze van MEYERS en WARDELL [1] wordt na het drogen van het bloed de cholesterine uitgetrokken met chloroform in een bijzonder toestelletje en de grootte van het gehalte daarna colorimetrisch nagegaan.

S. LEIBOFF, die zich zeer veel heeft bezig gehouden met het cholesterine-onderzoek in het bloed, trekt het bloed als zoodanig uit met chloroform in een door hem gebouwd toestelletje [2], dat hij later weer een weinig wijzigde [3].

Ook deze verandering werd weer door een kleine technische verbetering gevolgd [4].

Bloor [5] trekt het bloed eerst uit met het alcohol-aether-mengsel en dampt het filtraat in tot droog. Uit deze droge rest wordt, na het verzeepen met sterke loog, de cholesterine uitgetrokken met kouden chloroform, waarin de zeepen onoplosbaar zijn. Daarna wordt het gehalte colorimetrisch nagegaan.

G. S. SACKETT [6] trekt het bloed uit met het alcohol-aether-mengsel bij kamertemperatuur, waarbij het uittreksel zich veel minder sterk bruin kleurt. Het is echter zeer de vraag, of men bij kamertemperatuur in een betrekkelijk korten tijd wel een volledig uittrekken van de cholesterine verkrijgt. Na indampen tot droog wordt de rest met chloroform uitgetrokken zonder voorafgaand verzeepen.

In de werkwijze van G. M. DE TONI [7] wordt het bloed eerst ont-eiwit volgens FOLIN en WU en het eiwit-neerslag wordt met chloroform uitgetrokken op de wijze, zooals die is voorgeschreven door KUMAGAWA en SUTO. In dit chloroform-uittreksel wordt het gehalte aan cholesterine colorimetrisch onderzocht.

Alvorens echter na te gaan, of er cholesterine aanwezig is in het filtraat, dat men verwijderd, is men niet gerechtigd deze werkwijze te gebruiken. Dit is door DE TONI niet gedaan.

SCHMORL M. LING [8] trekt het bloed uit met chloroform in een eigenaardig gebouwd toestelletje; overigens verschilt deze werkwijze niet van alle andere.

Door S. KRASTELEWSKY [9] is nog een werkwijze uitgedacht, die op de kleurreactie van SALKOWSKY berust, maar deze heeft geen

---

[1] MEYERS en WARDELL. Journ. o. Biol. Chem. 36. 147. 1908.
[2] S. LEIBOFF. Journ. o. Biol. Chem. 61. 177. 1924 en Journ. Lab. a. Clin. Med. X. 857. 1925.
[3] S. LEIBOFF. J. Lab. a. Clin. Med. XI. 777. 1925.
[4] S. LEIBOFF. J. Lab. Clin. Med. XV. 776. 1929.
[5] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 17. 377. 1914 en 52. 191. 1922.
[6] G. S. SACKETT. Journ. o. Biol. Chem. 64. 203. 1925.
[7] G. M. DE TONI. Journ. o. Biol. Chem. 70. 270. 1926.
[8] SCHMORL. M. LING. Journ. o. Biol. Chem. 76. 361. 1927.
[9] S. KRASTELEWSKY. Bioch. Zeitschr. 143. 403. 1923.

praktische toepassing kunnen vinden, omdat de kleurreactie van SALKOWSKY onbetrouwbaar is en zich niet goed leent voor onderzoek naar de hoeveelheid cholesterine.

J. FORBES en RICHMOND [1] vermengen het bloed met z.g. „doucil" en trekken dit mengsel uit met chloroform, wat het voordeel bezit, dat zich geen bruine kleur in het uittreksel ontwikkelt, terwijl toch de cholesterine volledig zou worden uitgetrokken.

b. DE TITRIMETRISCHE WERKWIJZEN. Werkwijzen, waarmede men het gehalte van het bloed aan cholesterine nagaat door middel van een titratie, zijn er maar drie, die alle op denzelfden grondslag berusten, n.l. de werkwijzen van BANG, die van V. SZENT-GYORGYI en die van RUTH OKEY.

In de werkwijze van BANG [2] wordt na het z.g. gefractioneerd uittrekken van het bloed uit een papiertje het gehalte aan cholesterine onderzocht op dezelfde wijze als bij de vet-bepaling, met het oxydatie-mengsel kaliumbichromaat en zwavelzuur.

De bezwaren tegen het gebruik van deze werkwijze zijn natuurlijk weer dezelfde als die, welke werden opgenoemd tegen BANG's werkwijze voor het vet-onderzoek:

1. het moeilijk verkrijgen van een oplossing, die alleen cholesterine zou bevatten;
2. de onvolledige oxydatie, wat blijkt uit de verschillen in reductie-coëfficienten, die door de onderzoekers worden opgegeven (volgens BLIX 2,47 en volgens BLOOR 2,62).

Van deze moeilijkheden is bij de cholesterine vooral de eerste van groote beteekenis; om deze te ontgaan hebben V. SZENT-GYORGYI en RUTH OKEY in hun werkwijzen een anderen weg ingeslagen.

In deze beide werkwijzen wordt de cholesterine eerst neergeslagen met digitonine en dit neerslag gezuiverd.

Of het gemakkelijker is de digitonine-ester te zuiveren dan de cholesterine zelf, is natuurlijk nog de vraag en door beide onderzoekers niet voldoende nagegaan.

MORIO YASUDA [3] toont in zijn critiek op de werkwijze van RUTH OKEY aan, dat het zuiveren van het digitonine-cholesterine-neerslag met warm water en aether, zooals dat door RUTH OKEY wordt gedaan, onvoldoende is. Hij vond met deze werkwijze zelfs uitkomsten, waarbij het totale cholesterine-gehalte lager was dan het gehalte aan vrije cholesterine alleen.

Hij stelt daarom voor om aceton te gebruiken voor het reinigen van de digitonine-cholesterine-ester.

---

[1] J. FORBES en V. RICHMOND. Journ. o. Lab. a. Clin. Med. 16. 520 en 16. 909. 1931.

[2] I. BANG. Bioch. Zeitschr. 91. 86. 1918.

[3] MORIO YASUDA. Journ. o. Biol. Chem. 92. 495. 1931.

De oxydatie wordt bewerkstelligd met het bichromaat-zwavelzuur mengsel van BANG in de werkwijze van V. SZENT-GYORGYI [1], en met het zilverchromaat-zwavelzuur mengsel van NICLOUX in die van RUTH OKEY [2].

Door M. E. TURNER [3] is nog een kleine technische wijziging gebracht in de werkwijze van RUTH OKEY, waarbij het neerslaan, het reinigen van het neerslag en de oxydatie allemaal in een en dezelfde centrifuge-buis gebeuren.

Ten slotte is er nog een eigenaardige titrimetrische werkwijze te noemen, niet omdat ze eenige practische beteekenis heeft, maar alleen om haar eigenaardigheid, n.l. die van L. SURANYI en A. KORENYI [4].

Beide onderzoekers vonden de colorimetrische werkwijzen niet nauwkeurig genoeg omdat de kleuren soms moeilijk te vergelijken zijn.

Daarom werd door deze onderzoekers nagegaan de kleinste hoeveelheid saponine, die met schapenbloed nog juist haemolyse geeft; deze haemolyse wordt tegengegaan door cholesterine, waardoor men dus met saponine kan titreeren hoeveel cholesterine er in het bloed aanwezig is. Deze werkwijze is echter onbruikbaar, omdat chloroform ook haemolyse geeft. Daarom werd het bloed weggelaten en saponine en cholesterine direct bij elkaar gebracht, waarbij een wit neerslag ontstaat, welk neerslag weer verdwijnt, wanneer men cholesterine toevoegt. Wanneer men nu een oplossing maakt van saponine en cholesterine, waarvan men de sterkte en verhouding proefondervindelijk heeft vastgesteld, dan zou men met het chloroform-uittreksel uit het bloed deze oplossing kunnen titreeren, totdat het neerslag juist is verdwenen. Hierin zou men dan een maat hebben voor de hoeveelheid cholesterine in dat uittreksel.

Een dergelijk slecht gegronde en totaal onverantwoorde werkwijze zal wel niemand voor een onderzoek gebruiken.

Men weet in de verste verte niet, wat er eigenlijk gebeurt bij deze reactie; men kan niet gissen, wat er eigenlijk wordt onderzocht; men weet niet of het gedrag van de cholesterine ten opzichte van het mengsel cholesterine-saponine standvastig is, en of temperatuur, tijd of andere bijkomstigheden niet een groote rol spelen.

c. DE GRAVIMETRISCHE WERKWIJZEN. Behalve de oude werkwijzen, waarbij door wegen de grootte van het gehalte aan cholesterine werd onderzocht en waarvoor zeer veel bloed noodig

---

[1] P. V. SZENT-GYORGYI. Bioch. Zeitschr. 136. 112. 1923.

[2] RUTH OKEY. Proc. o. the Royal Soc. 1928/29. 518.
Journ. o. Biol. Chem. 88. 367. 1930.

[3] M. E. TURNER. Journ. o. Biol. Chem. 92. 495. 1931.

[4] L. SURANYI en A. KORENYI. Bioch. Zeitschr. 160. 178. 1925.

was, is er maar een te noemen uit den lateren tijd, die op dit beginsel is opgebouwd, n.l. de micro-gravimetrische werkwijze van P. v. SZENT-GYORGYI [1]. Hierbij wordt het chloroform-uittreksel van 1 cc. bloed behandeld met digitonine, het neerslag gezuiverd en gedroogd. Door wegen wordt daarna het gehalte aan cholesterine berekend.

Deze werkwijze, waarvoor nog vrij veel bloed noodig is, bezit weinig voordeelen, omdat ze zeer lang duurt, omslachtig is en een kostbare balans vereischt. Bovendien doet zich hier de moeilijkheid van het reinigen van het digitonine-cholesterine-neerslag weer sterk gevoelen.

Een keuze te doen uit deze verschillende werkwijzen is mijns inziens niet moeilijk. Immers, de gravimetrische werkwijze van P. v. SZENT-GYORGYI verbruikt te veel bloed en is zeer omslachtig en tijdroovend.

Blijft dus alleen over te kiezen tusschen de colorimetrische en de titrimetrische werkwijzen.

Waarom zal men dan een titrimetrische werkwijze kiezen, waarbij men het gevaar loopt zooveel fouten te maken, wanneer ons een zoo gevoelige en betrouwbare reactie als die van LIEBERMANN-BURCHARD ten dienste staat?

Met deze kleurreactie kan men de grootte van het gehalte aan cholesterine in 0,4 cc. bloed met een behoorlijke nauwkeurigheid bepalen, terwijl men met de titrimetrische werkwijze van BANG, v. SZENT-GYORGYI of RUTH OKEY niet verder komt, ik bedoel niet met minder bloed kan volstaan.

Beschrijving van de gevolgde werkwijze bij het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan cholesterine.

Aan deze werkwijze kan men twee onderdeelen onderscheiden, die beide een afzonderlijke bespreking behoeven, n.l.:

1. het uittrekken van de cholesterine uit het bloed;
2. het nagaan van de hoeveelheid cholesterine, die in het uittreksel aanwezig is, door middel van de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD.

Wat betreft het uittrekken van cholesterine uit het bloed, hiervan kan in hoofdzaak hetzelfde gezegd worden, als van het uittrekken der vetten uit het bloed. De slotsom van het belangrijke werk van M. KUMAGAWA en K. SUTO [2], dat alcohol het beste uittrek-middel is, maar nog al veel verontreinigingen bevat, verder dat het petro-

[1] P. v. SZENT-GYORGYI. Bioch. Zeitschr. 136. 107. 1923.
[2] M. KUMAGA en K. SUTO. Bioch. Zeitschr. 8. 212. 1908.

leum-aether-uittreksel zoo goed als alleen de vetten en vet-achtige stoffen bevat, geldt ook voor het uittrekken van de cholesterine.

Toch zijn niet alle onderzoekers het hiermede eens.

Eigenlijk worden er bij de verschillende werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van bloed aan cholesterine maar twee oplosmiddelen gebruikt om de cholesterine uit te trekken, n.l. chloroform en het alcohol-aether-mengsel van BLOOR.

Wel zijn er enkele onderzoekers, die het bloed van te voren behandelen met min of meer sterke loog.

Zoo wordt in de werkwijze van W. AUTHENRIETH en C. FUNK [1] het bloed eerst gedurende twee uur verwarmd met loog van 25% en daarna pas uitgetrokken met aether of chloroform. Het blijkt nu, dat men op deze wijze steeds kleinere waarden vindt dan met de andere werkwijzen; volgens BLOOR [2] wordt bij deze behandeling zeker een deel van de cholesterine vernield.

J. MUELLER [3], die het uittrekken volgens BLOOR terdege heeft nagegaan bij het cholesterine-onderzoek, vindt, dat men er practisch alle cholesterine mee uittrekt; het eenige nadeel is de wisselende bruinkleuring van het uittreksel.

S. LEIBOFF [4], die zich langen tijd heeft bezig gehouden met het verbeteren van de werkwijzen voor het onderzoek naar de hoeveelheid cholesterine in bloed, vindt het uittrekken volgens W. R. BLOOR ook uitstekend, maar gebruikte toch uitsluitend chloroform, omdat de wisselende bruinkleuring van het uittreksel het vergelijken van de kleuren dikwijls onmogelijk maakt.

TH. HESS THAYSSEN [5] is eigenlijk de eenige, die het uittrekken met het alcohol-aether-mengsel onvoldoende vindt, omdat er volgens hem niet te verwaarloozen hoeveelheden in het bloed achterblijven; hij trekt daarom wel uit met alcohol-aether, maar na een langdurige behandeling met loog.

Ik heb bij het onderzoek naar de hoeveelheid cholesterine het bloed uitgetrokken, zooals aangegeven wordt door BLOOR, maar hield daarbij in het oog, dat het volgens het onderzoek van HESS THAYSSEN niet onmogelijk is, dat deze wijze van uittrekken iets te wenschen overlaat; de door hem aangegeven behandeling met loog heb ik niet willen volgen, omdat BLOOR aangetoond heeft, dat daarbij een deel van de cholesterine vernield wordt.

Wanneer men nu het bloed uittrekt met alcohol-aether, dit uittreksel indampt tot droog en de rest uittrekt met chloroform, dan

---

[1] W. AUTHENRIETH en C. FUNK. Münch. med. Wochenschr. 23. 1243. 1913.

[2] W. R. BLOOR. 52. 191. 1922. Journ. o. Biol. Chem.

[3] J. MUELLER. Journ. o. Biol. Chem. 25. 88. 1916.

[4] S. LEIBOFF. Journ. o. Biol. Chem. 61. 177. 1924.
Journ. o. Lab. a. Clin. Med. X. 857. 1925 en XI 777. 1925 en XV. 776. 1929.

[5] TH. HESS THAYSSEN. Bioch. Chem. Zeitschr. 62. 89. 1914.

blijkt dit laatste uittreksel dikwijls zoo sterk gekleurd te zijn, dat het vergelijken van de kleur onmogelijk wordt.

Zelfs, wanneer men de droge rest eerst nog uittrekt met petroleum-aether (een wijze van werken, waarover ik later nog zal spreken en waarbij geen cholesterine verloren gaat), dit indampt tot droog en hierna pas het chloroformuittreksel maakt, is deze bruine kleur onveranderd aanwezig.

Om deze bruine kleur te voorkomen, rieden W. AUTHENRIETH en C. FUNK [1] om het uittreksel eerst uit te schudden met natrium-sulfaat.

MUELLER [2], die de werkwijze van W. AUTHENRIETH en C. FUNK onvoldoende vond, stelde voor om het chloroform-uittreksel uit te schudden met water, waarin de kleurstof overgaat en dit mengsel later te scheiden in een scheidtrechter. Deze werkwijze is natuurlijk alleen bruikbaar bij de „macro-methoden".

F. CSONKA [3] trachtte een ongekleurd chloroform-uittreksel te verkrijgen door het uit te schudden met barium-chloride.

G. E. SACKETT [4] tracht de bruine kleur te voorkomen door het mengsel bloed-alcohol-aether niet te verwarmen; om dezelfde reden trekken ook J. FORBES en V. RICHMOND [5] het bloed uit bij kamertemperatuur.

Dit uittrekken bij kamertemperatuur is zeker af te raden, omdat men er toch al niet geheel zeker van is, dat men met alcohol-aether de cholesterine volledig uittrekt.

Waardoor deze bruine kleur veroorzaakt wordt, is niet bekend.

P. V. SZENT-GYORGYI en TOMINAGA [6] meenen te doen te hebben met haematine; dit komt mij echter onwaarschijnlijk voor, omdat deze bruine kleurstof zeer goed oplost in petroleum-aether en chloroform, terwijl de producten van de bloedkleurstof toch onoplosbaar zijn in deze vloeistoffen.

R. BIERICH, A. DETZEL en A. LANG [7] deden cholesterine-onderzoek in gezwellen en werden daarbij sterk gehinderd door dezelfde bruingele kleur, die men krijgt bij het onderzoek naar de grootte van het cholesterine-gehalte van bloed; deze kleur was vooral zeer sterk, wanneer er vetrijk weefsel werd onderzocht. Daarom meenen de schrijvers, dat deze kleur wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van vetten. Het gelukte hun om het chloroform-uit-

---

[1] W. AUTHENRIETH en C. FUNK. Münch. med. Wochenschr. 1913. 60. 1243.
[2] J. MUELLER. Journ. o. Biol. Chem. 25. 552. 1916.
[3] F. CSONKA. Journ. o. Biol. Chem. 24. 431. 1916.
[4] G. E. SACKETT. Journ. o. Biol. Chem. 64. 203. 1925.
[5] J. FORBES en V. RICHMOND. J. o. Lab. a. Clin. Med. XVL. 520. 1931.
[6] P. V. SZENT-GYORGYI en TOMINAGA. Bioch. Zeitschr. 146. 226. 1924.
[7] R. BIERICH, A. DETZEL en A. LANG. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 201. 157. 1931.

treksel ongekleurd te krijgen door een voorafgaand verzeepen van het vet.

Daarom heb ik bij mijn cholesterine-onderzoek het alcohol-aether-uittreksel eerst verzeept met 1 cc. loog van 0,1 n sterkte, door dit mengsel in te dampen tot droog; de rest werd uitgetrokken met chloroform, waarbij bleek, dat dit uittreksel steeds ongekleurd was.

Dat in deze droge verzeepte rest geen cholesterine achterbleef na het uittrekken met chloroform, liet zich gemakkelijk aantoonen. Bovendien was dit reeds nagegaan door BLOOR [1], die ook deze werkwijze gebruikte, maar met het doel de vetzuur-zeepen te scheiden van de cholesterine.

Bij het nagaan van de hoeveelheid cholesterine, die in het chloroform-uittreksel aanwezig is, liggen twee vragen voor de hand:

1. zijn er in het uittreksel nog andere stoffen aanwezig, die ook de kleurreactie van LIEBERMANN-BURCHARD geven?
2. hoe groot is de gevoeligheid van deze reactie, m.a.w., met hoe weinig bloed kan men bij deze werkwijze volstaan?

Alvorens men vraag 1 kan beantwoorden, zal men eerst twee andere vragen onder oogen moeten zien, n.l.:

a. zyn er behalve cholesterine stoffen bekend, die ook de kleurreactie van LIEBERMANN-BURCHARD geven?
b. komen een of meer van deze stoffen voor in het bloed?

Zeker zijn er stoffen bekend, die ook de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD geven, maar deze zijn alle nauw verwant met de cholesterine.

De voornaamste hiervan zijn: oxy-cholesterine, koprosterine, isocholesterine, spongo-sterine (M. HENZE [2]) en asteria-sterine (J. PAGE [3]).

Volgens BLOOR [4] zouden er nog andere stoffen in het bloed voorkomen, die eveneens de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD geven en die bij een kortdurende behandeling met loog van 0,1 n sterkte ontleed zouden worden. Welke deze stoffen zijn, is totaal onbekend.

Ook LUDEN [5] en J. FEIGL [6] meenen, dat er nog andere stoffen in het bloed voorkomen, die deze kleurreactie geven.

Behalve deze onbekende stoffen, die in het bloed voor zouden komen, is van de stoffen, die verwant zijn met cholesterine, alleen oxy-cholesterine met zekerheid in bloed aangetoond; van de andere stoffen is, wat dit betreft, zeer weinig bekend.

---

[1] W. R. BLOOR. Journ. o. Bioch. Chem. 52. 191. 1922.
[2] HENZE. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 41. 109. 1904 en 55. 427. 1908
[3] L. PAGE. Journ. o. Biol. Chem. 57. 471. 1923.
[4] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 52. 191. 1922.
[5] LUDEN. Journ. o. Lab. a. Clin. Med. 4. 749. 1918/19.
[6] J. FEIGL. Zeitschr. f. ges. Exp. Med. XI. 178. 1920.

Behalve, dat er in het chloroform-uittreksel misschien de stoffen voorkomen die door BLOOR, LUDEN en FEIGL bedoeld zijn, is het zeer wel mogelijk, dat er ook nog derivaten van de cholesterine in aanwezig zijn; een deel van deze stoffen wordt waarschijnlijk gesplitst bij de behandeling met loog van 0,1 n sterkte, die ik toepaste om het chloroform-uittreksel van kleurstof te bevrijden.

Wat daarna er nog van overblijft, d.w.z. hoeveel van deze stoffen meedoen aan de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD, is niet te zeggen; in ieder geval zal de hoeveelheid van deze stoffen zeer klein zijn.

Wat de gevoeligheid van de reactie betreft, hiervan zegt J. MUELLER [1], dat men met een behoorlijke nauwkeurigheid de kleur kan vergelijken bij een hoeveelheid van 0,3 tot 0,5 mG. cholesterine.

Ik deed mijn cholesterine-bepalingen eerst in 0,2 cc. bloed, waarin dan ongeveer 0,25 mG. cholesterine aanwezig was; bij deze hoeveelheid echter is de kleur zeer zwak en moeilijk te vergelijken. Daarom gebruikte ik later steeds 0,4 cc bloed, waarin dus 0,4 tot 0,5 mG. cholesterine aanwezig is en kreeg daarbij goed overeenstemmende waarden bij dubbelbepalingen. Dat de reactie van LIEBERMANN-BURCHARD gegeven wordt door de vrije cholesterine, zoowel als door de esters, was reeds lang bekend en is ten overvloede nog eens door BLOOR [2] aangetoond.

Uitvoering van de cholesterine-bepaling in 0,4 cc. bloed.

0,4 cc. bloed wordt op dezelfde wijze als bij het onderzoek naar de grootte van het vetgehalte uitgetrokken met 20 cc. van het alcohol-aether-mengsel bij kooktemperatuur en gefiltreerd. Dit uittreksel wordt ingedampt tot droog na toevoegen van 1 cc. loog van 0,1 n sterkte voor het verzeepen der vetten, terwijl men er voor zorgt, dat de overblijvende rest regelmatig over den bodem verdeeld is.

Deze korst wordt uitgetrokken met 4 cc. chloroform gedurende ongeveer 10 min. en dit uittreksel gefiltreerd in een maatkolfje van 10 cc.

Daarna wordt het kolfje en het filter tweemaal nagespoeld met 2 cc. chloroform. In een zelfde maatkolfje brengt men 3 cc. van een standaard-oplossing van cholesterine, die 1 mG. per 5 cc. bevat, met 5 cc. chloroform. Aan beide kolfjes voegt men nu 1 cc. azijnzuuranhydride en 0,1 cc. sterk zwavelzuur toe. Na goed geschud te hebben, laat men beide kolfjes 15 min. staan in het donker, vult ze daarna aan met chloroform tot de streep en vergelijkt de kleuren in den colorimeter.

---

[1] J. MUELLER. Journ. o. Biol. Chem. 25. 550. 1916.

[2] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 24. 227. 1916.

C. Werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides.

Van de verschillende werkwijzen, die er bestaan voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides, komen de meeste neer op de volgende bewerkingen:

1. het uittrekken van de phosphatides uit het bloed;
2. destructie van de phosphatides;
3. het onderzoek naar de hoeveelheid phosphorus, die bij deze destructie is vrijgekomen.

Alleen de beide werkwijzen van BANG [1] en BLOOR [2] maken hierop een uitzondering. In deze werkwijzen wordt na het uittrekken en zuiveren van de phosphatides, de grootte van het gehalte nagegaan door oxydatie met het bichromaat-zwavelzuur-mengsel.

Bij het bespreken van de werkwijzen van BANG en BLOOR voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan vet, heb ik uiteengezet welke bezwaren bestaan tegen het gebruik van deze beide oxydatieve werkwijzen.

Daar dezelfde bezwaren natuurlijk gelden voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte aan phosphatides, dat geheel op hetzelfde beginsel berust, heb ik deze werkwijze niet willen gebruiken.

Er blijft dus over een keuze te doen uit de werkwijzen, volgens het bovenstaande schema.

De meer of mindere onvolmaaktheid van deze werkwijzen is dus afhankelijk:

1. van de vorderingen, die gemaakt worden in het onderzoek naar kleine hoeveelheden phosphorus;
2. van de meer of mindere onvolmaaktheid van de werkwijzen, die ons ter beschikking staan voor het afzonderen en zuiveren van de phosphatides uit het bloed.

Het is mij niet goed mogelijk om alle werkwijzen voor het phosphorus-onderzoek uitvoerig te bespreken, maar ik wil alleen de voornaamste noemen, waarbij vooral gelet wordt op die, welke beteekenis hebben voor het phosphatide-onderzoek.

De oude nephelometrische werkwijze van POUGET en CHOUCHAK [3], waarbij het phosphorzuur wordt neergeslagen in den vorm van alcaloïdphosphomolybdaat en de gewichts-analytische werkwijze van G. EMBDEN [4], waarbij het phosphorzuur op dezelfde wijze wordt neergeslagen, hebben nooit eenige beteekenis voor het phosphatide-onderzoek gehad.

---

[1] I. BANG. Biochem. Zeitschr. 91. 86. 1918.

[2] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 82. 273. 1929.

[3] POUGET en CHOUCHAK. Bull. Soc. Chim. d. France. S. 4. dl. 5. blz. 104. ibidem. dl. 9. 1911. blz. 649.

[4] G. EMBDEN. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 113. 138. 1921.

De eerste werkwijze voor phosphorus-onderzoek, die gebruikt werd als grondslag voor een bruikbare werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides, is de colorimetrische werkwijze van BELL en DOISY [1] geweest.

Reeds in 1914 was door A. E. TAYLOR en C. W. MILLER [2] aangetoond, hoe men de grootte van het gehalte aan phosphorus langs colorimetrischen weg kon bepalen, door het phosphorzuur neer te slaan in den vorm van ammoniumphosphomolybdaat, waarna door oplossen en reductie met phenylhydrazine de vloeistof blauw wordt.

Uitgaande van dit beginsel hebben R. D. BELL en E. A. DOISY in 1920 een werkwijze uitgedacht voor het onderzoek van phosphorzuur in kleine hoeveelheden bloed, waarbij ze als reductie-middel gebruikten een oplossing van hydrochinon en natriumsulfiet. Het groote voordeel van dit reductie-middel is gelegen in het feit, dat door dit mengsel wel phosphormolybdeenzuur, maar niet het molybdeenzuur zelf wordt gereduceerd, zoodat de overmaat molybdeenzuur niet stoort.

Door F. RANDLES en A. KNUDSON [3] is toen een werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het phosphatide-gehalte van bloed medegedeeld, waarbij het bloed wordt uitgetrokken met het alcohol-aether-mengsel van BLOOR en het filtraat ingedampt tot droog; deze droge rest wordt gedestrueerd met een mengsel van zwavelzuur en salpeterzuur en het vrijkomende phosphorzuur colorimetrisch nagegaan met de werkwijze van BELL en DOISY.

Deze werkwijze heeft zich echter niet weten te handhaven, omdat de uitkomsten te wisselend bleken te zijn.

J. C. WHITEHORN [4] meende de oorzaak voor deze wisselende uitkomsten te hebben gevonden in verlies van phosphorus bij het ontleden der verbindingen; hierop komen we later nog terug.

Verder bleek, dat de zuurgraad van grooten invloed was op de kleursterkte. De wijzigingen, die door WHITEHORN echter werden aangebracht, betreffen uitsluitend de vernieling der organische verbindingen.

Door A. P. BRIGGS [5] werd in 1922 de werkwijze van BELL en DOISY nauwkeurig nagegaan en vergeleken met de gewichts-analyse, waarbij bleek, dat men wel betrouwbare uitkomsten krijgen kon, maar dat de blauwe kleur, die in de alcalische vloeistof ontstaat, tamelijk snel verbleekt.

Daarom trachtte BRIGGS de reductie te bewerkstelligen in een zure omgeving; wanneer het bloed van te voren behandeld werd met

---

1 R. D. BELL en E. A. DOISY. Journ. o. Biol. Chem. 44. 55. 1920.
2 A. E. TAYLER en C. W. MILLER. Journ. o. Biol. Chem. 18. 215. 1914.
3 F. RANDLES en A. KNUDSON. Journ. o. Biol. Chem. 53. 53. 1922.
4 J. C. WHITEHORN. Journ. o. Biol. Chem. 62. 133. 1924.
5 A. P. BRIGGS. Journ. o. Biol. Chem. 53. 1922. blz. 13.

trichloorazijnzuur, ontstond er bij de reactie met molybdaat en hydrochinon een groene kleur, die zeer bestendig is, terwijl volgens de opgaven van BRIGGS de vloeistof volkomen helder blijft.

Evenwel bleek dit laatste niet het geval te zijn; de nog dikwijls optredende troebelheid van de vloeistof was een aanleiding voor S. R. BENEDICT en R. C. THEIS [1] om een andere werkwijze te zoeken, temeer, daar de kleur, die ontstaat met BELL en DOISY's werkwijze, verbeterd door BRIGGS, nogal zwak is.

Bij deze nieuwe werkwijze wordt een oplossing gebruikt, die het hydrochinon en bisulfiet te samen bevat, terwijl men de kleur laat ontstaan bij kooktemperatuur. Het blijkt, dat de kleur dan zeer standvastig is en bovendien driemaal zoo sterk, als die, welke men krijgt met de werkwijze van BELL-DOISY-BRIGGS.

Niettegenstaande deze nadeelen, de tamelijk zwakke kleur en de nogal eens optredende troebelheid van de vloeistof, is de werkwijze van BELL-DOISY en BRIGGS tegenwoordig nog de meest gebruikte voor het onderzoek naar de hoeveelheid phosphorzuur in bloed.

Door A. HARNES [2] werd een werkwijze medegedeeld voor het onderzoek naar de hoeveelheid phosphatides in bloed, waarbij gebruik gemaakt wordt van de werkwijze van BRIGGS, zonder dat de organische bestanddeelen worden geoxydeerd. Nadat het bloed is uitgetrokken met chloroform, wordt in dit uittreksel onmiddellijk de grootte van het gehalte aan phosphaat bepaald met hydrochinon en molybdaat, op de wijze door BRIGGS aangegeven.

De werkwijze van HARNES is weinig of nooit door andere onderzoekers gebruikt en niet voldoende gecontroleerd; het is ook zeer de vraag of het mogelijk is zonder voorafgaande destructie de geheele hoeveelheid phosphorus te bepalen, die in den vorm van phosphatides aanwezig is.

De andere bekende werkwijzen voor het onderzoek van phosphorzuur in bloed, zooals die van Y. TERADA [3], waarbij het phosphorzuur wordt neergeslagen in den vorm van strychnine-phosphomolybdaat en daarna gereduceerd met phenylhydrazine, waarbij een wijnroode kleur ontstaat, of de micro-colorimetrische werkwijze van J. WARKANY [4], die evenals die van W. MARIOT en ASSLER [5] op de kleurreactie van BELL en DOISY berust, noch de micro-gravimetrische werkwijze van A. HOLTZ [6] en de werkwijze van BREHME en LEPSKY [7] hebben eenige beteekenis gekregen voor het onderzoek naar het gehalte van bloed aan phosphatides.

---

[1] S. R. BENEDICT en R. C. THEIS. Journ. o. Biol. Chem. 6163. 1924.
[2] A. HARNES. Journ. o. Biol. Chem. 77. 408. 1928.
[3] Y. TERADA. Bioch. Zeitschr. 144/145. 426.
[4] J. WARKANY. Bioch. Zeitschr. 189. 336. 1927.
[5] W. MARIOT en ASSLER. Journ. o. Biol. Chem. 32. 241. 1917.
[6] BREHME en LEPSKY. Klin. Wochenschr. dl. 6. blz. 1905-1906.
[7] A. HOLTZ. 36. Tagung der deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde.

Door F. F. TISDALL [1] is een werkwijze uitgedacht, waarbij het phosphorzuur wordt neergeslagen als strychnine-phospho-molybdaat, waarna dit neerslag opgelost wordt in natronloog en gereduceerd met kaliumferrocyanide en zoutzuur. De groene kleur, die daarbij ontstaat, is zeer sterk en voldoende standvastig.

In 1926 is deze werkwijze een weinig gewijzigd door K. BARRENSCHEEN, F. DOLESCHALL en L. POPPER [2], waarbij het beginsel echter onveranderd is gebleven.

Tot nu toe is deze werkwijze nooit gebruikt voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides.

Zooals we hebben gezien, berusten de meeste werkwijzen voor het onderzoek naar het gehalte van bloed aan phosphorus op de reductie van het phosphormolybdeenzuur tot blauw molybdeen-oxyde, waarna men de kleur vergelijkt met die van een standaard-oplossing van mono-kalium-phosphaat, die men op dezelfde wijze behandelt.

Door ROE, IRISH en BOYD [3] is aangetoond, dat verschillende bijkomstige omstandigheden een rol spelen bij het ontstaan van deze kleur; de kleur blijkt afhankelijk te zijn: van de concentratie van het molybdeenzuur; van de concentratie van de reduceerende stof; van den tijd; van de waterstof-ionen-concentratie; van de aanwezigheid van zouten en van de hoeveelheid phosphaat, die in de oplossing aanwezig is.

Dit was voor S. LEIBOFF een aanleiding om naar een nieuwe werkwijze voor het onderzoek naar het phosphorus-gehalte van bloed te zoeken.

Daarbij ging hij uit van het feit, dat phosphaten volledig worden neergeslagen door uraniumzouten.

Door R. GIBSON en ESTES [4] was deze werkwijze reeds in 1909 gebruikt voor het phosphaat-onderzoek in urine, door een overmaat uranium-acetaat aan de urine toe te voegen en na verwijderen van het neerslag van uranium-phosphaat de overmaat uranium-acetaat colorimetrisch na te gaan.

Door T. SATO [5] werd een eenigszins anderen weg gevolgd; hij waschte het neerslag van uranium-phosphaat uit en onderzocht de hoeveelheid uranium in dit neerslag colorimetrisch.

S. LEIBOFF [6] gebruikte voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan anorganisch phosphaat een werkwijze, die zeer nauw verwant is met die van SATO.

---

[1] F. F. TISDALL. Journ. o. Biol. Chem. 50. 329. 1922.
[2] K. BARRENSCHEEN, F. DOLESCHALL en L. POPPER. Bioch. Zeitschr. 177. 39. 1926.
[3] ROE, IRISH en BOYD. Journ. o. Biol. Chem. 67. 579. 1926.
[4] R. GIBSON en ESTES. Journ. o. Biol. Chem. 6. 349. 1909.
[5] T. SATO. Journ. o. Biol. Chem. 35. 473. 1918.
[6] S. LEIBOFF. Journ. o. Biol. Chem. 80. 211. 1928.

Na ont-eiwitten met trichloorazijnzuur wordt het phosphaat neergeslagen als uranium-phosphaat bij aanwezigheid van azijnzuur en ammonium-acetaat; het neerslag wordt bevrijd van uranium-acetaat, opgelost in trichloor-azijnzuur en de hoeveelheid colorimetrisch nagegaan met kaliumferrocyanide.

Van deze werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het phosphaat-gehalte van bloed maakt LEIBOFF gebruik, bij het nagaan van het phosphatides-gehalte.

Het bloed wordt uitgetrokken met het alcohol-aether-mengsel en het filtraat ingedampt tot droog; daarna wordt de droge rest ontleed met sterk zwavelzuur en waterstofperoxyde; het daarbij ontstane phosphorzuur wordt dan met bovengenoemde werkwijze colorimetrisch nagegaan.

Voor het onderzoek naar de hoeveelheid van het ,,organisch-gebonden'' phosphaat is het noodig, dat men vooraf deze organische stoffen ontleedt. Hiervoor gebruikt men meestal het verasschingsmengsel van NEUMANN, dat uit gelijke deelen sterk zwavelzuur en salpeterzuur bestaat (F. RANDLES en A. KNUDSON [1] gebruikten voor de verassching 6 druppels zwavelzuur en 1 druppel salpeterzuur).

Door J. C. WHITEHORN [2] werd echter aangetoond, dat de werkwijze van RANDLES en KNUDSON wisselende uitkomsten geeft, omdat bij de ontleding vaak een oververhitten plaats heeft, waarbij phosphorus door verdampen ontwijkt, bij het overgaan in pyro- of metaphosphorzuur, of bij de vorming van silico-phosphorzuur. Dit oververhitten wordt voorkomen door meer zwavelzuur en salpeterzuur te gebruiken, zoodat er meer vloeistof aanwezig is. WHITEHORN raadt daarom aan om 1 cc. zwavelzuur en 1 cc. salpeterzuur te gebruiken.

W. R. BLOOR [3] gebruikt bij zijn ,,oxydatieve werkwijze'' voor het onderzoek naar de hoeveelheid phosphatides-bloed ook het mengsel van zwavelzuur en salpeterzuur.

S. LEIBOFF [4] daarentegen gebruikt een mengsel van zwavelzuur en waterstof-peroxyde, in navolging van E. J. BAUMANN [5] en M. KOCH-MEEKIN [6].

Door ROE, IRISH en BOYD [7] worden de organische stoffen ontleed door een mengsel van zwavelzuur, salpeterzuur en waterstofperoxyde.

Ik geloof niet, dat het veel verschil maakt, welke wijze van ontleding men uit deze kiest, daar men met zoo gemakkelijk ontleedbare stoffen als phosphatides te doen heeft.

---

[1] F. RANDLES en A. KNUDSON. Journ. o. Biol. Chem. 53. 53. 1922.
[2] J. C. WHITEHORN. Journ. o. Biol. Chem. 62. 133. 1924.
[3] W. R. BLOOR. Journ. o. Biol. Chem. 82. 273. 1929
[4] S. LEIBOFF. Journ. o. Biol. Chem. 80. 211. 1928.
[5] E. J. BAUMANN. Journ. o. Biol. Chem. 59. 667. 1924.
[6] M. KOCH-MEEKIN. Journ. Am. Chem. Soc. 1924. 46. 2066.
[7] ROE, IRISH en BOYD. Journ. o. Biol. Chem. 579. 1926.

Het eenige, waarvoor men zorg heeft te dragen, is dat de hoeveelheid vloeistof groot genoeg is, zoodat er geen oververhitten plaats kan hebben, waarbij phosphorus zou kunnen ontwijken.

Er blijft dus nog over te bespreken, op welke wijze men de phosphatides uit het bloed kan afzonderen.

De meeste werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides bestaan eenvoudig uit een uittrekken van het bloed met alcohol-aether en een phosphorusonderzoek, na voorafgaande ontleding van de organische stoffen.

Men begrijpt zonder meer, dat een dergelijke werkwijze alleen betrouwbare uitkomsten kan geven, wanneer er in het alcohol-aether-uittreksel geen andere organische phosphorus-verbindingen voorkomen dan phosphatides.

Dat er in het alcohol-aether-uittreksel geen ,,anorganische phosphorus'' voorkomt, is gemakkelijk aan te toonen.

In het bloed komen echter, behalve de phosphatides, nog andere organische bestanddeelen voor, die phosphorus bevatten; de voornaamste en tot nu toe bekende van deze stoffen zijn: nucleoproteïden, nucleotiden, hexose-mono-phosphorzuur, hexose-di-phosphorzuur en di-phospho-glycerine-zuur.

Nu is door E. LE BRETON [1] aangetoond, dat het aether-uittreksel van organen wel degelijk organische phosphorus-verbindingen bevat buiten de phosphatides. Zij komt aan het einde van haar onderzoek tot het volgende besluit:

1. Le phosphore lipoidique total éthéro-soluble contient des combinaisons phosphorée autres que les phosphatides.
2. Le phosphore appartenant a ces composés pouvant faire, dans certains tissus jusqu'a 20% du phosphore lipoidique total, les methodes classiques d'évaluation indirecte des phosphatides par le phosphore s'en trouvent faussées. Ces methodes ne sont applicables qu'apprès fractionnement du phosphore lipoidique total

Verder is door haar een onderzoek ingesteld naar den aard van deze stof of stoffen, waarbij ze tot de slotsom kwam, dat de verontreiniging van het aether-uittreksel hoofdzakelijk veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van ,,l'acide glycero-phosphorique''.

In hoeverre dit ook het geval is bij het uittrekken van bloed met alcohol-aether, is voor zoo ver mij bekend, nog niet onderzocht.

Daar men uit het onderzoek van E. LE BRETON weet, dat de verbinding van glycerine en phosphorzuur, hetzij in den vorm van di-phospho-glycerine-zuur, hetzij in een nog onbekende verbinding, bij het uittrekken overgaat in den aether en daar het voorkomen van di-phospho-glycerine-zuur in bloed met zekerheid is aangetoond, is

---

[1] E. LE BRETON. Bull. Soc. Chim. Biol. 3. 539. 1921.

het vrijwel zeker, dat het alcohol-aether-uittreksel van bloed naast de phosphatides nog andere organische phosphorus-verbindingen bevat, met name het di-phospho-glycerine-zuur.

De vraag is dus nu, hoe zal men uit het alcohol-aethet-uittreksel de phosphatides scheiden van de andere organische phosphorus-verbindingen.

Dat de phosphatides onoplosbaar of zeer moeilijk oplosbaar zijn in aceton en men daardoor de phosphatides uit een aetherische oplossing kan neerslaan met aceton, is reeds door G. ZUELZER [1] in 1899 aangetoond.

Maar zeer korten tijd daarna wist men, dat deze wijze van neerslaan lang niet volledig is en dat een aanzienlijk deel van de phosphatides daarbij achterblijft; men spreekt dan ook van het in aceton-aether oplosbare deel der phosphatides.

Later toonde NERKING [2] aan, dat het neerslaan van de phosphatides uit een aetherische oplossing met aceton volledig is, wanneer men sporen van bivalente metalen daaraan toevoegt. Hij gebruikte hiervoor magnesiumchloride.

Ook MAC LEAN [3], die zich lang heeft beziggehouden met het afzonderen en zuiveren van de phosphatides uit weefsel-uittreksels, komt tot dezelfde slotsom, n.l. dat men met aceton de phosphatides volledig kan neerslaan uit een alkoholische of aetherische oplossing bij de aanwezigheid van zouten.

Door W. R. BLOOR [4] is in 1929 nog eens nagegaan, hoe groot de hoeveelheid phosphatides is, die oplost in het mengsel aether-aceton bij de aanwezigheid van een weinig magnesiumchloride; hij vat zijn bevindingen als volgt samen:

„it may be concluded then, that the amount of phospholipid soluble in acetone-MgCl2-aether-solution is within the limit of error of the method and therefore negligable".

Uitgaande van dit beginsel, heeft BLOOR bij zijn werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides een weg aangegeven voor het zuiveren van deze stoffen, die zeer goed heeft voldaan. Daarbij gaat BLOOR als volgt te werk:

Het petroleum-aether- of aether-uittreksel van bloed wordt ingedampt tot ongeveer 2 cc. in een centrifuge-buisje en hieraan toegevoegd 7 cc. aceton en 3 druppels van een verzadigde oplossing van magnesiumchloride in alcohol. Het neerslag wordt door centrifugeeren verzameld en tweemaal uitgewasschen met aceton.

---

[1] G. ZUELZER. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 27. 255. 1899

[2] J. NERKING. Biochem. Zeitschr. 23. 262. 1910.

[3] MAC LEAN. Biochem. Journ. VI. 355. 1912.
Biochem. Zeitschr. 57. 134. 1913.
Biochem. Journ. VIII. 453. 1914.
ibidem. IX. 351. 1915.

[4] W. R. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 82. 273. 1929.

Bij de onderzoekingen naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides, die ik zelf deed, heb ik in het begin veel moeilijkheden ondervonden.

In het begin gebruikte ik de werkwijze van LEIBOFF, die genoemd is op blz. 90, maar ik heb die moeten verlaten, omdat ik steeds bij het toevoegen van het uraan-reagens een neerslag kreeg van uraniumoxyde, niettegenstaande de vloeistof duidelijk zuur was gemaakt met azijnzuur. Wat hiervan de oorzaak is geweest, weet ik niet.

Daarna gebruikte ik de oude werkwijze van BELL en DOISY, zooals die gewijzigd is door BRIGGS, maar de uitkomsten, die ik op deze wijze verkreeg, waren te wisselend, wanneer ik werkte met kleine hoeveelheden bloed.

Ten slotte gebruikte ik de werkwijze van TISDALL voor het onderzoek naar de hoeveelheid phosphaat in het gezuiverde petroleum-aether-uittreksel van bloed, die mij zeer goed heeft voldaan.

Bovendien deed er zich nog een moeilijkheid voor bij het verasschen van de phosphatides.

Oorspronkelijk gebruikte ik in navolging van LEIBOFF waterstofperoxyde en zwavelzuur, maar de uitkomsten, die ik verkreeg, waren veel te hoog.

Na een ingesteld onderzoek (waarbij ik werd geholpen door DR. J. DER WEDUWEN), bleek de oorzaak hiervoor gelegen te zijn in het phosphaat-gehalte van de waterstof-peroxyde.

PROF. SCHOORL deelde mij mede, dat de in den handel verkrijgbare waterstof-peroxyde steeds een niet te verwaarloozen hoeveelheid phosphaat bevat.

Het is dus noodig, dat men uitdrukkelijk vermeldt, dat de waterstof-peroxyde vrij was van phosphaat, wanneer men deze wijze van verasschen gebruikt.

Ik heb voor de ontleding van de phosphatides het mengsel van NEUMANN gebruikt.

Beschrijving van de gevolgde werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan phosphatides in 0,2 cc. bloed.

1. HET UITTREKKEN VAN DE PHOSPHATIDES uit het bloed gebeurde door middel van het alcohol-aether-mengsel van BLOOR, wat ook hier weer het beste uittrek-middel bleek te zijn, om dezelfde redenen, die uitvoerig zijn besproken op blz. 65.

0,2 cc. bloed wordt onder dezelfde voorzorgen als op blz. 72 beschreven, gebracht in 10 cc. alcohol-aether en tot kooktemperatuur verwarmd; daarna wordt gefiltreerd over asch-vrij filtreerpapier, waarna kolf en filter tweemaal worden nagespoeld met 5 cc. alcohol-aether.

2. HET AFZONDEREN VAN DE PHOSPHATIDES uit dit uitreksel gebeurde op de volgende wijze: het alcohol-aether-uittreksel werd ingedampt tot droog, waarbij er voor gezorgd werd, dat de rest regelmatig over den bodem verdeeld was. Deze rest werd uitgetrokken met 5 cc. petroleum-aether en het uittreksel gefiltreerd over aschvrij filtreerpapier in een centrifuge-buisje van pyrex-glas van 15 cc. inhoud. Daarna worden kolf en filter tweemaal nagespoeld met 3 cc. petroleum-aether. Dit petroleum-aether-uittreksel wordt op een waterbad ingedampt tot ongeveer 1 cc., waarbij men er zeer op moet letten, dat er niets overspat. Aan deze rest van het petroleum-aether-uittreksel wordt 8 cc. aceton toegevoegd en 3 druppels van een verzadigde oplossing van magnesiumchloride in alcohol. Er ontstaat dan een fijn vlokkig neerslag van de phosphatides, dat door centrifugeeren werd verzameld en tweemaal werd uitgewasschen met 5 cc. aceton.

3. DE ONTLEDING VAN DE PHOSPHATIDES, waarbij het phosphorzuur vrijkomt, werd bereikt door aan het neerslag 10 druppels van het verasschingsmengsel van NEUMANN toe te voegen en te verwarmen op een kleine vlam. Er ontstaat dan eerst een roode verkleuring, die bij voortgezet verwarmen overgaat in een donkerbruine tot zwarte. Dan voegde ik nog enkele druppels salpeterzuur toe en verwarmde opnieuw. Wanneer de vloeistof kleurloos is, mag men aannemen, dat alle phosphatides zijn ontleed.

4. HET NAGAAN VAN DE HOEVEELHEID PHOSPHORZUUR, die aanwezig is, gebeurde als volgt: De vloeistof in het centrifuge-buisje werd voorzichtig behandeld met ammoniak van 5% tot de reactie juist even zuur is. Nadat er 2 cc. van het strychnine-molybdaat-reagens waren toegevoegd en de vloeistof flink was gemengd, liet ik dit mengsel gedurende een half uur staan, waarna men mag aannemen, dat alle phosphorzuur is neergeslagen als strychnine-phospho-molybdaat. De overmaat molybdaat werd daarna verwijderd door centrifugeeren gedurende 10 min., waarna de bovenstaande vloeistof voorzichtig werd afgeschonken. Het neerslag werd tweemaal uitgewasschen met 3 cc. gedest. water.

Daarna werd het neerslag opgelost in 2 cc. loog van 1% en volledig overgebracht in een maatkolfje van 100 cc. Hieraan werd toegevoegd 20 cc. van een oplossing van kaliumferrocyanide van 10% en 10 cc. sterk zoutzuur.

Op dezelfde wijze wordt 1 cc. van een standaardoplossing van monokaliumphosphaat, die 0,05 mG. phosphorus per cc. bevat, behandeld en de kleur met die van de te onderzoeken vloeistof na 15 min. in den colorimeter vergeleken.

Uit de hoeveelheid phosphorus berekent men het gehalte aan

phosphatides als lecithine, wanneer men bedenkt, dat lecithine 4% phosphorus bevat.

Omdat ik steeds de grootte van het gehalte van het bloed aan vet, cholesterine en phosphatides gelijktijdig moest onderzoeken, heb ik deze drie werkwijzen samengesteld tot een.

D. Gevolgde werkwijze voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan vet en vetachtige stoffen in 2 cc. bloed.

2 cc. bloed liet ik uit een gewone pipet voorzichtig uitstroomen in 50 cc. van het alcohol-aether-mengsel in een kolfje van 100 cc. inhoud, terwijl voortdurend werd geschud. Dit mengsel werd op een waterbad even tot kooktemperatuur verwarmd en na 15 minuten gefiltreerd over asch-vrij filtreerpapier, waarna de kolf en het filter tweemaal werden nagespoeld met 5 cc. van het alcohol-aether-mengsel.

Het filtraat wordt op een waterbad tot droog ingedampt, waarbij er voor zorg werd gedragen, dat de rest regelmatig over den bodem verdeeld was.

Vervolgens werd deze rest uitgetrokken met ongeveer 40 cc. petroleumaether en dit uittreksel gefiltreerd over asch-vrij filtreerpapier in een maatkolfje van 50 cc. De kolf en het filter werden tweemaal nagespoeld met 4ϕ cc. petroleumaether, waarna het volume van het uittreksel werd gebracht op 50 cc.

Van dit petroleum-aether-uittreksel pipetteerde ik in twee wijde reageerbuizen 5 cc. voor het onderzoek naar de grootte van het vetgehalte, in twee z.g. suikerbuizen 10 cc. voor het cholesterine-onderzoek en in twee centrifuge-buizen van pyrex-glas 5 cc. voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides.

De twee reageerbuizen met 5 cc. petroleum-aether-uittreksel worden op een waterbad ingedampt tot droog; aan de droge rest wordt toegevoegd 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte en enkele druppels alcohol. Dit mengsel wordt weer ingedampt tot droog, waarbij het vet wordt omgezet in glycerine en vetzuur; dit vetzuur vormt met de loog zeepen. Aan deze droge rest wordt 2 cc. zwavelzuur van 0,1 n. sterkte toegevoegd en daarna zooveel alcohol, totdat juist alle vetzuren zijn opgelost (meestal is hiervoor 1½ cc. alcohol noodig). Vervolgens voegde ik 2 druppels phenolphtaleïne toe en titreerde de hoeveelheid zuur met de micro-buret.

Berekening: het bloed bevat a $\times$ 26,9 $\times$ 500 mG. tripalmitine per 100 cc.

(a is het aantal cc. loog, dat bij de titratie werd verbruikt).

De twee suikerbuizen met 10 cc. petroleum-aether-uittreksel

werden op een waterbad ingedampt tot droog en aan de rest 2 cc. loog van 0,1 n. sterkte toegevoegd. Dit mengsel wordt nog eens verwarmd tot droog en de rest uitgetrokken met 4 cc. chloroform, waarna dit uittreksel werd gefiltreerd in een maatkolfje van 10 cc. De suikerbuis en het filter werden tweemaal nagespoeld met 2 cc. chloroform. Daarna brengt men in een ander maatkolfje van 10 cc. 3 cc. van een standaardoplossing van cholesterine in chloroform, die 1 mG. per 5 cc. bevat en voegt daaraan toe 5 cc. chloroform. Aan alle drie de maatkolfjes werd nu 1 cc. azijnzuuranhydride en 0, 1 cc. sterk zwavelzuur toegevoegd. Na schudden worden de maatkolfjes in het donker gedurende 15 min. weggezet, daarna aangevuld met chloroform tot de maatstreep en de kleur in den colorimeter vergeleken.

Berekening: wanneer men de standaardoplossing zet op 15 mM. en de kolomhoogte van de te onderzoeken vloeistof is X, dan bevat het bloed:

X/15 maal 150 mG. cholesterine per 100 cc.

De twee centrifuge-buizen met 5 cc. van het petroleum-aether-uittreksel worden op een waterbad voorzichtig ingedampt tot ongeveer 1 cc. en aan deze rest wordt 8 cc. aceton toegevoegd en 3 druppels van een verzadigde oplossing van magnesiumchloride in alcohol. Het neerslag der phosphatides wordt door centrifugeeren verzameld en tweemaal uitgewasschen met aceton. Daarna werd aan het neerslag 10 druppels van het verasschingsmengsel van NEUMANN toegevoegd en dit mengsel verwarmd op een kleine vlam tot donkerbruine verkleuring; vervolgens voegde ik twee druppels salpeterzuur toe en verwarmde opnieuw tot de vloeistof kleurloos was. De vloeistof in het centrifuge-buisje werd nu voorzichtig behandeld met ammoniak van 5% tot de reactie zwak zuur was. Nadat er 2 cc. van het strychnine-molybdaat-reagens waren toegevoegd en de vloeistof flink was gemengd, liet ik de buisjes gedurende een half uur staan, om vervolgens te centrifugeeren. Het neerslag werd tweemaal uitgewasschen met 3 cc. gedest. water en opgelost in 2 cc. loog van 1%. Deze oplossing werd volledig overgebracht in een maatkolf van 100 cc. en hieraan toegevoegd 20 cc. van een kaliumferrocyanide-oplossing van 10% en 10 cc. sterk zoutzuur. Op dezelfde wijze werd 1 cc. van een standaard-oplossing van monokaliumphosphaat, die 0,05 mG. phosphorus per cc. bevat, behandeld. De kleuren werden na 15 min. in den colorimeter vergeleken.

Berekening: wanneer men den standaard zet op 25 mM. en de kolomhoogte van de te onderzoeken vloeistof is X, dan bevat het bloed:

X maal 25 mG. lecithine per 100 cc.

OVER HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN ONDER VERSCHILLENDE OMSTANDIGHEDEN.

EEN ONDERZOEK NAAR DEN INVLOED VAN INSULINE OP DE TOLERANTIE VOOR VET.

1. OVER DE WISSELINGEN IN HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN BIJ ONTHOUDEN VAN VOEDSEL.

Onder alle omstandigheden, zelfs na zeer lang hongerlijden vindt men vet en vet-achtige stoffen in het bloed van mensch en dier.

Bij verschillende dieren van eenzelfde soort (honden) vond S. LEITES [1] nog al uiteenloopende waarden voor het gehalte van deze verschillende stoffen in bloed; daar hij echter niet vermeldt of alle dieren op gelijke en standvastige wijze gevoed werden, kan men aan deze getallen geen groote beteekenis toekennen. Bij eenzelfde dier op verschillende dagen onderzocht, schommelde het gehalte van het bloed aan deze stoffen nog aanzienlijk, terwijl de waarden, die LEITES verkreeg, wanneer hij binnen 7 uur het bloed op verschillende tijden onderzocht, tamelijk standvastig bleken te zijn. Zoo vond hij bij een hond:

om	10 uur	11½ uur	3 uur	5 uur	
vet	45	49	43	40	mG. per 100 cc.
cholesterine	129	128	130	121	
phosphatides	207	196	225	208	mG. per 100 cc.

Y. HORIUCHI [2] vond bij konijnen standvastige waarden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, bij een standvastig dieet, ook al lagen de tijden van het onderzoek maanden uit elkaar. Wel bleek hierbij, dat deze waarden sterk afhankelijk waren van den aard van de voeding.

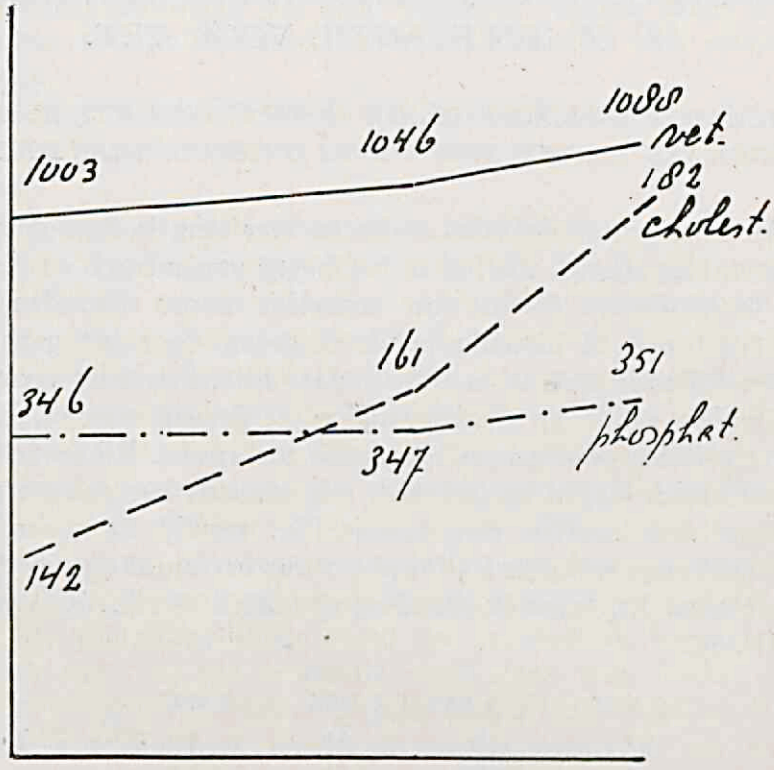
A. FLEISCH [3] vond dagschommelingen, die zoo klein waren, dat zij binnen de foutengrens van de werkwijze lagen, maar hij vond aanzienlijke wisselingen, wanneer hij het onderzoek over langen tijd uitstrekte.

---

1 S. LEITES. Bioch. Zeitschr. 184. 273. 1927.
2 Y. HORIUCHI. Journ. o. biol. Chem. 44. 345. 1920.
3 A. FLEISCH. Bioch. Zeitschr. 177. 462. 1926.

Hiermede is geheel in overeenstemming het onderzoek van C. MC. CLURE en M. HUNTSIGER [1] die bij honden kleine dagschommelingen vonden in de grootte van het gehalte van bloed aan vet en vet-achtige stoffen, maar groote verschillen, wanneer zij het bloed onderzochten met tusschenruimten van een maand.

In tegenspraak hiermede is de mededeeling van I. BANG [2], die onafhankelijk van den duur van het hongerlijden standvastige waarden vond bij honden voor het gehalte van het bloed aan cholesterine en phosphatides, terwijl het gehalte aan vet soms iets toe- of afnam.



Figuur 3 (zie blz. 130.)

Toch is deze bevinding van BANG niet in overeenstemming met de meeste onderzoekingen, die op dit gebied zijn gedaan en algemeen wordt toch aangenomen, dat bij langdurig hongerlijden de grootte van het cholesterinegehalte niet onaanzienlijk toeneemt. (H. MAGISTRIS. Ergebn. d. Physiol. 31. 1931.)

De honden, die ik voor mijn proeven gebruikte, kregen een vrijwel standvastige, gemengde voeding en hadden vóór het onderzoek steeds 14 uur gevast, terwijl op den dag van het onderzoek alle voedsel werd onthouden.

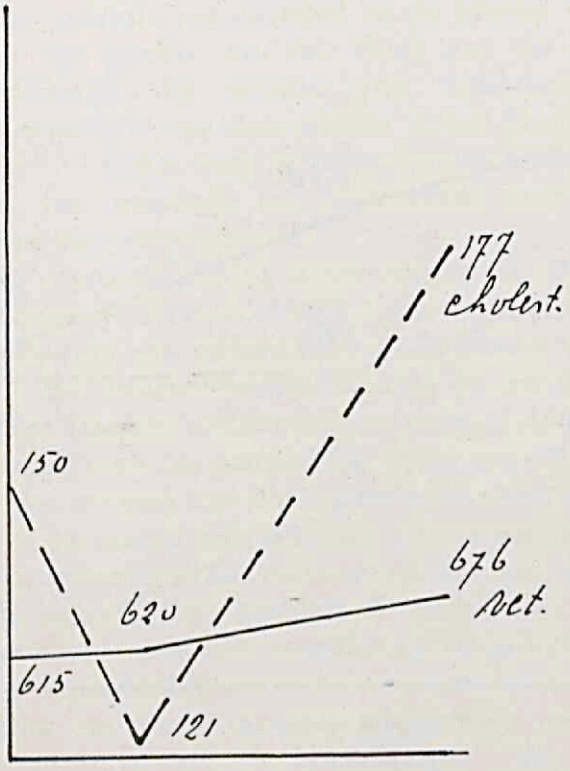
Daarbij vond ik bij verschillende dieren zeer uiteenloopende

[1] C. MC. CLURE en M. HUNTSINGER. Journ. o. biol. Chem. 76. 1. 1928.
[2] I. BANG. Bioch. Zeitschr. 91. 104. 1918.

waarden voor de grootte van het gehalte van het bloed aan vet, terwijl de grootte van het cholesterine- en phosphatide-gehalte veel standvastiger bleek te zijn dan door LEITES was opgegeven. (zie staatje 1.)

Staatje 1. Verschillende honden. (4).

	vet	cholesterine	phosphatides
grootste waarde	1089	180	350
kleinste waarde	381	128	313 mG. p. 100 cc. bloed



Figuur 4 (zie blz. 131.)

Ook bij het onderzoek, dat ik deed met eenzelfde dier op verschillende dagen, kwamen ongeveer dezelfde schommelingen van het vetgehalte aan het licht; de schommelingen van het cholesterine- en phosphatide-gehalte zijn iets geringer dan die bij verschillende honden werden gevonden.

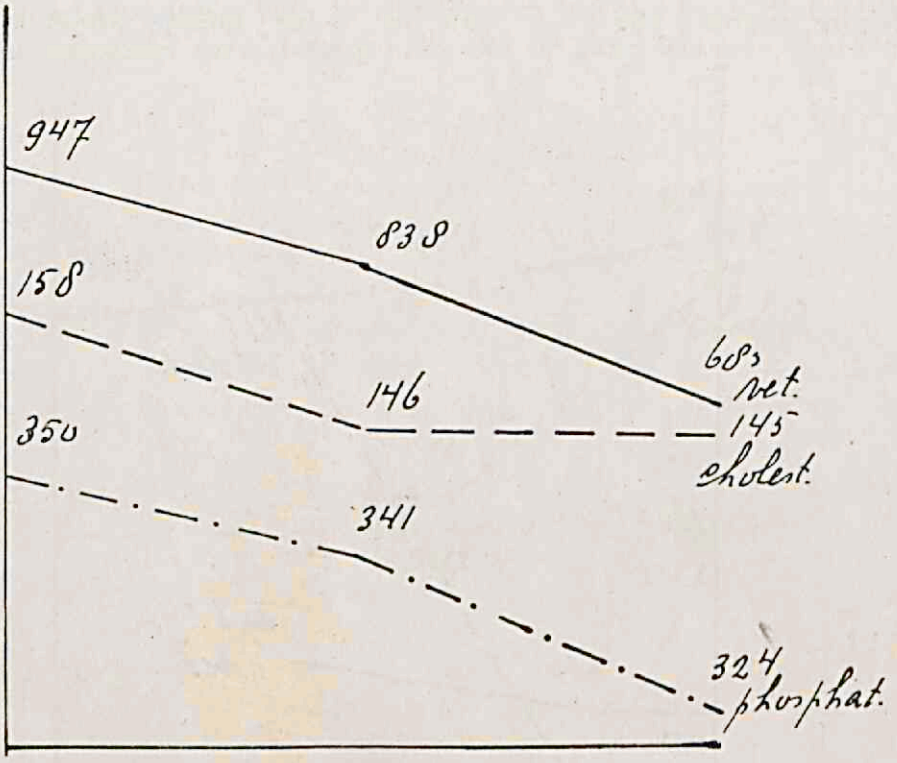
Staatje 2. Eenzelfde hond op verschillende dagen.

	hond 1.			hond 2.		
	vet	cholest.	phosphat.	vet	cholest.	phosphat.
grootste waarde	947	158	350	1089	180	346
kleinste waarde	721	135	327	381	142	313 mG./100 cc.

Verder stelde ik een onderzoek in naar de dagschommelingen, door bij eenzelfde hond op drie verschillende tijden van den dag het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen na te gaan.

Het bleek hierbij, dat zeer verschillende veranderingen zich kunnen voordoen.

Bij hond 3 vond ik onbeteekenende veranderingen in de grootte van het vet- en phosphatide-gehalte, terwijl de cholesterine-lijn een duidelijke stijging te zien geeft. (Figuur 3.) Deze laatste nam ik nog een keer waar bij een anderen hond, waarbij ook de hoeveelheid vet in het bloed weinig veranderde. (Figuur 4.)



Figuur 5 (zie blz. 132.)

Wanneer men echter Figuren 4 en 5 met elkaar vergelijkt, wetende, dat beide afkomstig zijn van proeven op denzelfden hond, met een tusschenruimte van ongeveer 1½ maand, dan treft het ons, hoe zeer verschillend de gehaltes aan vet en cholesterine in beide proeven gedurende den dag wisselen.

Er is dus wel eenige voorzichtigheid geboden bij het maken van gevolgtrekkingen uit dergelijke proeven.

2. DE INVLOED VAN INSULINE OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN BIJ ONTHOUDEN VAN VOEDSEL.

A. *Onder normale omstandigheden.*

De invloed, die insuline heeft op het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, van normale menschen en dieren wordt door de verschillende onderzoekers zeer verschillend opgegeven.

J. COLLAZO en M. HAENDEL [1] onderzochten den invloed van inspuiten van insuline op het gehalte van het bloed aan vet na inspuiten van insuline en vonden bij normale duiven een onbeteekenend verminderen van de hoeveelheid.

Daarentegen vond A. WHITE [2], dat de insuline-hypoglycaemie bij normale honden gepaard gaat met eenig toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed, terwijl H. RAPER en E. SMITH [3] bij hun proefnemingen tot dezelfde slotsom kwamen.

W. RAAB [4] vermeldt in zijn belangrijke verhandeling over den invloed van het centrale zenuwstelsel en de klieren met inwendige afscheiding op het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, uitdrukkelijk, dat insuline geen veranderingen te weeg brengt in de hoeveelheid van deze stoffen in het bloed.

M. MORIMOTO [5] echter vond wel degelijk een kleiner worden van de grootte van het vetgehalte van bloedserum, terwijl dat van de bloedlichaampjes onveranderd bleef.

Daarmede in overeenstemming is een onderzoek, dat bij menschen werd verricht door A. CHRISTOMANOS [6], die eveneens de hoeveelheid vet in het bloedserum zag verminderen na inspuiten van insuline.

N. NISSEN [7], die eveneens onderzoekingen bij menschen deed, kon dezen invloed van insuline niet bevestigen; volgens dezen onderzoeker blijven de waarden voor het gehalte van bloed aan vet en vet-achtige stoffen onder den invloed van dit hormoon onveranderd.

H. TANGL [8], die zooals men weet een groote beteekenis hecht aan de onverzadigde vetzuren in het lichaam, toonde aan, dat bij normale honden onder invloed van insuline, de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in het bloed toeneemt, evenals ook de grootte van het vetgehalte en niet onaanzienlijk.

Een belangrijk onderzoek, zoowel bij normale menschen als bij lijders aan suikerziekte deed H. HARTMANN [9], die daarbij tot de slotsom kwam, dat insuline geen veranderingen van beteekenis te weeg brengt in de hoeveelheid vet en cholesterine in het bloed, terwijl de grootte van het phosphatide-gehalte regelmatig na insuline-toedienen een vermindering ondergaat, die vrij snel weer tot het normale terugkeert.

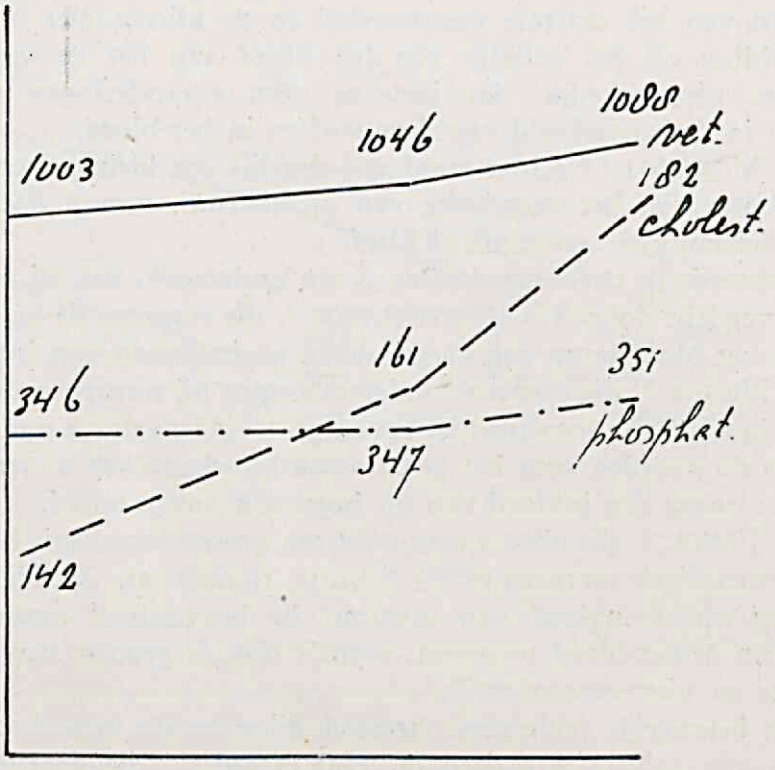
Ongeveer gelijkluidend zijn de uitkomsten van de proeven, die

---

1 J. COLLAZO en M. HAENDEL. Dtsch. med. Wschr. 1923. II. blz. 1546.
2 A. WHITE. Biochem. Journ. 19. 921. 1925.
3 H. RAPER en E. SMITH. Journ. o. Physiol. 60. 41. 1925.
4 W. RAAB. Zeitschr. f. exp. Med. 49. 179. 1926.
5 M. MORIMOTO. Pflüger's Arch. 213. 733. 1928.
6 A. CHRISTOMANOS. Biochem. Zeitschr. 214. 482. 1929.
7 N. NISSEN. Acta Med. Scand. 73. 99. 1930.
8 H. TANGL. Biochem. Zeitschr. 241. 87. 1931.
9 H. HARTMANN. Biochem. Zeitschr. 146. 307. 1924.

IRVINE PAGE, L. PASTERNAK en MARIE BURT [1] deden bij konijnen, waarbij ook de phosphatide-hoeveelheid in het bloed regelmatig afnam na insuline-inspuiten, terwijl de gehaltes aan vet en cholesterine iets toenamen.

Ik zelf deed maar eenmaal een dergelijke proef bij een hond, die 14 uur had gevast en op den proefdag geen voedsel kreeg: 's morgens om 10 uur werd insuline (10 eenheden) ingespoten, waarbij ik tegelijk bloed afnam om te onderzoeken op de hoeveelheid vet en



Figuur 3 (zie blz. 130.)

vet-achtige stoffen. De invloed, die insuline zou hebben, werd nagegaan, door dit onderzoek te herhalen om 2,30 en om 5 uur. (Figuur 6.)

Wanneer men de figuur van deze proef op zichzelf beziet, dan treft ons oogenblikkelijk het samengaan van de „vetlijn" en de „suikerlijn", terwijl anderzijds de gehaltes aan cholesterine en phosphatides eveneens onderling eenzelfde beloop hebben.

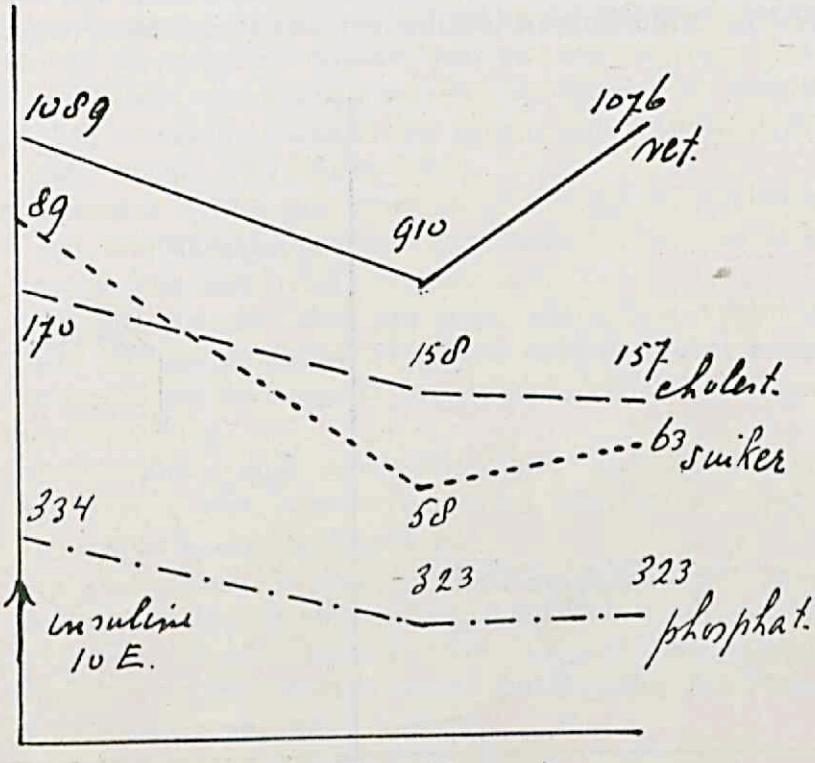
Alles bij elkaar genomen zijn de veranderingen niet van groote beteekenis en vrijwel in overeenstemming met hetgeen men in de litteratuur vindt opgegeven.

Wanneer men echter de lijnen van deze figuur vergelijkt met die, welke ik verkreeg door een proef op denzelfden hond, onder dezelfde

[1] I. PAGE, L. PARTERNAK en M. BURT. Bioch. Zeitschr. 231. 113. 1931

omstandigheden (tusschenruimte van enkele dagen) zonder inspuiten van insuline, dan blijkt er wel degelijk een verschil te bestaan, vooral wat betreft het beloop van het cholesterinegehalte, welk verschil men moet toeschrijven aan den invloed van insuline (vergelijk fig. 3 en fig. 6).

De uitkomst van deze proef, die ik deed om den invloed van insuline na te gaan op de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, is dus wel in overeenstemming met wat men daaromtrent in de litteratuur vindt opgegeven, n.l., dat insuline



Figuur 6 (zie blz. 133.)

de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed niet in sterke mate verandert.

Wanneer men echter te voren het beloop der gehaltes aan deze stoffen nagaat wanneer men geen insuline inspuit, dan blijkt, dat insuline toch wel degelijk eenigen invloed heeft op de grootte van het gehalte vooral aan cholesterine.

B. *Onder abnormale omstandigheden.*

Wanneer het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen grooter is dan normaal, en dit grooter zijn neemt men immers dikwijls waar bij suikerziekte en avitaminose, dan veroorzaakt onderhuidsch inspuiten van insuline soms een sterk afnemen van de hoeveelheid van deze stoffen in het bloed.

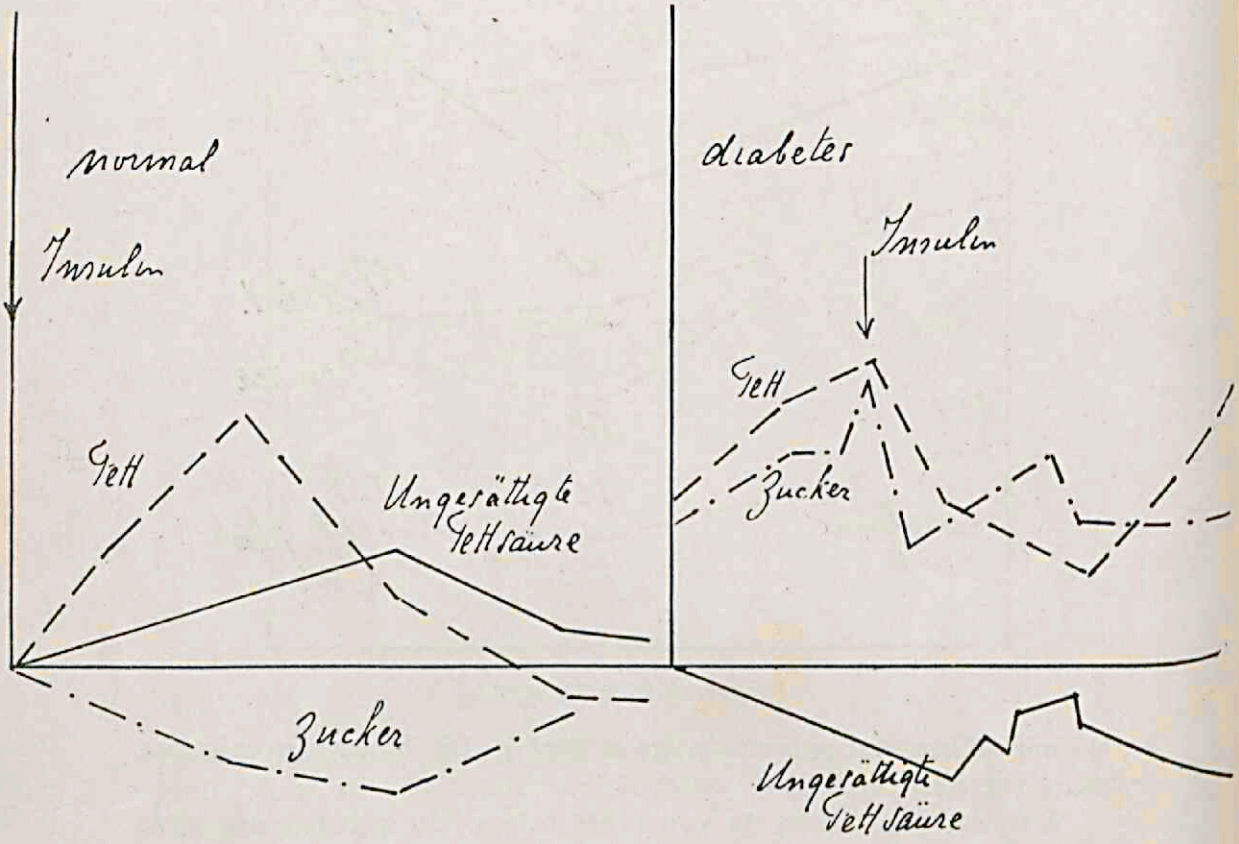
Voor het eerst werd dit aangetoond bij lijders aan suikerziekte, die een flinke hyperlipaemi hadden, door F. BANTING en zijn medewerkers [1].

Deze bevinding is door de meeste onderzoekers bevestigd geworden.

Zoo vond F. FONSECA [2] bij lijders aan suikerziekte, dat door inspuiten van insuline, het gehalte van het bloed aan vet aanzienlijk kleiner werd.

J. COLLAZO en H. HAENDEL [3] namen hetzelfde waar bij duiven die een aanzienlijke hyperlipaemie hadden tengevolge van avitaminose.

MAJOR [4] onderzocht vooral het cholesterine-gehalte van het bloed en vond na inspuiten van insuline een zeer sterk kleiner worden.



Figuur 7.

Overgenomen uit TANGL. Ueber die Wirkung der Insuline auf den Fett-stoffwechsel bei normalen und pancreasdiabetischen Hunden. Bioch. Zeitschr. 241. 87. 1931.

---

[1] F. BANTING *e.a.* Transact. Roy. Soc. Canada Sect. V. 1922. Univers. Toronto.

[2] F. FONSECA. Dtsch. med. Wschr. 1924. I. 362.

[3] J. COLLAZO en M. HAENDEL. Dtsch. med. Wschr. 1923. II. blz. 1546

[4] M. MAJOR. Journ. Amer. Med. Assoc. I. 1597. 1923.

Hetzelfde werd door NITZESCU en zijn medewerkers [1] gevonden, die hun proeven verrichtten op honden, waarbij de alvleeschklier was weggenomen.

H. TANGL [2] ging bij zijn proeven met honden, waarbij de alvleeschklier was weggenomen, ook de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in het bloed na, en vond in tegenstelling met normale dieren, dat onder den invloed van insuline de grootte van het vetgehalte afneemt, terwijl de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in het bloed aanzienlijk toeneemt.

Hij meende hieruit te mogen besluiten, dat de onverzadigde vetzuren een overgang vormen tusschen vet en koolhydraat, omdat een afnemen van het vetgehalte gepaard gaat met een evenredig toenemen van de hoeveelheid onverzadigd vetzuur, terwijl er weer meer suiker in het bloed verschijnt wanneer het gehalte aan onverzadigde vetzuren kleiner wordt. (zie figuur 7.)

Verder meende TANGL te kunnen aantoonen dat bij vetmesten van ganzen met koolhydraten, hieruit onverzadigde vetzuren ontstaan en dat deze op hun beurt weer overgaan in vet.

Deze bevindingen, die zeker van groot belang zijn, vooral gezien in het licht van het moderne onderzoek naar de groote beteekenis die de onverzadigde vetzuren in het lichaam hebben, wachten nog op nadere bevestiging.

H. HARTMANN [3] vond, zooals wij zagen, bij lijders aan suikerziekte dat insuline geen merkbaren invloed heeft op de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed.

Hij zegt woordelijk (blz. 318): „Auffallend ist der praktisch kaum in Betracht kommende Einflusz des Insulins auf das Niveau der Blutlipoide. Dieser Umstand weist hin auf eine weitgehende Unabhängigkeit in der unmittelbaren Verarbeitung der Fette und Kohlehydrate im Organismus."

3. DE INVLOED VAN EEN VETMAALTIJD OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN.

A. *Onder normale omstandigheden.*

Dat het toedienen van een vetmaaltijd bij normale menschen en dieren een vergrooten van de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed ten gevolge heeft, de z.g. alimentaire hyperlipaemie, is

---

[1] NITZESCU, POPESCU, INOTESTI en CADARUI. C. R. Soc. Biol. 90. 538. 1924.
[2] H. TANGL. Bioch. Zeitschr. 241. 87. 1931.
[3] H. HARTMANN. Bioch. Zeitschr. 146. 307. 1924.

een reeds lang bekend feit. (NEISSER en BRÄUNING [1], LEVA [2], I. BANG [3] en H. ARNDT [4]).

Dat door enkele onderzoekers dit vergrooten van de hoeveelheid cholesterine in het bloed niet werd waargenomen na een vetmaaltijd (BLOOR [5]), verklaarde H. ISCOVESCO [6] door het feit, dat dit toenemen zeer laat komt, op een tijd waarop de meeste onderzoekers hun proefneming reeds hadden afgebroken.

Bij planten-eters in het algemeen en meer in het bijzonder bij het konijn kan men door vet-toedienen geen alimentaire hyperlipaemie opwekken (S. SAKAI [7]).

De oorzaak hiervoor is naar het schijnt te vinden in het langzame opslorpen van het vet door de epitheelcellen van het darmslijmvlies, waarbij dus het toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed te niet gedaan wordt door het afstaan aan de weefsels. (VERSE [8]).

S. LEITES [9] heeft den invloed van het voedingsvet op het bloed zeer nauwkeurig onderzocht; hij vond de volgende veranderingen:

a. De hoeveelheid vet vertoont steeds een toenemen van 50 tot 200%, welk toenemen het grootste is 1½ tot 3 uur na den maaltijd, terwijl geen onmiddellijke samenhang kon worden vastgesteld tusschen de grootte van dit toenemen en de hoeveelheid vet, die werd toegediend.

Bij een middelmatig groot dosis olijf-olie (50 cc.) werd na 5 uur weer de normale waarde voor het gehalte van het bloed aan vet bereikt; soms echter werd de hoeveelheid kleiner dan normaal (hypolipaemische phase), waarop dan weer gewoonlijk een toenemen volgde. (na 7 uur.)

Bij herhaald toedienen van vet bleef de invloed op het bloed steeds dezelfde; gewennen aan vet schijnt niet voor te komen, zooals BANG [10] dat bij zijn honden wel waarnam.

Het bevreemdt ons eenigszins, dat LEITES het grootste gehalte van de hoeveelheid vet in het bloed reeds na 1½ tot 3 uur waarnam, terwijl toch bekend is, dat vet alleen in de maag gebracht, daar uren lang onveranderd blijft liggen. Ik kan dit snelle opnemen alleen verklaren door aan te nemen, dat de honden van LEITES naast de hoeveelheid vet hun gewone dag-voedsel kregen, waardoor de maagbewegingen worden aangezet; in de mededeeling van LEITES vindt

---

[1] NEISSER en BRÄUNING. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 4. 1907.
[2] J. LEVA. Berl. klin. Wschr. 14. 21. 1909.
[3] I. BANG. Biochem. Zeitschr. 91. 86. 1918.
[4] H. ARNDT. Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 54. 1927.
[5] W. R. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 23. 317. 1915.
[6] H. ISCOVESCO. Compt. Rend. Soc. Biol. 72. 920. 1912.
[7] S. SAKAI. Biochem. Zeitschr. 62. 387. 1914.
[8] F. VERSE. Verhandl. d. deutsch. pathol. Ges. 1925.
[9] S. LEITES. Biochem. Zeitschr. 184. 273. 1927.
[10] I. BANG. Biochem. Zeitschr. 91. 111. 1918.

men niet nauwkeurig vermeld, of alle voedsel onthouden werd gedurende de proefneming.

b. De hoeveelheid cholesterine in het bloed bleek na een vetmaaltijd steeds te verminderen, ongeveer 1½ tot 3 uur na den maaltijd, dus tegelijk met de grootste vermeerdering van de hoeveelheid vet in het bloed; na ongeveer 7 uur keert het cholesterine-gehalte tot den norm terug.

Alleen bij het toedienen van een groote dosis vet krijgt men deze karakteristieke verandering van de hoeveelheid cholesterine in het bloed niet te zien, maar blijkt het gehalte van deze stof in het bloed gewoonlijk iets grooter te worden.

Sommige onderzoekers meenden, dat de cholesterine hoofdzakelijk uit het lichaam verdwijnt met de gal (BACMEISTER [1], M. BÜRGER en H. BEUMER [2]), daarom ging LEITES bij honden met een galfistel na, of er na een vetmaaltijd veel meer cholesterine met de gal werd afgezonderd. Het bleek hierbij, dat de kleine hoeveelheid cholesterine die op deze wijze meer werd verwijderd, niet toereikend was om het afnemen van het gehalte in het bloed te verklaren.

Bij het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen op verschillende plaatsen van het lichaam, kwamen belangrijker dingen aan het licht.

Het bloed uit de milt-ader bleek steeds het grootste vetgehalte (30 tot 50% grooter dan van het bloed uit de milt-slagader) en het kleinste cholesterinegehalte (15 tot 25% kleiner dan van het bloed uit de milt-slagader) te bezitten, terwijl men bij het vergelijken van deze gehaltes van het bloed uit de lever-ader met dat uit de slagader, een omgekeerde verhouding vond.

In de milt wordt dus, volgens de meening van LEITES, voortdurend cholesterine vastgehouden (omgezet?) en vet vrijgegeven (gevormd?), terwijl in de lever het tegenovergestelde plaats vindt.

J. LIFSCHUTZ veronderstelde reeds, dat er in het lichaam voortdurend cholesterine gevormd wordt door oxydatie van olie-zuur.

Steunend op het onderzoek van R. WALDVOGEL, REICHER en ARTOM (zie blz. 22) neemt ook LEITES aan, dat dit afnemen van de hoeveelheid cholesterine het gevolg is van een omzetten in vet.

C. MC. CLURE en M. HUNTSIGER [3] onderzochten bij volwassen menschen de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed, na toedienen van verschillende voedingsstoffen en gingen daarbij tevens de verandering na in het jodium-getal van het vet in het bloed.

Deze onderzoekers namen een toenemen van het vet-gehalte van het bloed waar, zoowel na het gebruik van vet als van koolhydraat

---

1 BACMEISTER. Biochem. Zeitschr. 26. 223. 1910.
2 M. BÜRGER en H. BEUMER. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmac. 71. 311. 1913
3 C. MC. CLURE en M. HUNTSINGER. Journ. o. biol. Chem. 76. 1. 1929.

en eiwit, waarbij het hoogtepunt na 5 uur bereikt werd; de hoeveelheid cholesterine nam eveneens toe, maar bereikte pas later haar grootste waarde. De karakteristieke verandering van het cholesterinegehalte, zooals LEITES die vermeldde, werd niet waargenomen. Bij het onderzoek van het jodium-getal van het bloedvet, bleek dit steeds aanmerkelijk te verschillen van dat van het voedingsvet (soms grooter en soms kleiner).

Op grond van dit feit en mede op grond van het vermeerderen van de hoeveelheid vet in het bloed na het gebruik van eiwit en koolhydraat, meenen de schrijvers, dat het grooter worden van het vetgehalte zooals men dat kent bij de alimentaire hyperlipaemie, niet veroorzaakt wordt door het opgeslorpte vet uit den darm, maar door het vrij maken van vet uit de voorraden in het lichaam.

M. BODANSKY [1] is eenzelfde meening toegedaan, omdat hij waarnam, dat het jodiumgetal van het vet in het bloed grooter is bij het gebruik van olijf-olie dan bij het opnemen van olie-zuur.

Hoe dit ook zij, het onderzoek naar de hoeveelheid onverzadigde vetzuren in het bloed heeft niet veel beteekenis voor de stelling, dat de alimentaire hyperlipaemie veroorzaakt zou worden door het vrijmaken van vet uit de voorraden, omdat TANGL en BEREND hebben aangetoond, dat gal en alvleeschklier-sap de vetzuren onverzadigd kunnen maken; indachtig de omkeerbaarheid van alle fermentatieve processen, kan ik me ook best voorstellen, dat het tegenovergestelde kan plaats hebben in den darm, zoodat het jodium-getal van het vet in het bloed kleiner kan zijn, dan dat van het vet uit het voedsel.

E. MC. ARTHUR [2] onderzocht het bloed na een vetmaaltijd op de wijze die was aangegeven door S. GAGE en P. FISH [3], waarbij men door het tellen van de „chylomicrons" (= haemoconien) een indruk tracht te verkrijgen van de grootte van het vetgehalte. Bij het voeden van normale menschen met vet, blijkt het aantal vetdruppeltjes in het bloed aanzienlijk grooter te worden, waarbij het grootste aantal bereikt wordt na 3 uur, terwijl het daarna weer geleidelijk afneemt.

Gezien het feit, dat A. NEUMANN en G. KREIDL [4] hebben aangetoond, dat deze haemoconien alleen afkomstig zijn van het vet, dat met de lymphe uit den ductus thoracicus in het bloed wordt uitgestort, bewijst het genoemde onderzoek van E. MC. ARTHUR, dat het grooter worden van het bloedvet-gehalte na een vetmaaltijd, veroorzaakt wordt door het opgeslorpte vet uit den darm en niet door het vrijgeven van vet uit de voorraden.

W. R. BLOOR [5] onderzocht normale honden en vond, na het

---

[1] M. BODANSKY. Proceed. Soc. f. exp. Biol. a. Med. 28. 631. 1930/31.
[2] E. MC. ARTHUR. Journ. o. biol. Chem. 87. 299. 1930.
[3] S. GAGE en P. FISH. Americ. Journ. o. Anat. 34. 1. 1924.
[4] A. NEUMANN en G. KREIDL. Zentralbl. f. Physiol. 21. 1907.
[5] W. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 75. 61. 1927.

toedienen van een matige hoeveelheid olijf-olie (50 cc.), een toenemen van het bloedvet-gehalte, waarbij de grootste waarde werd bereikt 4 tot 6 uur na den maaltijd. Bij het toedienen van veel olie (150 cc.) zag hij eerst het gehalte van het bloed aan vet kleiner worden, terwijl het daarna weer grooter werd. De lijn, die de hoeveelheid cholesterine in het bloed voorstelt, vertoont een enkele maal het karakteristieke beloop zooals LEITES vond, maar dikwijls werden onbelangrijke veranderingen waargenomen, zooals steeds het geval was met het phosphatide-gehalte na een vetmaaltijd.

IRVINE PAGE, L. PASTERNAK en MARIE BURT [1] gaven volwassen menschen 100 gr. olijf-olie en vonden soms een toenemen, soms een afnemen van de hoeveelheid vet in het bloed, terwijl de hoeveelheid phosphatides niet noemenswaardig veranderde; alleen het cholesterine-gehalte werd regelmatig iets kleiner.

Wanneer ik zie, dat bij mijn proeven, waarbij ik honden van 25 K.G. 100 cc. olijf-olie in de maag bracht, het gehalte van het bloed aan vet niet eens zoo buitengewoon veel grooter wordt, dan ligt het voor de hand aan te nemen, dat het uitblijven van een aanzienlijk toenemen van de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed bij genoemde proeven, is te wijten aan een te kleinen vetmaaltijd. Waarschijnlijk om dezelfde reden vond H. HARTMANN [2] bij zijn proeven op volwassenen, die hij 50 gr. boter gaf, evenmin veranderingen van beteekenis in de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen.

Bij de proeven, die ik deed bij honden van middelbare grootte (20 tot 30 K.G.), gaf ik 100 cc. olijf-olie met de maagslang. Te voren zij nog opgemerkt, dat deze dieren, evenals alle, die ik gebruikte, vóór de proefneming 14 uur hadden gevast, terwijl op den dag zelf alle voedsel werd onthouden.

Na dezen vet-maaltijd zag ik steeds dat het gehalte van het bloed aan vet aanzienlijk toenam, waarbij het hoogtepunt bereikt werd na 5 tot 6 uur, terwijl steeds na 9 uur de normale waarde of iets daarbeneden bereikt was. (zie figuur 8 en 9.) Hiervan wijkt af de uitkomst van een proef op hond 3, die een zeer kleine tolerantie voor vet blijkt te bezitten, zoodat het bloedvet-gehalte bijna 3 maal zoo groot wordt, terwijl na 10 uur de normale waarde nog niet geheel is bereikt. (zie figuur 11.)

Zooals men ziet vind ik het grootste gehalte van de hoeveelheid vet in het bloed bij mijn proeven veel later, dan door LEITES werd waargenomen, terwijl deze tijden goed overeen komen met die uit de mededeeling van BLOOR.

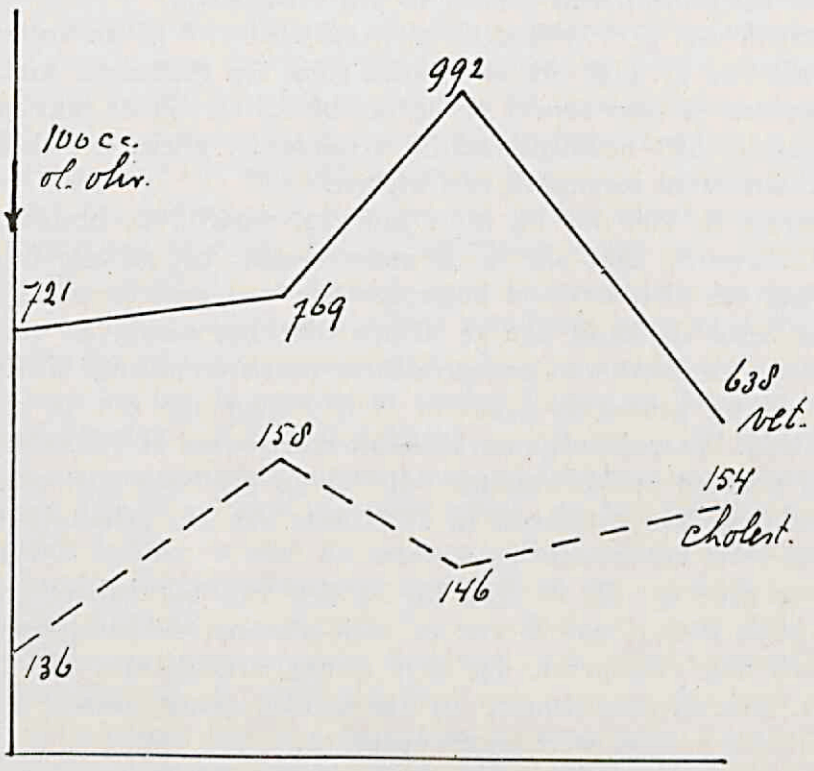
Misschien had ik het opslorpen van het vet kunnen versnellen door gelijktijdig koolhydraat of eiwit te geven, waardoor de maag-

---

[1] I. PAGE, L. PASTERNAK en M. BURT. Biochem. Zeitschr. 223. 445. 1930.
[2] H. HARTMANN. Biochem. Zeitschr. 146. 307. 1924.

bewegingen worden aangezet; maar zooals men weet, geven ook deze stoffen een toenemen van het bloedvet-gehalte (C. Mc. CLURE en M. HUNTSINGER. l. c.)

Daar het mij er om te doen was, dan invloed te leeren kennen, die vet heeft op de grootte van het gehalte van vet en vet-achtige stoffen in het bloed, om daarna te kunnen nagaan of insuline de tolerantie voor vet vergroot, leek het mij wenschelijk, om deze veranderingen, die door het vet worden veroorzaakt, niet onduidelijk



Figuur 8 (zie blz. 134.)

te maken door het gelijktijdige toedienen van andere stoffen, die waarschijnlijk ook een niet te verwaarloozen invloed hebben op het vetgehalte van het bloed.

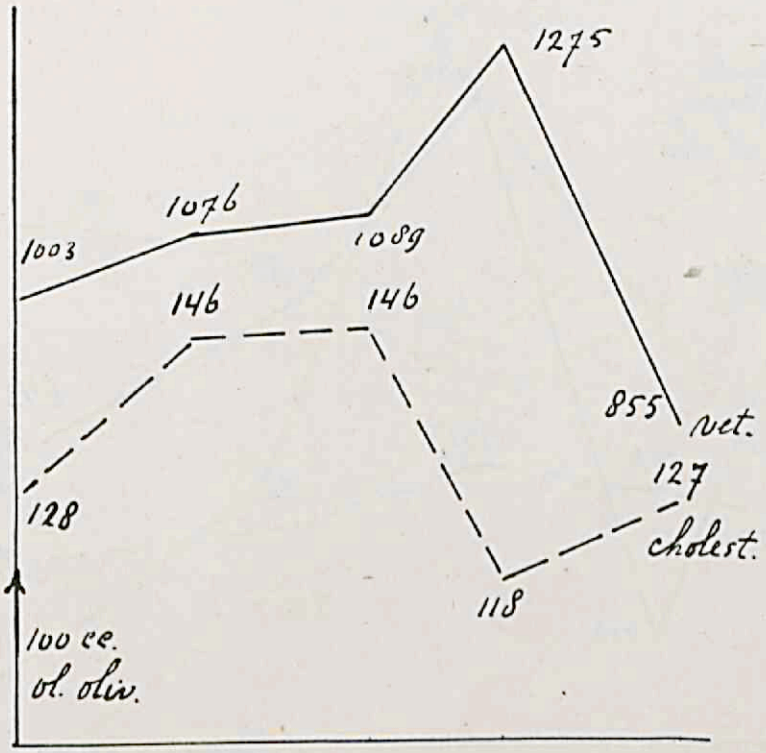
De grootte van het toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed, is niet evenredig met de hoeveelheid vet die wordt toegediend.

Wanneer men figuur 8 en 10 vergelijkt, die beide stammen van proeven op eenzelfden hond verricht, dan ziet men, dat er zich bij het toedienen van veel olijf-olie (170 cc.) de bijzonderheid voordoet, dat de grootte van het vetgehalte van het bloed eerst sterk afneemt, terwijl het toenemen dat daarop volgt, maar weinig grooter is dan hetgeen men ziet bij toedienen van minder olijf-olie. Ditzelfde verschijnsel, het kleiner worden van het vet-gehalte van het bloed onmiddellijk in aansluiting aan een flinken vetmaaltijd, werd ook door BLOOR waargenomen. (W. BLOOR L.c.)

Aan een verklaring voor deze z.g. hypo-lipaemische phase durf ik mij niet te wagen.

Ook de hoeveelheid cholesterine in het bloed vertoont typische veranderingen na het toedienen van een middelmatig groote dosis olijf-olie.

Gewoonlijk neemt in de eerste twee uren de hoeveelheid cholesterine in het bloed een weinig toe, waarop weer een afnemen volgt, en wel zoo, dat de kleinste waarde samenvalt met de grootste voor



Figuur 9 (zie blz. 135.)

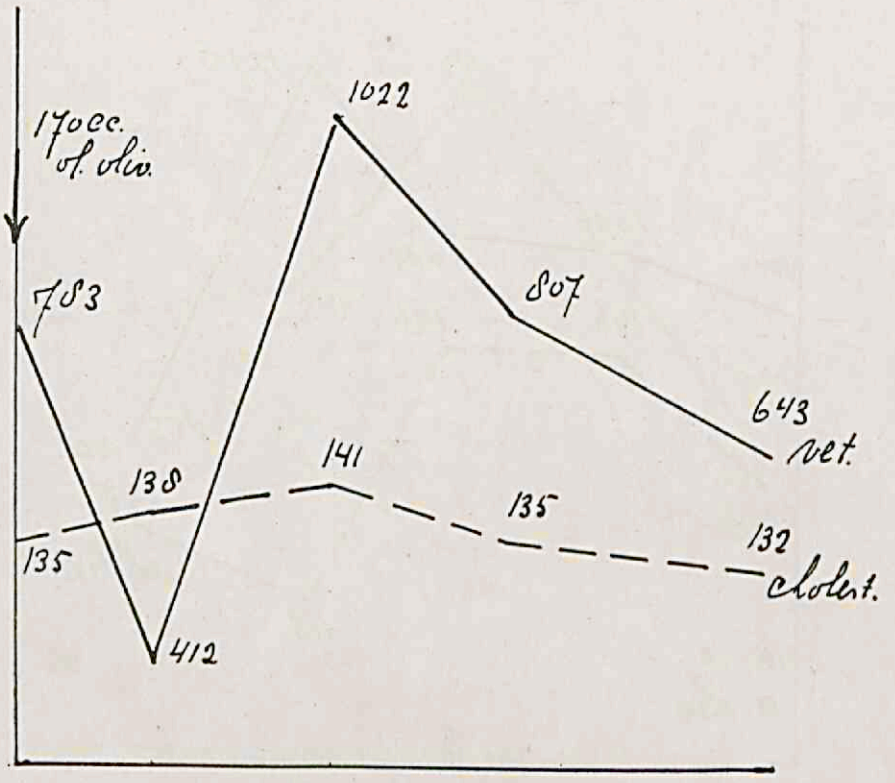
het bloedvet-gehalte. Dit merkwaardig verschijnsel, waarop voor het eerst door LEITES is gewezen, doet zich bij al mijn proeven over de alimentaire hyperlipaemie voor, onder welke omstandigheden (b.v. na het wegnemen van de alvleeschklier; na inspuiten van insuline) het dier ook verkeert.

Natuurlijk doet dit op het aller-eerste gezicht denken aan een wisselwerking tusschen deze beide stoffen, met name aan een overgang van de eene in de andere stof, maar een bewijs hiervoor is het bovenbedoelde verschijnsel allerminst.

Wanneer men een groote dosis olijf-olie toedient, blijkt deze karakteristieke verandering in het cholesterine-gehalte van het bloed verdwenen te zijn en plaats te hebben gemaakt voor een onbeteekenend toenemen van de hoeveelheid van deze stof in het bloed. (zie figuur 10.) Dit feit, dat ook door LEITES is waargenomen,

maakt het geven van een verklaring voor de genoemde wisselwerking nog veel moeilijker en de voorstelling van een eenvoudigen overgang, zooals LEITES die geeft kan mij niet bevredigen, al weet ik er ook geen andere oplossing voor. Zoolang wij van de rol van de cholesterine en de kringloop, die deze stof in het lichaam maakt, zoo weinig weten, zal men moeten gissen naar een oplossing voor dit zeker zeer belangrijk verschijnsel.

Over de veranderingen in het phosphatide-gehalte na een vet-



Figuur 10 (zie blz. 136.)

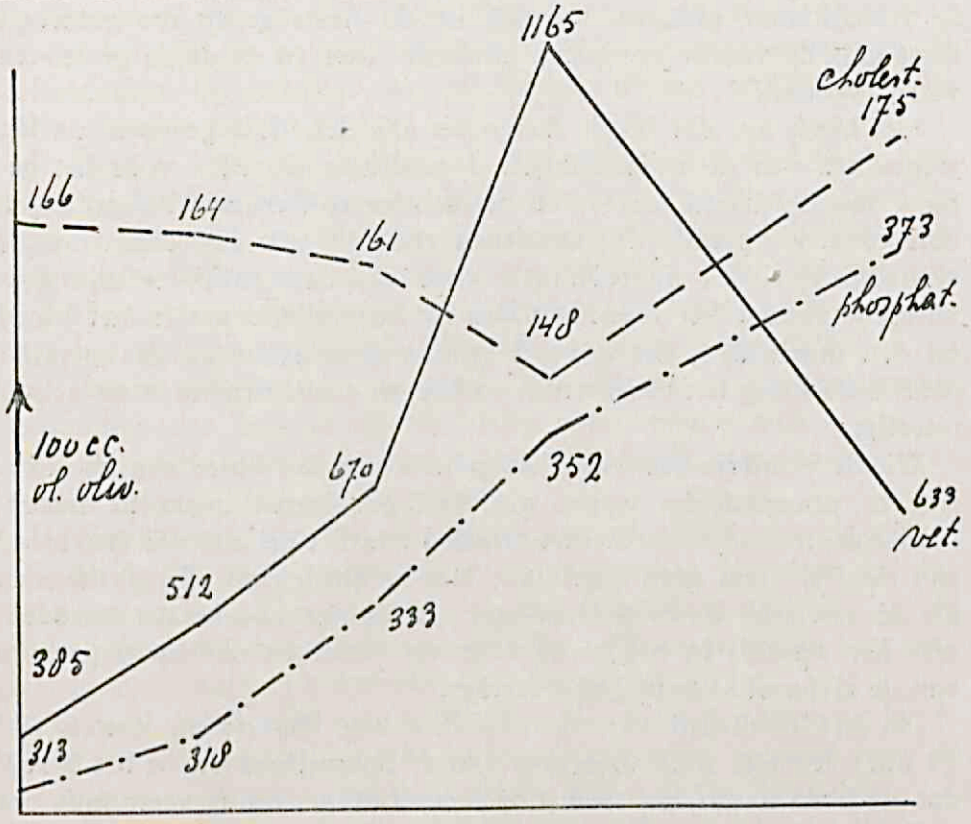
maaltijd ben ik slecht ingelicht, omdat ik bij het uitvoeren van deze proeven een werkwijze volgde voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan deze stoffen, die later bleek niet deugdelijk te zijn, zoodat ik de verkregen getallen moest verliezen.

In de eenige proef, waarbij ik het gehalte aan phosphatides naging met een goede werkwijze, nam ik een niet onaanzienlijk toenemen van de hoeveelheid er van in het bloed waar gedurende het geheele beloop van de proef. (zie figuur 11.) Gezien de nauwkeurigheid van deze laatste werkwijze en het gestadig stijgen van de lijn die de grootte van het phosphatide-gehalte van het bloed op de verschillende tijden aangeeft, kan ik dit zeker niet aan een toevalligheid toeschrijven; ik word daarin gesteund door de waarnemingen die ik deed bij andere proeven waarbij insuline werd ingespoten, of die verricht werden op honden zonder alvleeschklier. Ik meen dan ook,

dat de hoeveelheid phosphatides in het bloed wel degelijk verandert wordt door het toedienen van een vetmaaltijd.

B. *Onder abnormale omstandigheden (bij lijders aan suikerziekte).*

Hoewel de literatuur over de vet-stofwisseling bij suikerziekte verbazend groot is, vindt men toch maar een enkele opgave van proeven, waarbij werd nagegaan of de tolerantie voor vet bij suikerziekte is veranderd. Wanneer men bedenkt, dat er bij de meeste



Figuur 11 (zie blz. 137.)

gevallen van suikerziekte een grooter gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen (hyperlipaemie) wordt gevonden, dan is men geneigd om aan te nemen, dat deze verandering het gevolg is van een verminderde tolerantie voor vet.

Het is echter met zekerheid vastgesteld, dat deze hyperlipaemie niet in een onmiddellijk verband staat met het voedings-vet en zeker niet daardoor alleen tot stand wordt gebracht; want dit grooter gehalte van het bloed aan vet treft men aan zoowel bij menschen die een vet-arm dieet gebruiken, als bij personen die groote hoeveelheden vet opnemen (dieet volgens PETREN.)

Verder is herhaalde malen waargenomen, bij personen die een sterke hyperlipaemie hadden, dat bij het gebruik van een vetrijk dieet

de hoeveelheid vet en vet-achtige stoffen in het bloed niet onaanzienlijk afnam. (MARSCH en WALLER [1], N. BLATHERWICK [2].)

Daarom zijn de meeste onderzoekers de meening toegedaan, dat deze groote hoeveelheid vet in het bloed afkomstig is van de lichaamsvoorraden. Maar zooals ik reeds zeide, proeven om de tolerantie voor vet bij suikerziekte na te gaan, vindt men maar enkele vermeld.

W. BLOOR [3] ging met zijn medewerkers E. GILETTE en M. JAMES den invloed na, die het wegnemen van de alvleeschklier heeft op de tolerantie voor vet bij honden. Hij verdeelde zijn proefdieren daarbij in verschillende groepen, waarbij hij de eerste groep een gemengd dieet gaf, de tweede groep een eiwitrijk dieet en de derde groep een vetrijk voedsel.

Het bleek nu, dat bij de dieren uit alle drie deze groepen, na het wegnemen van de alvleeschklier, de nuchtere waarden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen veel hooger lagen dan vóór de operatie. Bij toedienen van olijf-olie aan dieren uit de eerste groep bleek de tolerantie voor vet aanzienlijk te zijn verminderd zoodat het toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed na den maaltijd, 3 tot 4 maal grooter was dan vóór de operatie: soms zelfs kreeg het bloedserum na het vet-toedienen een melk-achtig uiterlijk.

Uit de veranderingen van het gehalte van het bloed aan cholesterine en phosphatides waren niet veel gevolgtrekkingen te maken, omdat er in grooter en kleiner worden van het gehalte van het bloed aan deze stoffen, geen regelmaat was te ontdekken. Bij de honden die op eiwitrijk dieet, waarin zeer weinig vet voorkwam, stonden, was het verschil in tolerantie voor vet, voor en na het wegnemen van de alvleeschklier nog veel sterker.

Na het toedienen van de olijf-olie zag BLOOR na korten tijd (2 uur) een zeer sterk toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed, dat reeds na 4 uur het sterkst was en weinig neiging vertoonde om naar de normale waarde terug te keeren.

Na 8 uur was nooit de waarde voor het gehalte van het bloed aan vet waarvan werd uitgegaan, bereikt.

De hoeveelheid cholesterine in het bloed nam soms belangrijk toe, maar in veel gevallen niet duidelijk; een standvastig verschil in toenemen van het gehalte van deze stof in het bloed vergeleken bij normale dieren, kon niet worden vastgesteld; de grootte van het phosphatide-gehalte van het bloed werd zoowel voor als na het wegnemen van de alvleeschklier weinig veranderd door het gebruik van een vetmaaltijd.

---

[1] MARSH en WALLER. Arch. f. intern. Med. 31. 63. 1923.
[2] N. BLATHERWICK. Journ. o. biol. Chem. 49. 193. 1921.
[3] W. BLOOR. Journ. o. biol. Chem. 75. 61. 1927.

Ten slotte gaven de honden, die een voeding welke voor 80% uit vet bestond genoten, een geheel ander beeld te zien.

Terwijl het bij deze dieren vóór de operatie haast niet gelukte, om iets wat gelijkt op een alimentaire hyperlipaemie in het bloed op te wekken door het toedienen van olijf-olie, zag BLOOR nà de operatie vaak een sterk afnemen van de hoeveelheid vet in het bloed, in aansluiting aan een vetmaaltijd; soms nam de hoeveelheid vet in het bloed zeer sterk toe.

De veranderingen in het cholesterine- en phosphatide-gehalte hierbij waren niet typisch. Alles bij elkaar genomen is het niet te betwijfelen, dat in de proeven van BLOOR het wegnemen van de alvleeschklier bij honden, een aanzienlijk kleiner worden van de tolerantie voor vet ten gevolge heeft.

I. BANG [1] vond bij lijders aan suikerziekte uit de kliniek van PETREN, dat de alimentaire hyperlipaemie steeds grooter was dan bij normale personen, m.a.w., dat de tolerantie voor vet bij lijders aan suikerziekte kleiner is. Hij meende, dat het zieke organisme het vermogen, om vet aan het bloed te onttrekken, niet meer of in mindere mate bezat. De onmiddellijke oorzaak hiervoor zocht BANG in de lever, omdat volgens zijn meening door dit orgaan onder normale omstandigheden, het vet uit het bloed wordt opgenomen.

De hoeveelheid cholesterine in het bloed schommelde bij deze proeven tusschen de normale grenzen.

H. HARTMANN [2] kon bij zijn lijders aan suikerziekte niet de minste verandering in de tolerantie voor vet, vergeleken bij normale personen, vaststellen. Zijn opgaven over den invloed van insuline op de hyperlipaemie bij suikerziekte, verschillen ook aanmerkelijk van hetgeen door de meeste onderzoekers is waargenomen.

Een zeer belangrijk onderzoek deed G. BLIX [3], eveneens in de kliniek van PETREN, die onder meer een onderzoek instelde naar de verandering in de tolerantie voor vet bij lijders aan suikerziekte.

Hij onderzocht 11 lichte gevallen van suikerziekte, die op den proefdag een normale of licht verhoogde waarde voor het gehalte van het bloed aan suiker hadden. In drie van deze gevallen, die een groote nuchtere waarde hadden voor het gehalte van het bloed aan vet, was het toenemen van het vetgehalte na een vetmaaltijd niet grooter dan bij normale menschen; alleen in een enkel geval was er nog geen neiging tot dalen van de kromme, die de grootte van het gehalte van het bloed aan vet aangeeft, te bespeuren na 6 uur, terwijl bij de overige personen, die allen normale nuchtere waarden hadden voor het gehalte van het bloed aan vet, geen duidelijke afname van

---

1 I. BANG. Biochem. Zeitschr. 94. 359. 1919.
2 H. HARTMANN. Bochem. Zeitschr. 146. 307. 1924.
3 G. BLIX. Studies in diabetic Lipemia. Lund. 1925.

de tolerantie was waar te nemen. Slechts in een geval kon met zekerheid een verminderde tolerantie voor vet worden vastgesteld.

Bij 11 zware gevallen van suikerziekte, werd na een proefmaaltijd van boter, een toenemen van het gehalte van het bloed aan vet waargenomen, die BLIX nog als normaal meende te kunnen bestempelen, ook al lagen deze wat aan den grooten kant.

Samenvattend kan men dus zeggen, dat BLIX geen verandering in de tolerantie voor vet bij lijders aan suikerziekte kon vaststellen.

Mijns inziens zijn de proeven van G. BLIX niet overtuigend. In de eerste plaats niet, omdat hij niet vermeld of zijn proefpersonen niet onder den invloed van insuline stonden; BLIX deelt n.l. mede, dat de patiënten, op het oogenblik dat de vetmaaltijd werd toegediend, een normale of bijna normale waarde hadden voor het gehalte van het bloed aan suiker. Hoe echter deze normale waarde is bereikt, of insuline was ingespoten, of dat dit afnemen van het gehalte van het bloed aan suiker veroorzaakt was door dieet-behandeling alleen, vermeldt hij niet.

Vooral bij het beoordeelen van de proefneming met 11 zwarte gevallen van suikerziekte, is men geneigd om aan te nemen, dat hier insuline is ingespoten, om een normale waarde voor het gehalte van het bloed aan suiker te bereiken.

Wanneer wel insuline is ingespoten, dan mag men uit de proeven van BLIX toch niet de gevolgtrekking maken, dat bij lijders aan suikerziekte de tolerantie voor vet niet is verlaagd, in dat geval bewijzen deze proeven misschien, dat men door insuline de kleine tolerantie voor vet bij suikerziekte weer kan herstellen.

In de tweede plaats kan BLIX uit zijn proeven, mijns inziens, niet besluiten dat de tolerantie voor vet bij lijders aan suikerziekte niet was afgenomen, omdat hij de grootte ervan, die deze personen bezaten vóór hun ziekte, niet kende.

Alleen bij het onderzoek van een groot aantal normale menschen en lijders aan suikerziekte kan men, door vergelijking van de gemiddelde waarden voor beide groepen, eenig besluit maken aangaande een verandering in de tolerantie voor vet.

Wanneer men proefondervindelijk wil nagaan, of de tolerantie voor vet in waarneembare mate is verminderd bij lijders aan suikerziekte, kan men hiervoor twee wegen inslaan.

In de eerste plaats kan men bij een groot aantal lijders aan suikerziekte de tolerantie voor vet vaststellen en deze uitkomsten vergelijken met die, welke verkregen werden door dezelfde proeven op en groot aantal normale menschen. Want zooals men weet, is voor verschillende personen de tolerantie voor vet zeer verschillend [1]; dus enkele waarnemingen hebben niet veel waarde, tenzij men in de gelegenheid

---

[1] H. RONY en A. LEVY. Journ. o. lab. a. clin. Med. 15. 221. 1929.

verkeert om personen vóór en tijdens hun ziekte te onderzoeken, iets wat zich practisch nooit voordoet.

Daarom is door de meeste onderzoekers een andere weg gevolgd.

Bij proefnemingen op dieren (honden) kan men zich wel dergelijke gunstige voorwaarden verschaffen, omdat men ze op een bepaald tijdstip, na ze van te voren onderzocht te hebben op hun tolerantie voor vet, de alvleeschklier kan wegnemen. Men moet hierbij echter wel bedenken, dat deze „proefondervindelijke pancreasdiabetes" geenszins op een lijn kan worden gesteld met de „suikerziekte", die we bij menschen kennen en men mag uitkomsten van proeven op dergelijke dieren verricht, zoo maar niet overbrengen op de menschelijke ziekteleer. Maar er is nog iets anders, wat deze proeven zoo bij uitstek ongeschikt maakt voor het bestudeeren van de vet-stofwisseling. Men berooft deze dieren van het voornaamste orgaan voor de vet-splitsing in den darm, iets wat men zonder eenige moeite kan waarnemen, aan de vetrijke ontlasting en de sterke vermagering, die men bij deze honden vindt na het wegnemen van de alvleeschklier.

Ook is het te verwachten, dat het plotseling wegnemen van dit, ook voor de stofwisseling van koolhydraten en eiwitstoffen belangrijke orgaan, de stofwisseling grondig in de war brengt.

Dit is dan ook de reden die O. FÜRTH doet zeggen in zijn bekende leerboek: „Vorderhand sehe ich keinen zwingenden Grund, dem inneren Sekret des Pankreas neben seiner der Zuckerstoffwechsel beherrschenden Aufgabe noch eine weitere analoge Kardinalfunktion im Bezug auf den Fettstoffwechsel zuzuschreiben, da die Störungen des letzteren nach der Totalextirpation einerseits durch den Ausfall des Auszeren Sekretes, anderseits aber durch den Umsturz im Organismus den die schwere Pankreasdiabetes mit sich bringt, wie ich glaube, ausreichend erklärt werden."

Belangrijk is de mededeeling van J. MACLEOD [1], die aantoonde, dat honden zonder alvleeschklier door het inspuiten van insuline maar enkele maanden in het leven konden worden gehouden; daarna stierven zij onder symptomen van lever-insufficientie (geelzucht — gebrek aan eetlust gepaard met braken, lage temperatuur en snelle vermagering). Bij het onderzoek na den dood werd een vettige infiltratie van de lever gevonden en dikwijls ook ontaarding in het spierweefsel en in de nieren.

MACLEOD besluit hieruit, dat de alvleeschklier nog een andere rol speelt buiten het vormen van het alvleeschkliersap en insuline. Als oorzaak voor het ontstaan van deze vetlever geeft hij aan:

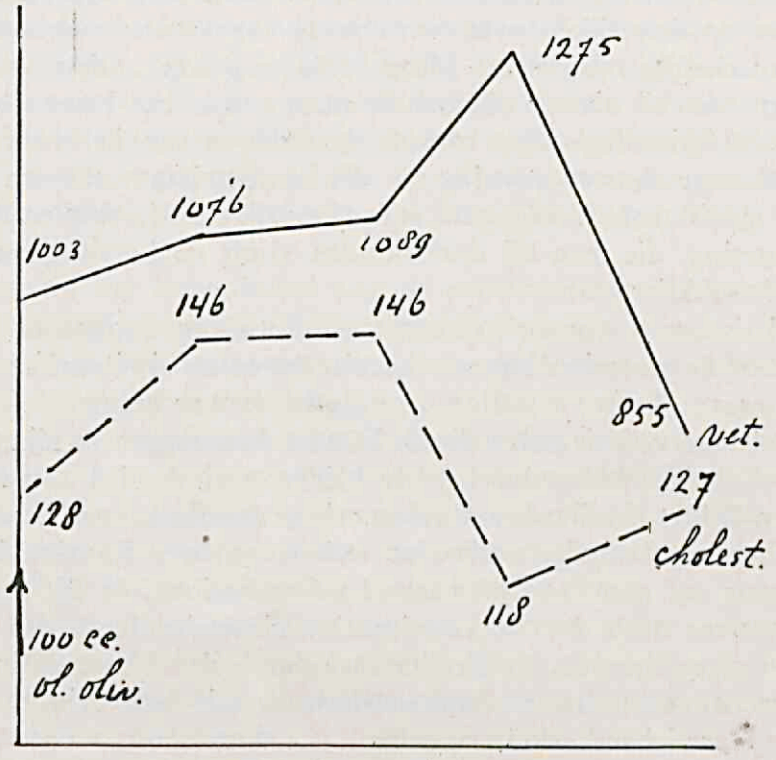
1. dat door onvolledige verteering in den darm vergiftige stoffen ontstaan, b.v. aminen, die naar de lever worden gevoerd;

[1] J. MACLEOD. Journ. v. Lab. a. Clin. Med. X. 508. 1925.

2. dat er naast insuline nog een ander hormoon door de alvleeschklier wordt afgestaan aan het bloed, dat noodig is voor de normale stofwisseling.

Wanneer MACLEOD zijn honden rauwe alvleeschklier bij het voedsel gaf, kon hij ze jaren lang in goeden welstand behouden.

Men moet dus wel zeer voorzichtig zijn met het maken van besluiten uit stofwisselingsproeven op honden die hun alvleeschklier missen.



Figuur 9 (zie blz. 135.)

Wanneer men echter van te voren de tolerantie voor vet heeft vastgesteld en men vindt na het wegnemen van deze belangrijke klier, dat eenzelfde maaltijd een veel sterker toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed te weeg brengt, niettegenstaande men zeker weet dat er minder vet in den darm wordt gesplitst en opgenomen, m.a.w. dat dit toenemen nog veel sterker zou zijn wanneer de uitwendige afscheiding van de alvleeschklier behouden was gebleven, dan mag men hier bijna met zekerheid uit besluiten, dat de tolerantie voor vet is verminderd.

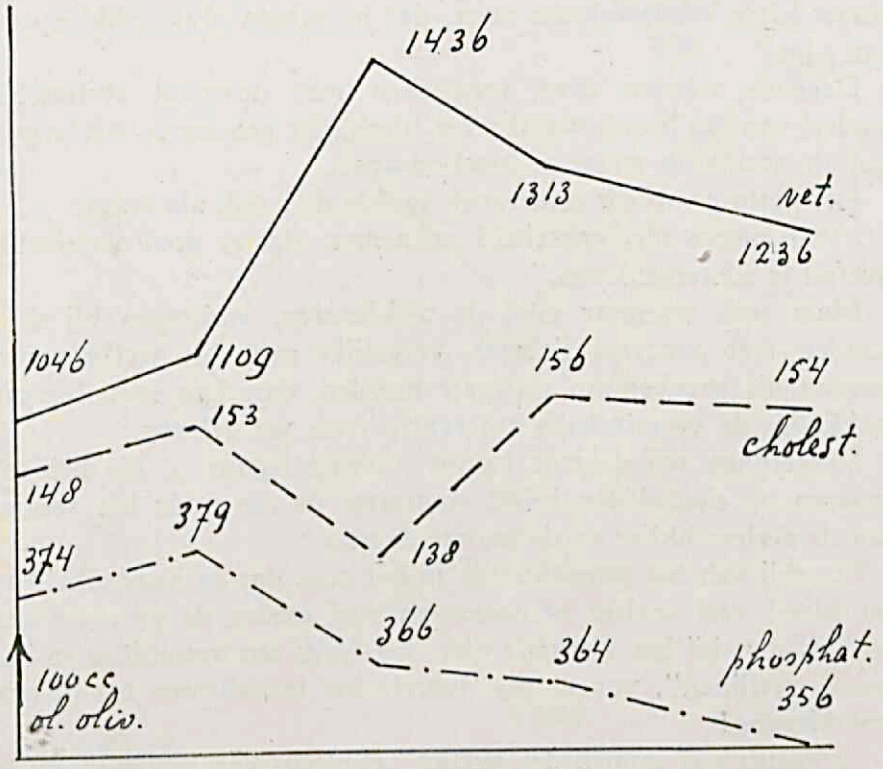
Ik zeg, bijna met zekerheid, omdat men zich zou kunnen voorstellen, dat er een verandering in de tolerantie voor vet zou kunnen optreden als gevolg van de groote verandering, die het wegnemen van de alvleeschklier in het organisme te weeg brengt.

Daarom deed ik, in aansluiting aan een van deze proeven on-

middellijk een volgende, waarbij ik, terwijl het dier onder dezelfde omstandigheden verkeerde, zooveel insuline inspoot, dat het tekort aan inwendige afscheiding van de alvleeschklier te niet werd gedaan: of dit laatste werkelijk het geval was, werd nagegaan aan het gehalte van het bloed aan suiker.

Bij deze proef bleef natuurlijk de verwarring in het organisme, waarvoor FÜRTH zoo waarschuwt, bestaan.

Daar het hierbij nu bleek, dat de tolerantie voor vet weer sterk was toegenomen, zou hieruit misschien, bij een grooter aantal van



Figuur 12 (zie blz. 138.)

deze proeven, die ik uit een economisch oogpunt achterwege moest laten, het besluit te maken zijn, dat de inwendige afscheiding van de alvleeschklier een analoge beteekenis heeft voor de vetstofwisseling als zij heeft voor die van de suiker.

Daarbij moet ik nog een opmerking maken.

Het is noodig, dat men daarbij de honden geruimen tijd de gelegenheid geeft om zich te herstellen van de operatie en dat men beide proeven met een niet te lange tusschenruimte uitvoert, omdat anders het herstel van de tolerantie voor vet misschien te wijten is aan een aanpassen van deze dieren aan den abnormalen toestand.

Bij dien hond zonder alvleeschklier, waarbij ik het voordeel had hem gekend te hebben in zijn normalen toestand, had ik het nadeel, dat ik geen proef met inspuiten van insuline kon doen, omdat het dier intusschen was opgeofferd bij een transfusieproef.

Dit nadeel bracht mij echter tevens een groot voordeel. Na den dood werden de buikorganen van dezen hond onderzocht door prof. R. DE JOSSELIN DE JONG.

Het verslag van dit onderzoek, dat ik mocht inzien [1], vermeldt het volgende:

De organen van den hond worden zorgvuldig nagekeken op de aanwezigheid van alvleeschklier-weefsel.

Uit het preparaat werden 12 plekjes gesneden waar mogelijkerwijs iets van de alvleeschklier kon zijn achtergebleven en deze werden microscopisch onderzocht. In enkele van die preparaten kwam een uiterst klein weefselvlokje voor, dat misschien alvleeschklier-weefsel kon zijn.

Daarom werden deze vergeleken met normaal alvleeschklier-weefsel van een hond, waarbij het bleek, dat genoemde weefselvlokjes niet als zoodanig waren te beschouwen.

Het besluit van dit onderzoek luidde dan ook als volgt:

„Wij mogen met zekerheid aannemen, dat er geen alvleeschklier-weefsel is achtergebleven."

Maar ook wanneer men de uitkomsten, verkregen bij de twee honden met pancreas-diabetes, vergelijkt met die, welke verkregen werden uit proeven op normale honden, dan kan men hieruit gemakkelijk de verminderde tolerantie voor vet aflezen.

Vergelijken wij daartoe figuur 12 met figuur 9, die beiden van proeven op denzelfden hond stammen, de een vóór het wegnemen van de alvleeschklier en de andere daarna.

Daarbij valt het onmiddellijk in het oog, dat de hoeveelheid vet in het bloed veel sneller toeneemt en veel eerder de grootste waarde bereikt, dan bij het normale dier. En welk een verschil is er in deze beide „vetlijnen", vooral wat betreft het terugkeeren tot de waarde van uitgang!

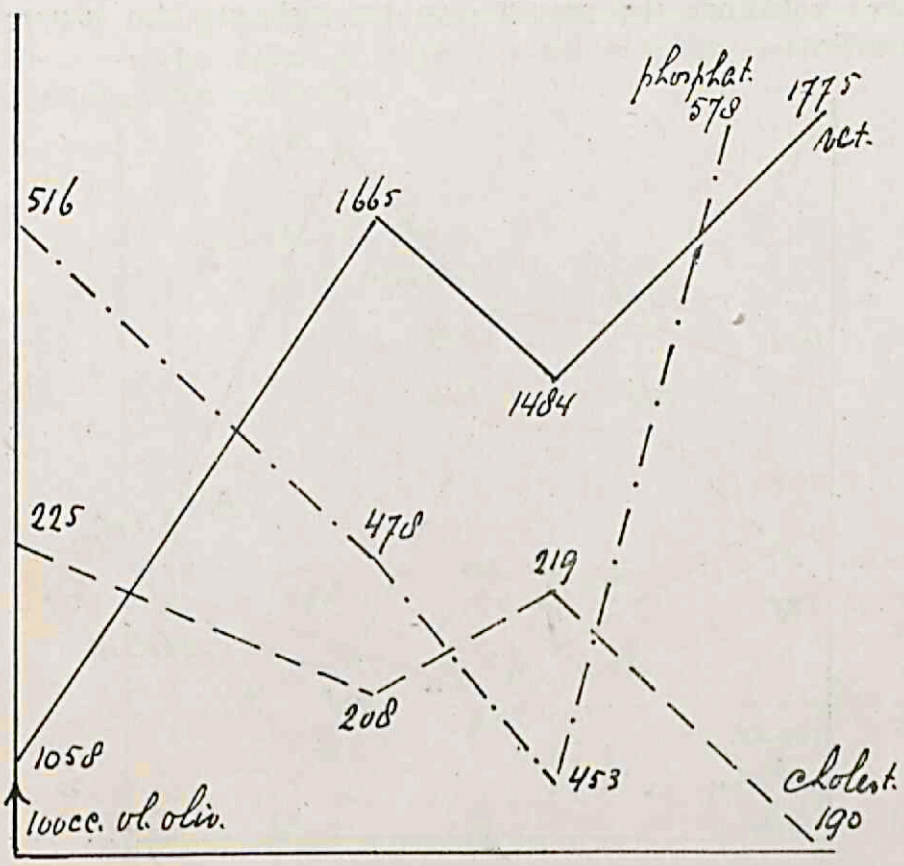
In figuur 13, waarin de „vetlijn" eveneens zijn hoogste punt reeds na 4 uur bereikt, terwijl dit bij de normale dieren steeds pas het geval was na 5 tot 6 uur, ziet men na een weinig dalen, nog eens een sterk stijgen van de lijn, die de verandering in het gehalte van het bloed aan vet aangeeft. Doet deze lijn, die de grootte van het gehalte van het bloed aan vet aangeeft, in figuur 12 niet onmiddellijk denken aan de suikerkrommen, die men krijgt, bij het nagaan van de tolerantie voor suiker bij lijders aan suikerziekte? (vgl. Prof. Dr. A. A. Hymans van den Bergh. Voordrachten over suikerziekte. blz. 57.)

De totale waarde waarmede het vetgehalte is toegenomen, is niet veel grooter vergeleken bij wat normale dieren te zien geven, vooral niet bij hond 1 (figuur 12); zelfs het vrij sterk toenemen van het

[1] Ik betuig hier mijn oprechten dank aan prof. R. DE JOSSELIN DE JONG, dat ik de uitkomsten van dit onderzoek voor mijn werk mocht gebruiken.

bloedvetgehalte bij hond 4 (figuur 13), ligt nog binnen de grenzen van de veranderingen die ik bij normale dieren waarnam.

Maar het geheele beloop van deze lijn, die de verandering in het vetgehalte weergeeft, de snelle stijging tot de hoogste waarde, niettegenstaande de verminderde vet-opslorping in den darm en de langzame resp. uitblijvende daling tot waarde van uitgang, zijn toch, ik mag wel zeggen, typisch voor een verminderen van de tolerantie voor vet.



Figuur 13 (zie blz. 139.)

In de verandering van het cholesterine-gehalte is geen opmerkelijk verschil waar te nemen vergeleken met hetgeen ik zag bij normale dieren; alleen wil ik er nog eens op wijzen, dat ook hier steeds het grootste gehalte van het bloed aan vet weer samenvalt met de kleinste waarde voor het cholesterine-gehalte. Dit komt vooral zeer sterk tot uitdrukking in figuur 13, waar tot tweemaal toe het toenemen van het bloedvet-gehalte begeleid wordt door een afnemen van de cholesterine-hoeveelheid en omgekeerd.

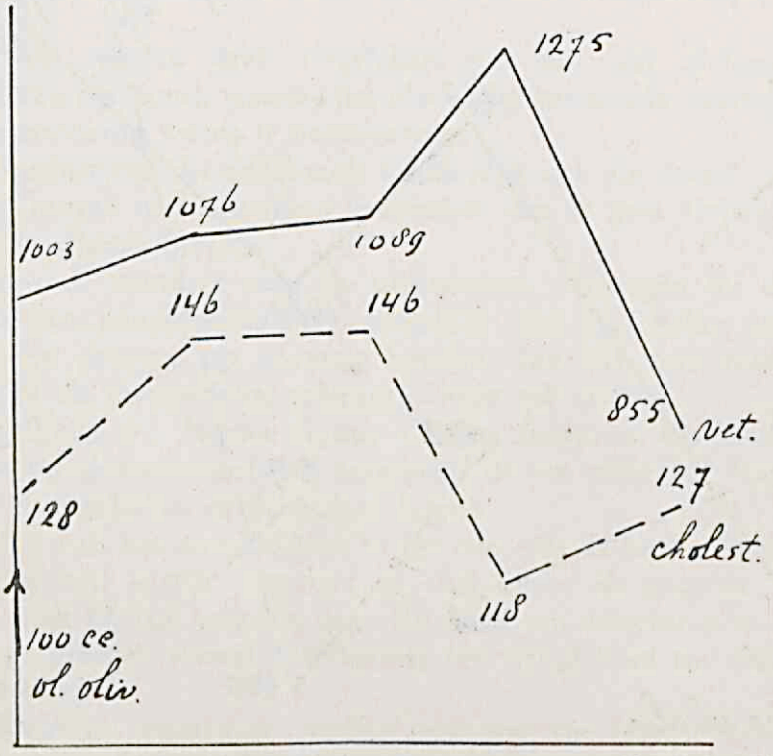
De lijn die de verandering in het gehalte van het bloed aan phosphatides voorstelt op de verschillende tijden, vertoont in figuur 12 niet veel bijzonders, in tegenstelling met die uit figuur 13.

Hoe ik dit sterk afnemen met opvolgend zeer sterk toenemen van

het gehalte van het bloed aan phosphatides, zooals ik nergens heb waargenomen, moet verklaren, weet ik niet.

Ik vermeld hierbij uitdrukkelijk, dat dit merkwaardig beloop niet aan analyse-fouten is toe te schrijven, omdat ik steeds parallel bepalingen deed en de gevonden waarden steeds goed overeen kwamen.

Samenvattend kan ik dus zonder eenige bedenking zeggen, dat er bij honden, waarbij de alvleeschklier was weggenomen, een sterk afnemen van de tolerantie voor vet was waar te nemen, nadat de dieren voldoende tijd gegeven was om zich van den ingreep te herstellen.



Figuur 9 (zie blz. 135.)

4. OVER DEN INVLOED VAN EEN VET-MAALTIJD OP HET GEHALTE VAN HET BLOED AAN VET EN VET-ACHTIGE STOFFEN BIJ INSPUITEN VAN INSULINE.

A. *Bij normale dieren.*

In dit hoofdstuk zullen proeven besproken worden, die ik deed, met het doel om na te gaan of door insuline de tolerantie voor vet bij normale dieren wordt verhoogd.

Daartoe ging ik als volgt te werk:

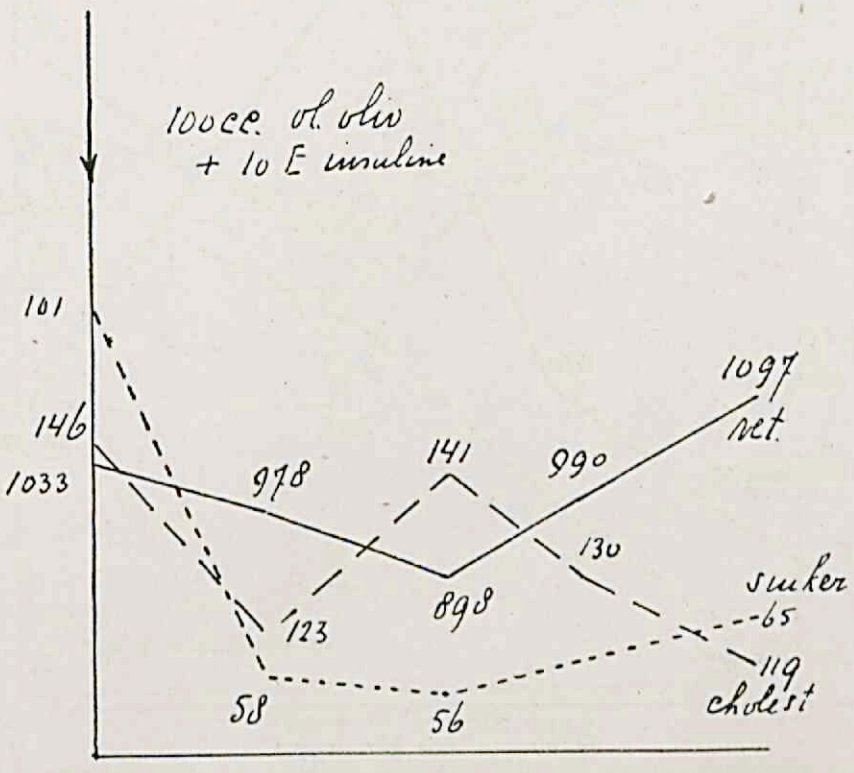
Bij middelmatig groote honden, die op een standvastig dieet stonden, werd door middel van de maagslang 100 cc. olijf-olie in de maag gebracht, nadat de dieren 14 uur gevast hadden.

Op den dag van de proefneming werd hun alle voedsel onthouden; alleen water werd te drinken gegeven zooveel zij wilden.

Op vaste tijden werd de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen nagegaan.

Onmiddellijk in aansluiting aan deze proef (met enkele dagen tusschenruimte) werd hetzelfde nogmaals verricht maar nu met inspuiten van zooveel insuline, dat de hoeveelheid suiker in het bloed tot ongeveer de helft verminderde.

Het is noodig, dat men deze proeven met een niet te lange tusschenruimte verricht, opdat de dieren zooveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden verkeeren.



Figuur 14 (zie blz. 140.)

Bij hond 1 (figuur 11) is deze tusschenruimte door toevallige omstandigheden wat langer geworden dan ik wenschte (ongeveer een maand), maar ik vermeld er uitdrukkelijk bij, dat het dier gedurende al dien tijd steeds dezelfde voeding behield en niet voor andere proeven is gebruikt.

In verband met de mededeeling van G. STEWART, R. GADDIE en D. DUNLOP [1] en die van G. PATTERSON [2], dat de hoeveelheid vet in het bloed toeneemt, wanneer er spierarbeid wordt verricht, zij nog

---

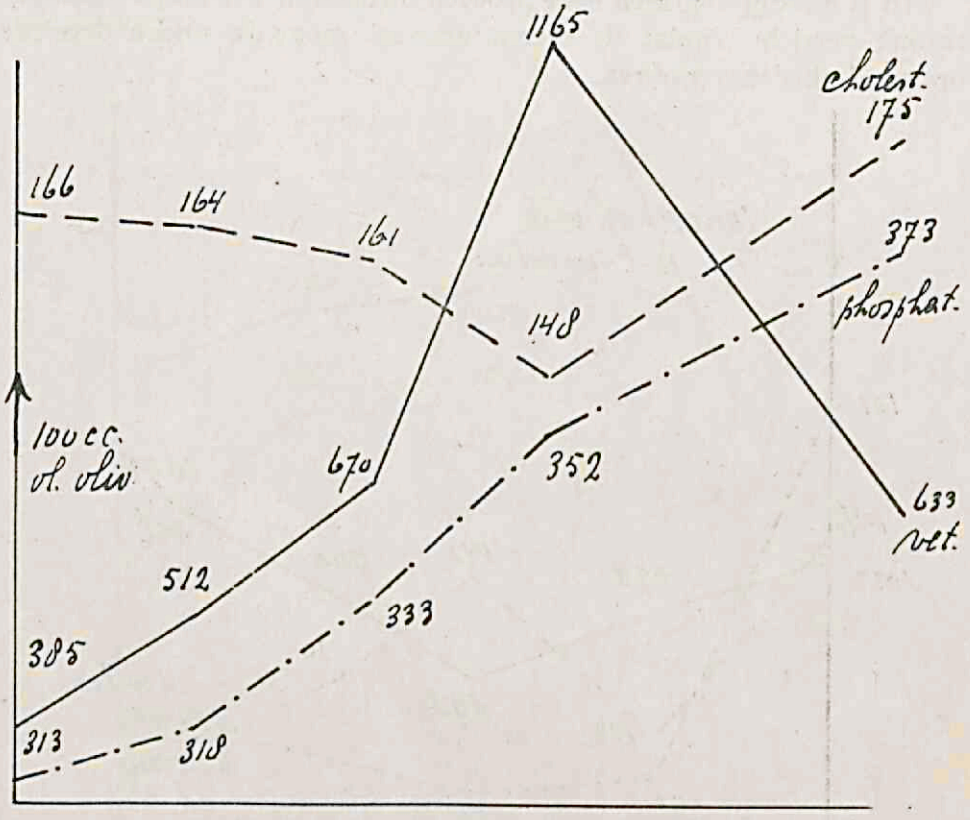
1 G. STEWART, R. GADDIE en D. DUNLOP. Biochem. Journ. 21. 958. 1927

2 G. PATTERSON. Biochem. Jorun. 25. 733. 1931.

opgemerkt, dat de honden in het laboratorium nooit arbeid verrichtten en gedurende een proefneming in een z.g. stofwisselingskooi werden gezet. (zie J. der Weduwen. Proefschrift Utrecht 1931.)

Voor zoo ver mij bekend is zijn dergelijke proeven nog niet genomen.

Vergelijkt men nu figuur 9 en figuur 14, die beiden van proeven op hond 1 stammen, dan ziet men hieruit onmiddellijk, dat de tolerantie voor vet aanzienlijk is verhoogd na het inspuiten van insuline,



Figuur 11 (zie blz. 137.)

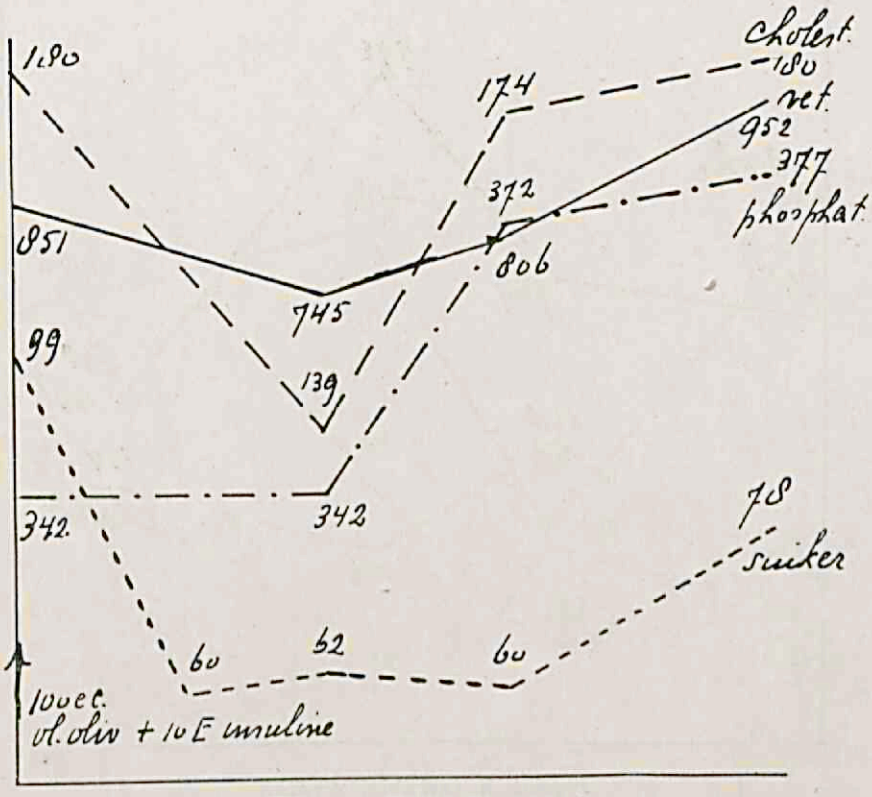
zoodat de ,,vetlijn'' inplaats van te stijgen, een dalen te zien geeft, niettegenstaande den vetmaaltijd.

Ook valt daarbij onmiddellijk op, dat de ,,suikerlijn'' en de ,,vetlijn'' in groote trekken overeenkomst vertoonen: wanneer de hoeveelheid suiker in het bloed weer toeneemt, m.a.w., wanneer de werking van de insuline begint te verflauwen, dan neemt ook onmiddellijk daarna het gehalte van het bloed aan vet toe.

Ook het beloop van de lijn, die de wisseling in het gehalte van het bloed aan cholesterine voorstelt, is eenigszins veranderd en wel in dien zin, dat na het inspuiten van insuline de hoeveelheid van deze stof in het bloed afneemt, waarop na 4 uur een toenemen volgt, waarvan de grootste waarde weer samenvalt met de kleinste waarde van het gehalte van het bloed aan vet.

Zooals reeds eerder gezegd, werd de hoeveelheid phosphatides bij deze eerste proeven nagegaan met een werkwijze, die mij later bleek onjuiste uitkomsten te geven.

Bij hond 3 (figuur 11 en 15) is de werking van de insuline wel zeer duidelijk, wanneer men ziet dat het geweldig toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed na een vetmaaltijd, getuige van de zeer kleine tolerantie voor vet die deze hond bezat, na het inspuiten van insuline geheel is te niet gedaan. Ook hier is in de „suikerlijn" zeer



Figuur 15 (zie blz. 141.)

veel overeenkomst te vinden met de lijn die de verandering in het vetgehalte weergeeft.

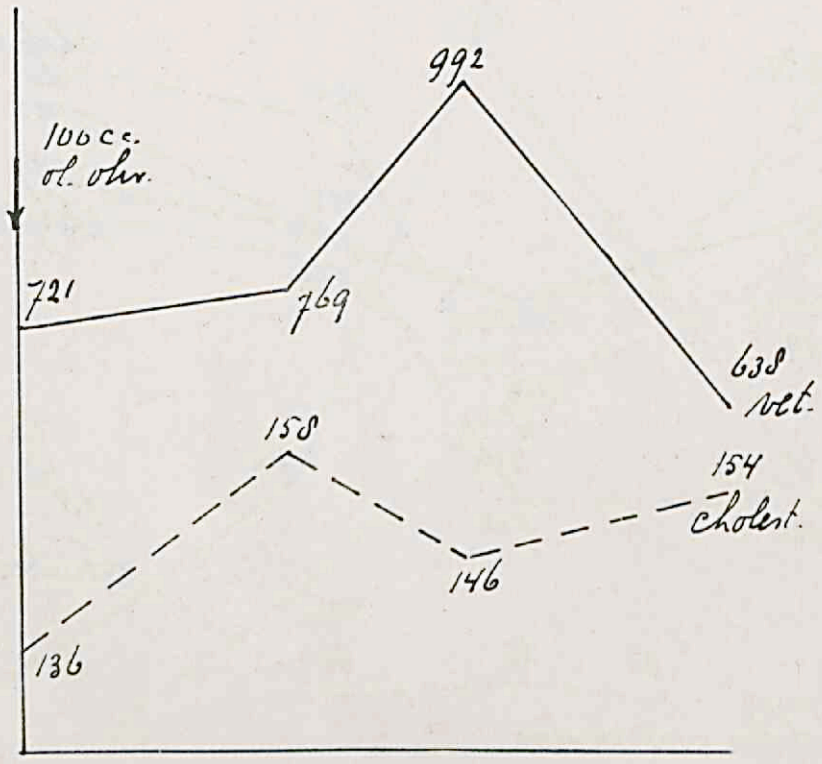
De veranderingen in het gehalte van het bloed aan cholesterine zijn niet dezelfde zooals ik gewoonlijk waarnam. Na het inspuiten van insuline volgt een aanzienlijk afnemen van de hoeveelheid van deze stof in het bloed, maar het schijnt alsof het daarop volgende toenemen iets later komt dan anders en niet samenvalt met de kleinste waarde voor het gehalte van het bloed aan vet.

Men moet hierbij echter wel bedenken, dat een toenemen van de hoeveelheid vet van 745 mG. op 806 mG. nog juist aan de rand van de nauwkeurigheid van de werkwijze ligt, zoodat men dit toenemen niet als een werkelijke verandering mag beschouwen. Maar toch blijft na het stijgen van de „vetlijn" het verwachte dalen van de „cholesterine-lijn", dat ik overal waarnam, uit.

Bij deze proef werd de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides wel met een goede werkwijze nagegaan en het verschil in de veranderingen in de gehaltes van deze stoffen in beide proeven is dan ook zeer duidelijk.

Het in figuur 11 onmiddellijk beginnend toenemen van de hoeveelheid phosphatides in het bloed blijft uit en treedt pas veel later in, wanneer de werking van de insuline begint te verminderen.

Bij het bespreken van de proeven die op hond 2 werden gedaan,



Figuur 8 (zie blz. 134.)

moet ik vooraf vermelden, dat dit een abnormaal dikke hond was (gewicht 32½ K.G. bij een middelmatige grootte) die blijkbaar een groote tolerantie door vet bezat (vergelijk figuur 8 en 11.)

Na het inspuiten van 10 eenheden insuline neemt het gehalte van het bloed aan suiker maar zeer weinig af, zoodat ik na 1½ uur nog eens 10 eenheden inspoot, waarop het suikergehalte van het bloed behoorlijk verminderde.

Daardoor is het waarschijnlijk te verklaren, dat de kleinste waarde voor het vetgehalte van het bloed pas later bereikt wordt en men in de eerste uren nog een toenemen van de hoeveelheid vet in het bloed waarneemt.

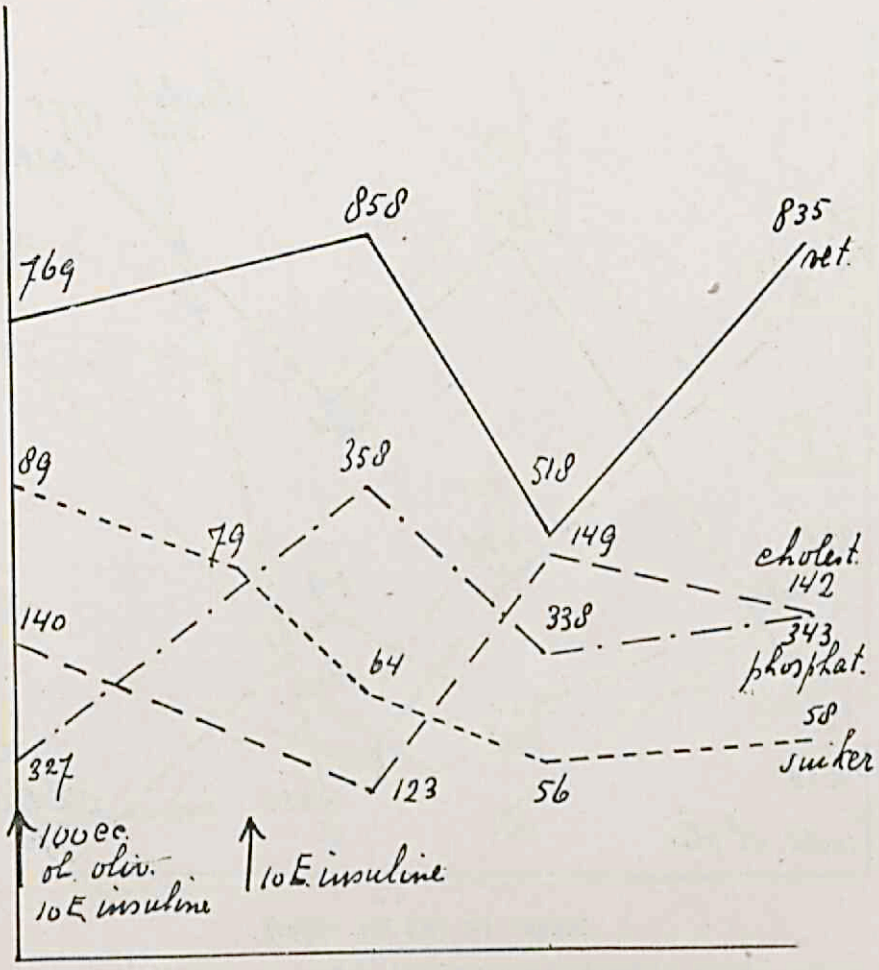
Niettemin is de tolerantie voor vet aanzienlijk versterkt. (zie figuur 8 en 16.)

Dat het gehalte van het bloed aan cholesterine duidelijk schijnt te

verminderen reeds vóórdat insuline was ingespoten, zegt natuurlijk niets, omdat er tusschen 8 en 12 uur geen bloed-onderzoek plaats had en het dus zeer wel mogelijk is, dat daartusschen een toenemen van de hoeveelheid cholesterine in het bloed heeft plaats gehad.

Zeer duidelijk komt ook hier weer aan het licht het samengaan van de grootste hoeveelheid vet in het bloed met de kleinste hoeveelheid cholesterine.

Het schijnt, dat de „phosphatide-lijn" weinig verandert door het



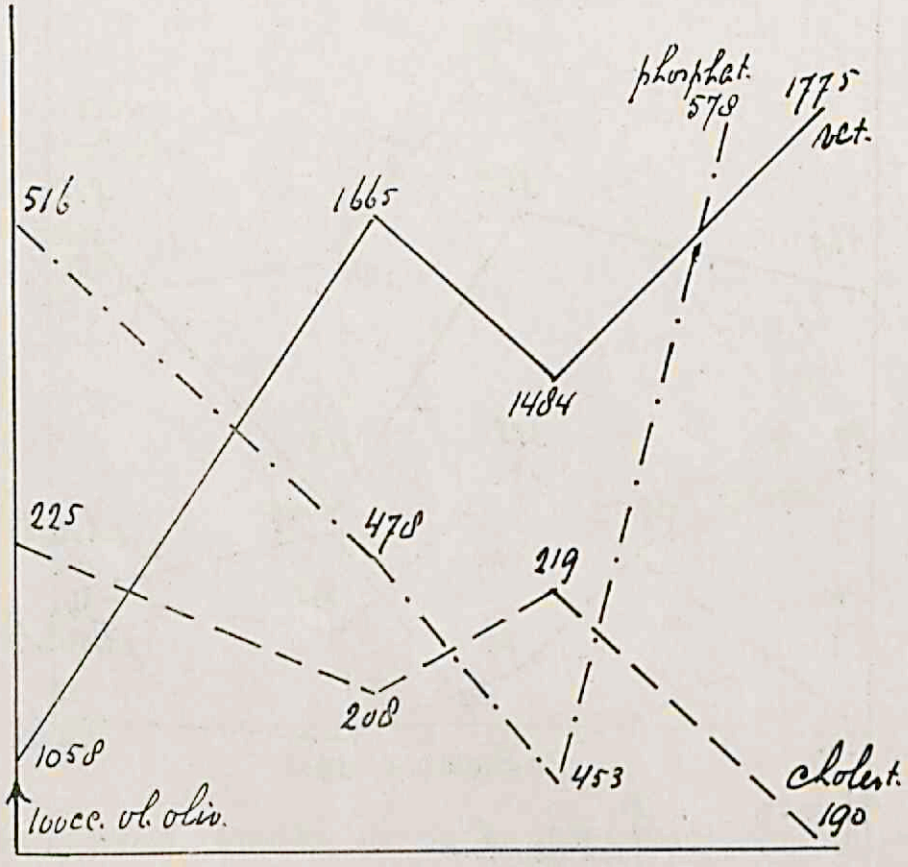
Figuur 16 (zie blz. 142.)

inspuiten van insuline; misschien moet het afnemen van het gehalte dat na 12 uur te voorschijn komt, er aan worden toegeschreven. Veel kan ik uit deze lijn niet besluiten, omdat ik in de contrôle-proef zonder insuline-inspuiten geen gegevens bezit over de verandering in het gehalte van deze stoffen, om de bekende reden.

Uit deze drie proeven, op verschillende honden verricht, blijkt mijns inziens zonder eenigen twijfel, dat voor het inspuiten van insuline, de tolerantie voor vet bij honden aanmerkelijk wordt versterkt.

B. *Bij een hond zonder alvleeschklier.*

Zooals ik reeds in hoofdstuk 3b heb vermeld, was er bij twee honden een duidelijke vermindering in de tolerantie voor vet waar te nemen na het wegnemen van de alvleeschklier. Daarbij is er ook op gewezen, dat deze vermindering het gevolg zou kunnen zijn van de groote verandering, die deze ingreep in het organisme teweeg brengt. Om nu te bewijzen, dat deze verminderde tolerantie voor vet alleen het gevolg is van het afwezig zijn van de inwendige



Figuur 13 (zie blz. 139.)

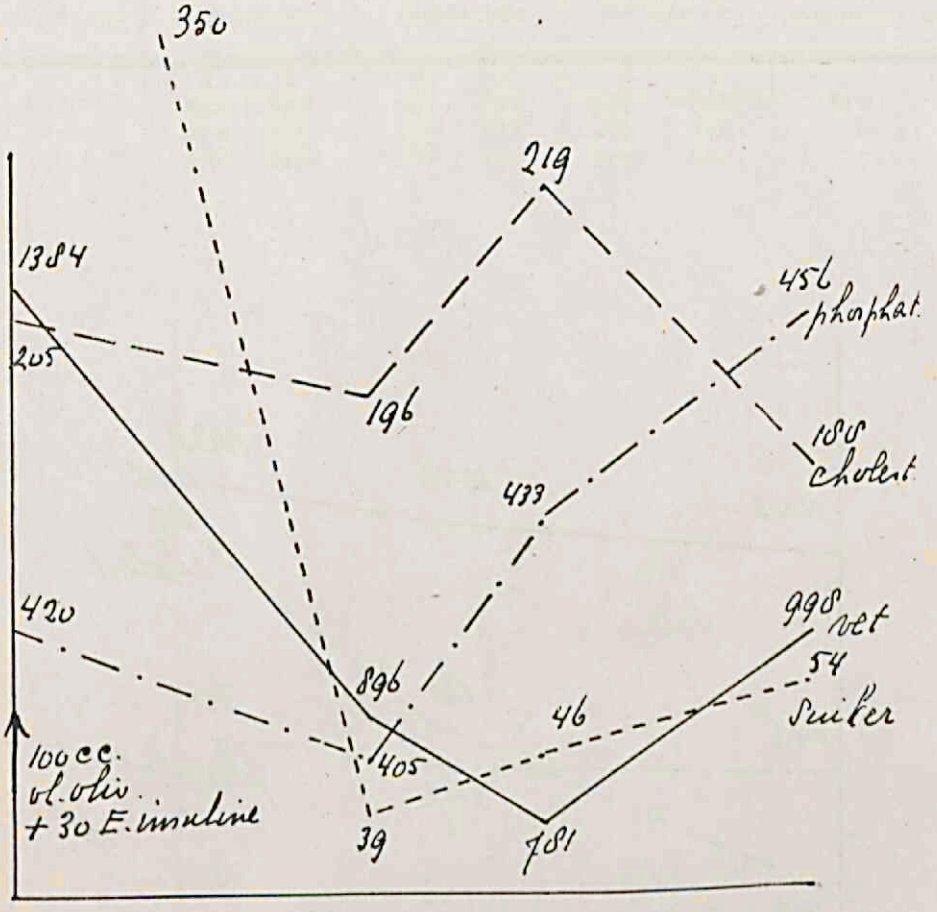
afscheiding van de alvleeschklier, kwam het er dus op aan, om aan te toonen, dat door insuline-inspuiten deze kleine tolerantie weer kan worden versterkt; daarbij blijft de toestand waarin het dier verkeert, dus onveranderd.

Ook heb ik er reeds op gewezen, dat men deze proeven moet uitvoeren met een niet te lange tusschenruimte, omdat men dan dit herstel van de tolerantie zou kunnen verklaren uit het gewennen van het dier aan den abnormalen toestand.

Helaas was een van deze twee honden zonder alvleeschklier afgemaakt bij een andere proefneming, zoodat ik voor deze bewijsvoering maar een proef kan aanhalen.

Maar uit deze eene proef blijkt wel zeer duidelijk, dat de tolerantie voor vet weer in sterke mate is toegenomen. (vergelijk figuur 13 en 17.) Ook kan men er uit aflezen, dat kort nadat de hoeveelheid suiker in het bloed weer iets toeneemt, d.w.z. nadat de insulinewerking bgint te verflauwen, ook vrij snel de lijn die het gehalte van het bloed aan vet voorstelt, een stijgen te zien geeft.

De ,,cholesterine-lijn'' laat, behalve het dalen in het begin en het typische samengaan van de grootste hoeveelheid cholesterine met de



Figuur 17 (zie blz. 143.)

kleinste hoeveelheid vet in het bloed, geen afwijkingen van hetgeen in andere proeven is waargnomen, zien.

Ook het gehalte van het bloed aan phosphatides verandert op dezelfde wijze zooals bij andere proeven is waargenomen: een afnemen kort na het inspuiten van insuline met een opvolgend regelmatig toenemen van de hoeveelheid van deze stoffen in het bloed.

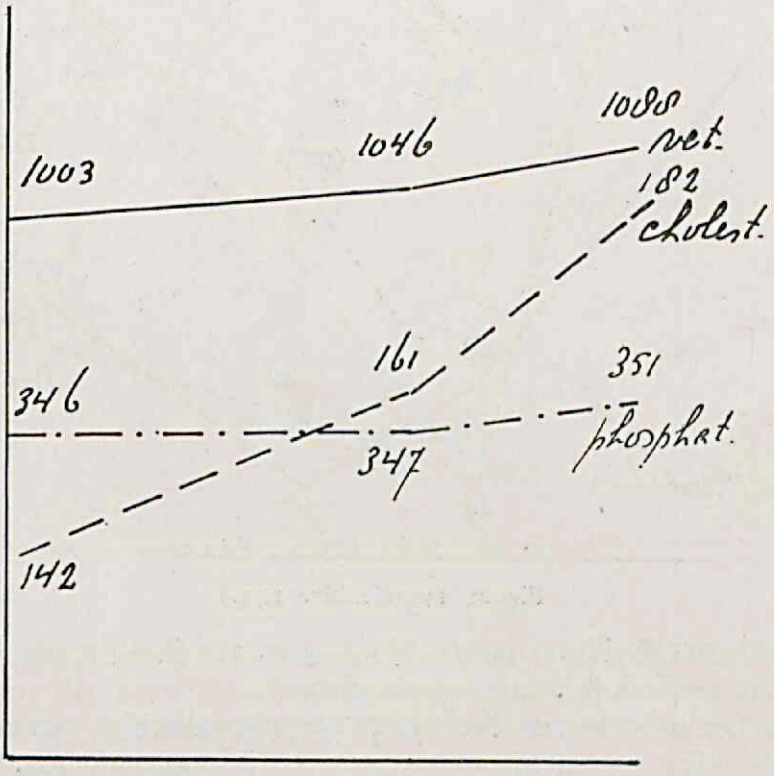
Proef op hond 3, op 15 Febr. '32.

Dezen hond van middelbare grootte was alle voedsel onthouden vanaf 14 Februari 18 uur. Op den dag van de proefneming werd ook geen voedsel gegeven.

Het bloed werd onderzocht om 10 uur, 14 uur 30 en om 17 uur.

De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan					
	vet		cholesterine		phosphatides	
	a	b	a	b	a	b
10 uur	1003	939	142	145	338	346
14.30 ,,	1046	974	161	159	347	336
17 ,,	1088	1036	179	182	342	351



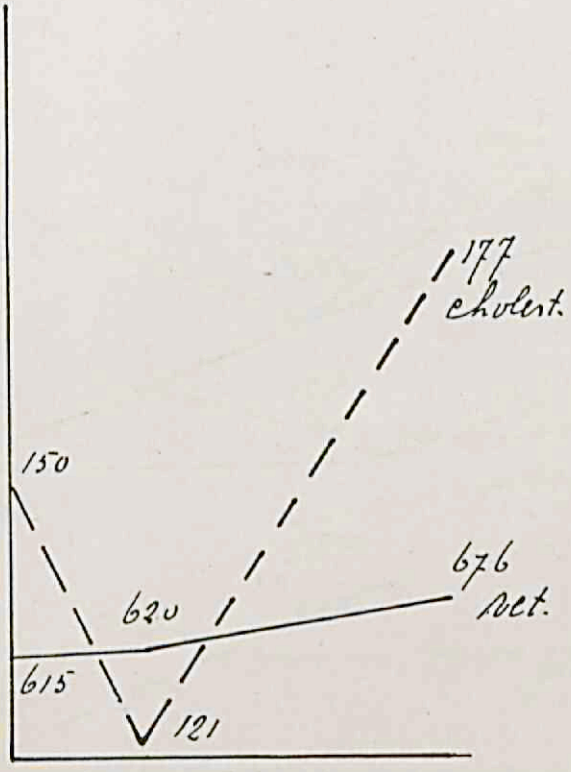
Figuur 3.

Proef op hond 2, op 12 Jan. 1932.

Deze hond, die zeer dik is en van middelbare grootte, had geen voedsel meer gekregen vanaf 11 Jan. 18 uur. Op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden. Het bloed werd onderzocht om 10 uur, 11 uur 30 en om 15 uur.

De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan				
	vet		cholesterine		phosphatides
	a	b	a	b	
10 uur	615	600	145	150	is niet onderzocht
11.30 ,,	620	608	121	126	
15 ,,	676	662	176	177	



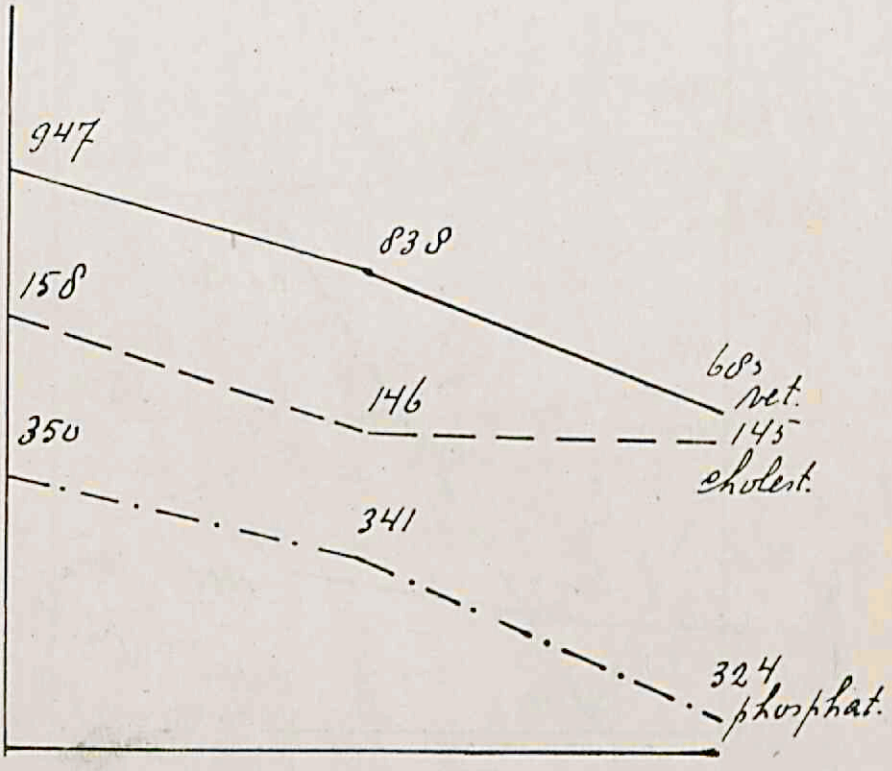
Figuur 4.

Proef op hond 2, op 2 Maart '32.

De hond, die zeer dik is en van middelbare grootte, had geen voedsel meer gekregen vanaf 1 Maart 18 uur. Op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden.

Het bloed werd onderzocht om 10, 14 en 18 uur. De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan					
	vet		cholesterine		phosphatides	
	a	b	a	b	a	b
10 uur	968	947	158	149	350	340
14 ,,	801	838	130	146	341	330
18 ,,	685	661	145	138	315	324



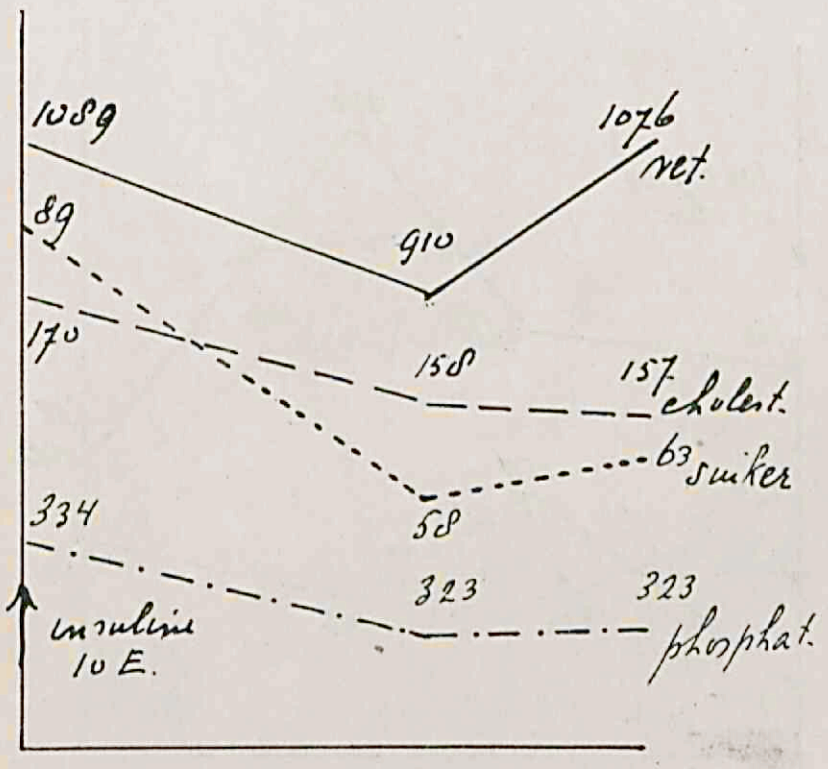
Figuur 5.

Proef op hond 3, op 20 Febr. '32.

Deze hond van middelbare grootte had geen voedsel meer gekregen vanaf 19 Februari 18 uur. Op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden.

Om 10 uur werden 10 *eenheden insuline* onderhuidsch ingespoten en het bloed onderzocht om 10 uur, 14 uur en 17 uur. De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen en aan suiker, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides		
		a	b	a	b	a	b	
10 uur	89	1089	999	170	163	330	334	
14 ,,	58	910	917	150	158	306	323	
17 ,,	63	1076	959	157	156	323	318	

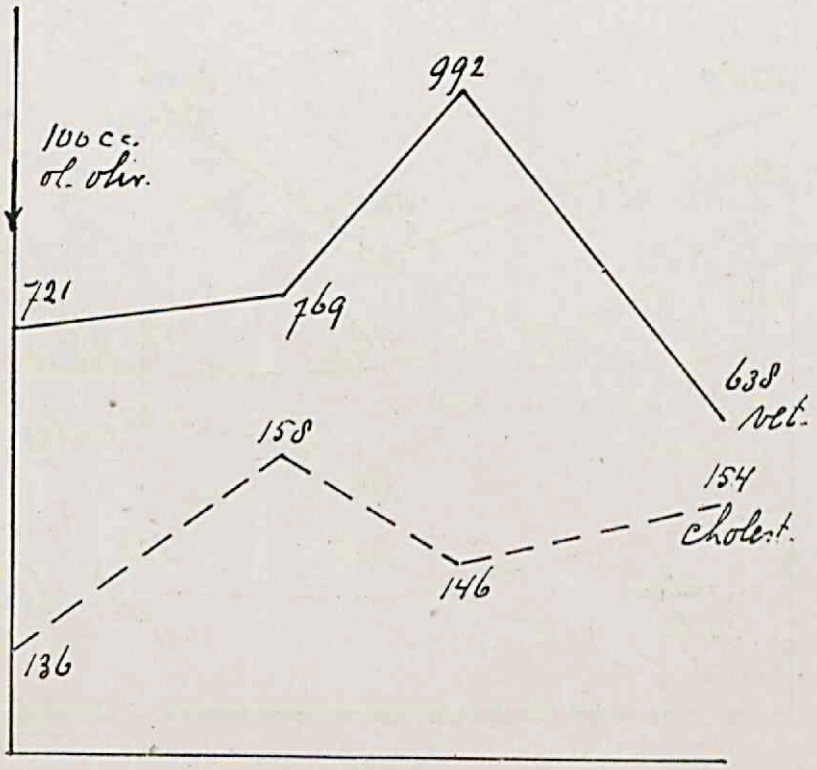


Figuur 6.

Proef op hond 2, op 15 Febr. '32.

Deze hond, die zeer dik is (lichaamsgewicht 35 K.G. en middelbare grootte), had geen voedsel gekregen vanaf 14 Febr. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden. Op 15 Febr. om 8 uur 30 werd met de maagslang 100 cc. olijf-olie toegediend en het bloed onderzocht om 8 uur 30, 12 uur, 14 uur en 17 uur. De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan vet en cholesterine, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan				
	vet		cholesterine		phosphatides
	a	b	a	b	
8.30 uur	721	785	136	134	werd niet
12 ,,	769	791	158	153	onderzocht
14 ,,	992	1011	146	140	
17 ,,	638	620	154	149	



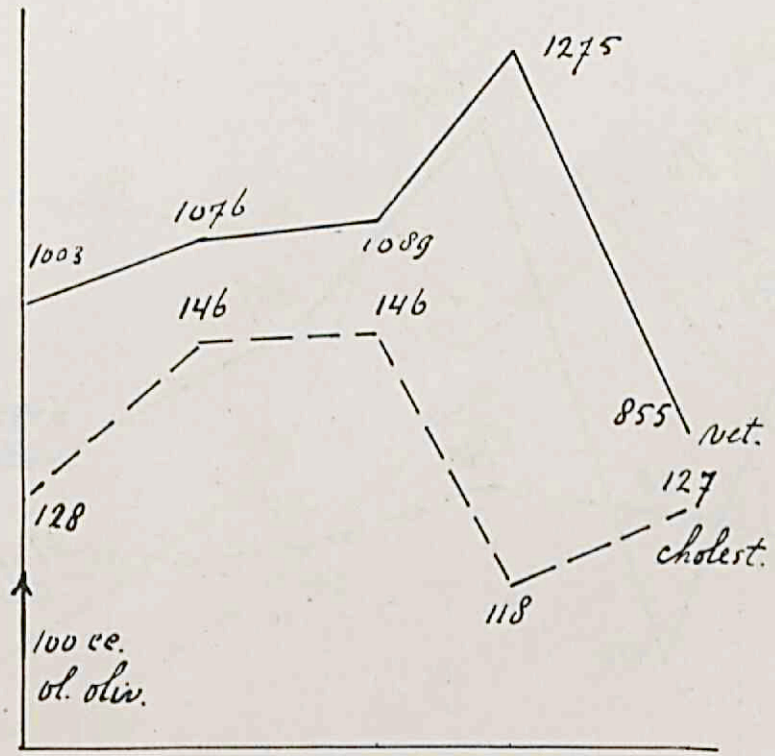
Figuur 8.

Proef op hond 1, op 10 Dec. 1931.

Deze hond van middelbare grootte (lichaamsgewicht 25 K.G.) had geen voedsel gekregen vanaf 9 Dec. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden. Om 10 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang gegeven en het bloed onderzocht om 10, 12, 14, 16 en 18 uur.

De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan				
	vet		cholesterine		phosphatides
	a	b	a	b	
10 uur	1003	972	126	128	werd niet onderzocht.
12 ,,	1076	1012	145	146	
14 ,,	1071	1089	141	146	
16 ,,	1275	1199	116	118	
18 ,,	841	855	121	127	



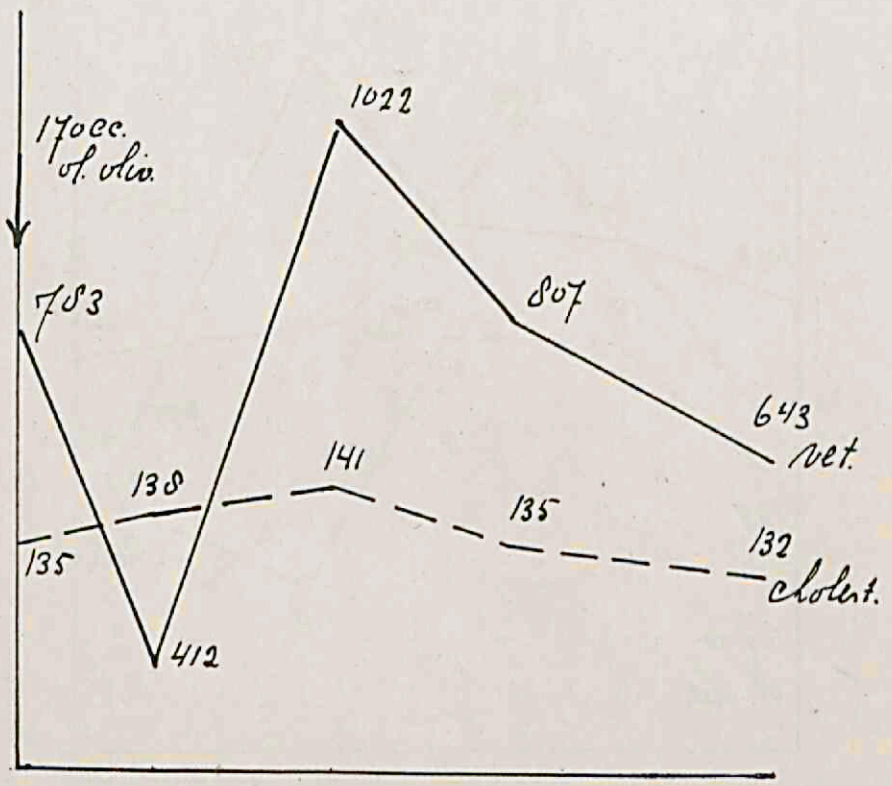
Figuur 9.

Proef op hond 2, op 29 Jan. 1932.

Deze hond, die zeer dik is en van middelbare grootte, had geen voedsel gekregen vanaf 28 Jan. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden.

Om 9 uur 30 werd met de maagslang 170 cc. olijf-olie gegeven en het bloed onderzocht om 9 uur 30, 10, 12, 14 en 17 uur. De waarden, die op die tijden gevonden werden voor de grootte van het gehalte van het bloed aan vet en vetachtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan				
	vet		cholesterine		phosphatides
	a	b	a	b	
9.30 uur	783	716	135	128	werd niet onderzocht.
10 ,,	412	386	138	130	
12 ,,	1022	1047	141	136	
14 ,,	807	788	135	131	
17 ,,	643	401	132	130	



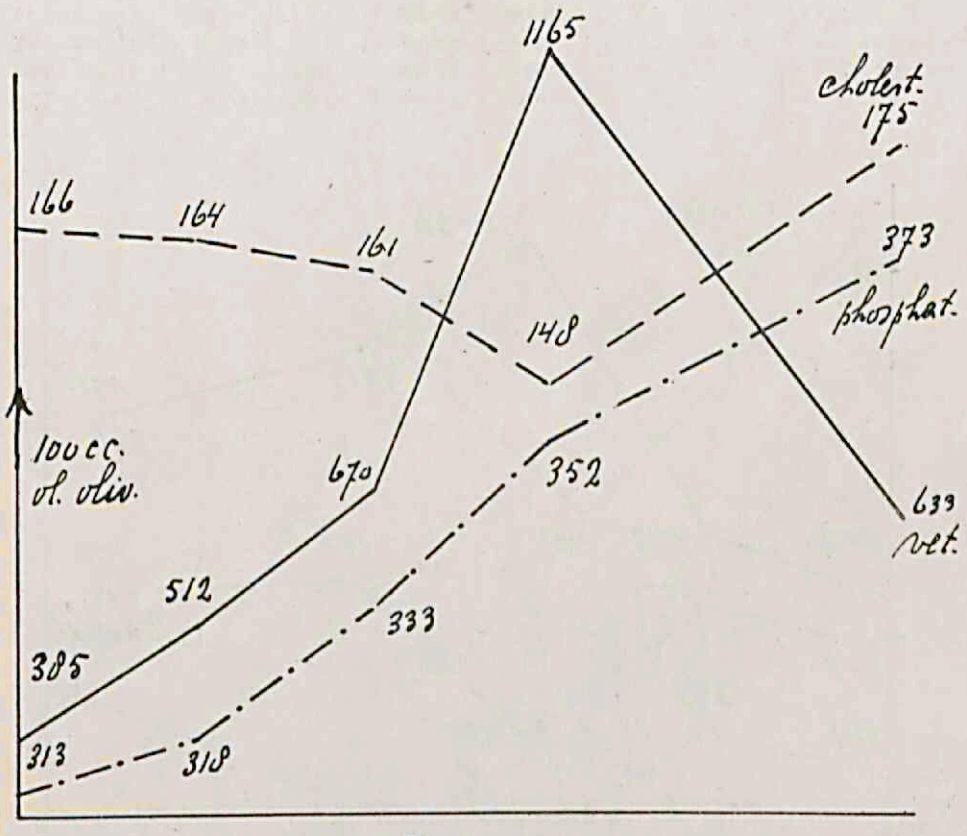
Figuur 10.

Proef op hond 3, op 2 Febr. 1932.

Deze hond van middelbare grootte had geen voedsel gekregen vanaf 1 Febr. 18 uur, terwijl ook op den dag van de proefneming alle voedsel werd onthouden. Om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie gegeven met de maagslang en het bloed onderzocht om 8, 10, 12, 14 en 18 uur.

De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan					
	vet		cholesterine		phosphatides	
	a	b	a	b	a	b
8 uur	385	381	168	166	313	298
10 ,,	505	512	164	160	318	309
12 ,,	670	653	161	160	333	325
14 ,,	990	1165	148	146	352	340
18 ,,	633	611	173	175	373	364



Figuur 11.

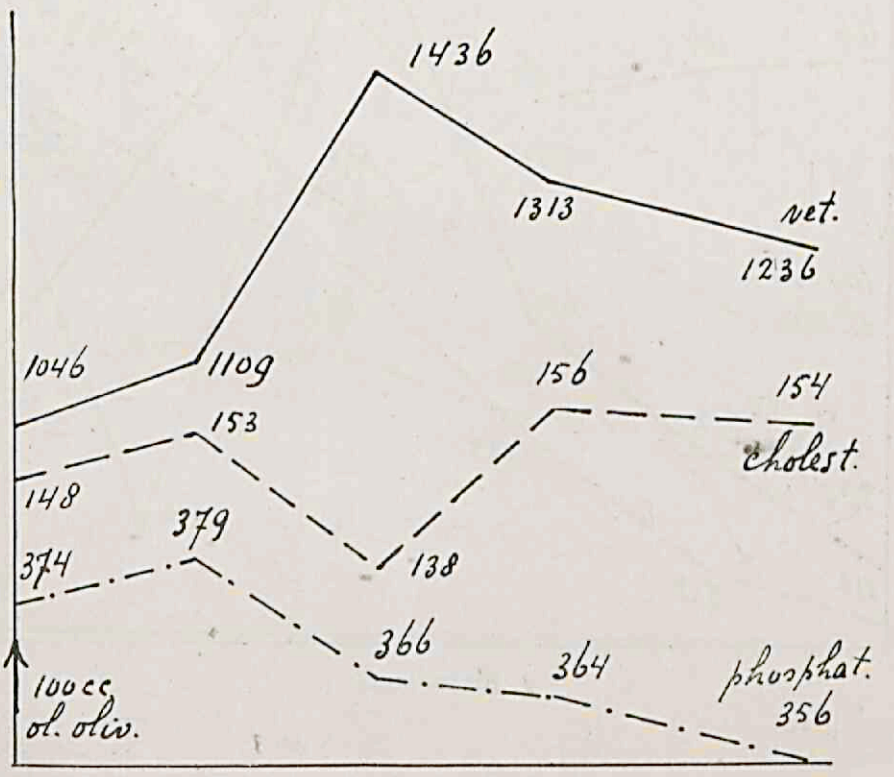
Proef op hond 1, op 17 Maart '32.

Bij dezen hond van middelbare grootte was de alvleeschklier weggenomen op 5 Februari '32. Vanaf dezen ingreep werd het dier iederen dag gemalen alvleeschklier-weefsel gegeven, waardoor geen sterke vermagering is ingetreden. Verder werd iederen dag 40 E insuline ingespoten, waardoor de grootte van het gehalte van het bloed aan suiker schommelde om de 100 mG. per 100 cc. bloed.

Vóór de proefneming was het dier 24 uur vrij van insuline, terwijl vanaf 16 Maart 18 uur geen voedsel werd gegeven; ook op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden.

Op 17 Maart om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang gegeven en het bloed onderzocht om 8, 10, 12, 14 en 17 uur. De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen en aan suiker, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides	
		a	b	a	b	a	b
8 uur	450	1046	1042	148	143	374	370
10 ,,		1109	1103	151	153	379	371
12 ,,		1380	1436	137	138	366	365
14 ,,		1313	1292	154	156	364	361
17 ,,		1236	1202	149	154	356	350



Figuur 12.

Proef op hond 4, op 6 April '32.

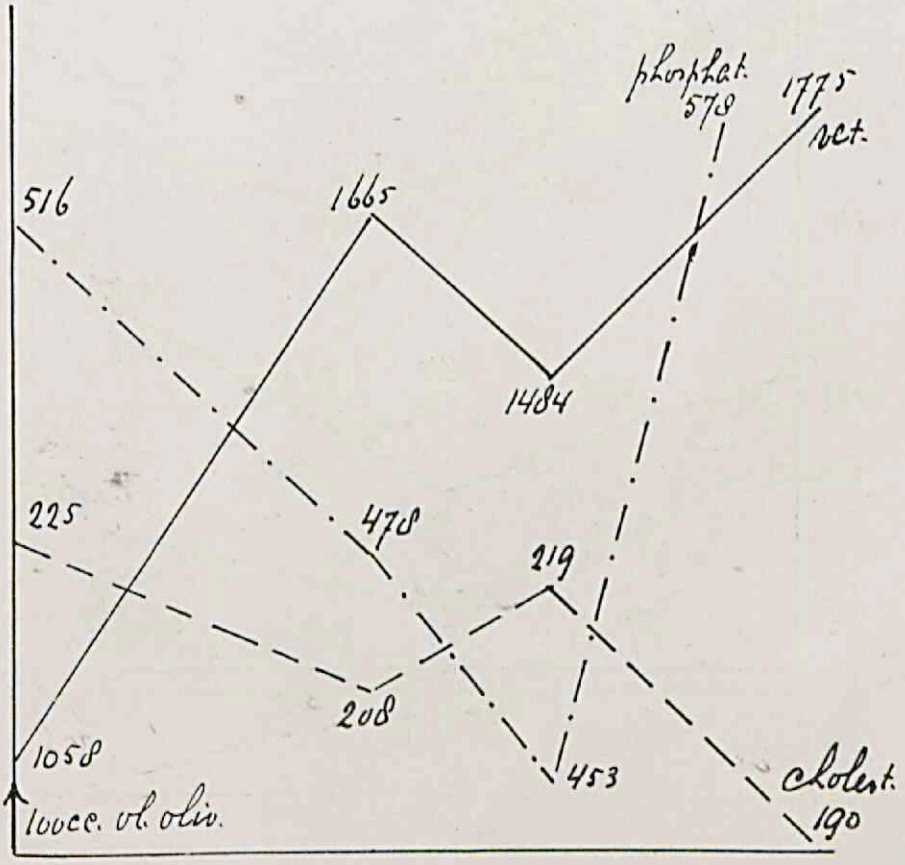
Bij dezen hond van middelbare grootte was de alvleeschklier weggenomen op 10 Februari '32. Vanaf dezen ingreep werd het dier iederen dag gemalen alvleeschklier-weefsel gegeven, waardoor geen sterke vermagering is ingetreden. Verder werd iederen dag 40 E insuline ingespoten, zoodat de grootte van het gehalte van het bloed aan suiker schommelde om de 100 mG. per 100 cc. bloed.

Vóór de proefneming was het dier 24 uur vrij van insuline, terwijl vanaf 5 April 18 uur geen voedsel werd gegeven; ook op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden.

6 April om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang gegeven en het bloed onderzocht om 8, 12, 14 en 17 uur.

De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan suiker, vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan:							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides		
		a	b	a	b	a	b	
8 uur	meer dan	1058	1028	208	225	516	498	
12 ,,	385	1665	1524	180	208	478	476	
14 ,,		1484	1458	217	219	424	453	
17 ,,		1775	1694	190	179	578	628	

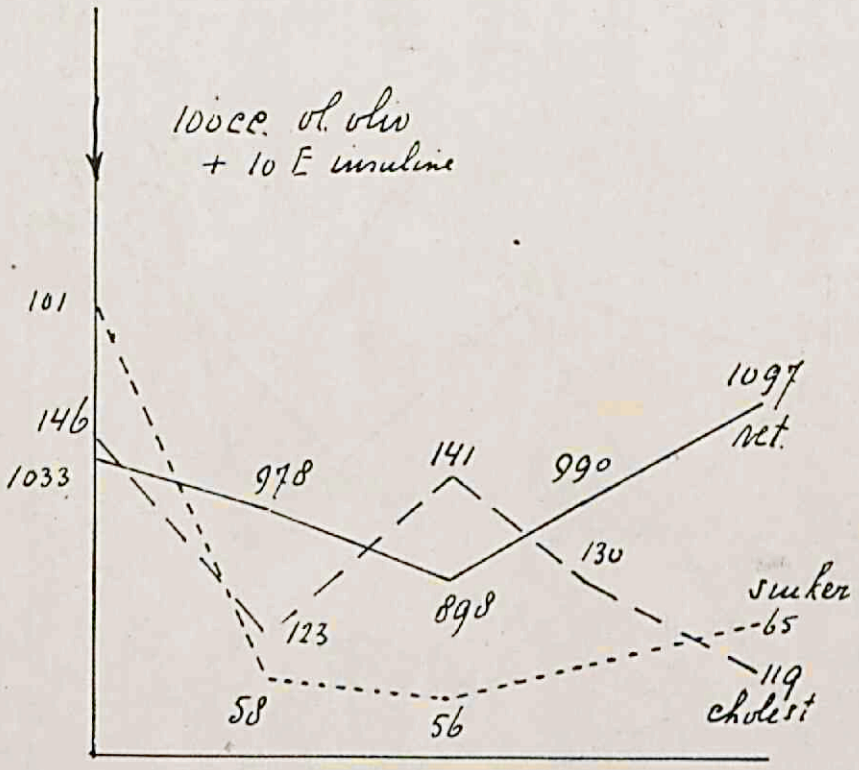


Figuur 13.

Proef op hond 1 op 15 Jan. '32.

Deze hond van middelbare grootte had geen voedsel meer gekregen vanaf 14 Jan. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden. Op 15 Jan. om 10 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang gegeven en gelijktijdig 10 *E insuline* onderhuidsch ingespoten. Het bloed werd onderzocht om 10, 12, 14, 16 en 18 uur. De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan suiker, vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan					
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides
		a	b	a	b	
10 uur	101	1033	1001	146	142	werd niet onderzocht.
12 ,,	58	978	924	121	123	
14 ,,	56	898	872	139	141	
16 ,,		990	973	130	128	
18 ,,	65	1097	982	119	115	

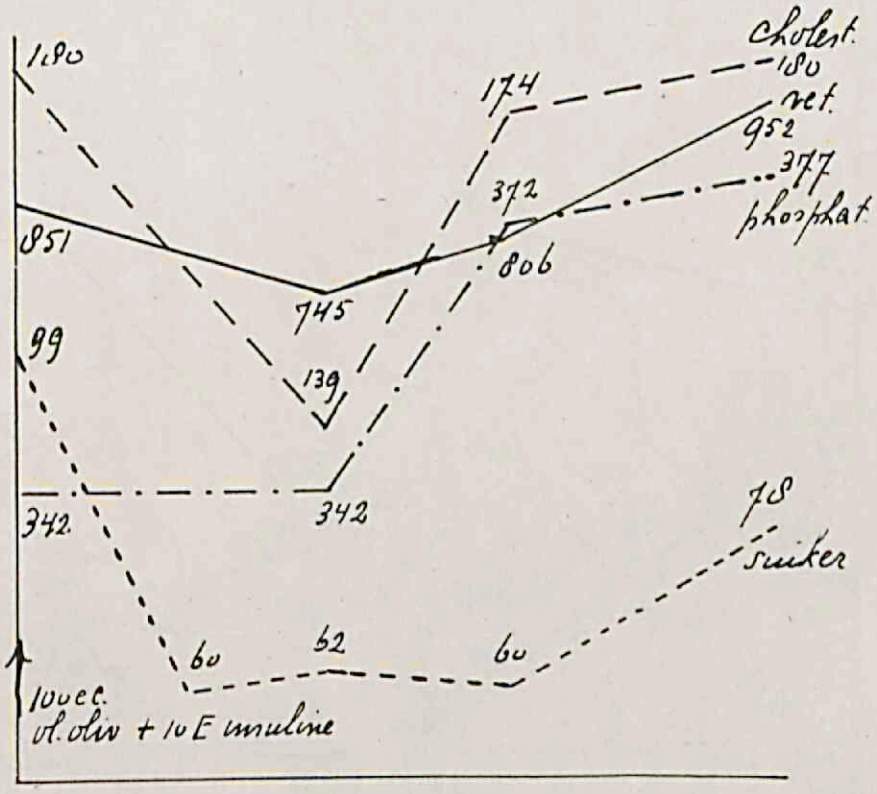


Figuur 14.

Proef op hond 3, op 11 Febr. '32.

Deze hond van middelbare grootte had geen voedsel gekregen vanaf 10 Febr. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden. Op 11 Febr. om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang toegediend, terwijl gelijktijdig 10 *E insuline* onderhuidsch werden ingespoten. Het bloed werd onderzocht om 8, 10, 12, 14 en 17 uur. De waarden, die op die tijden werden gevonden voor het gehalte van het bloed aan suiker, vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides		
		a	b	a	b	a	b	
8 uur	99	851	827	181	180	342	340	
10 ,,	60							
12 ,,	62	725	745	137	139	339	342	
14 ,,	60	789	806	156	174	372	368	
17 ,,	78	952	908	180	169	377	367	



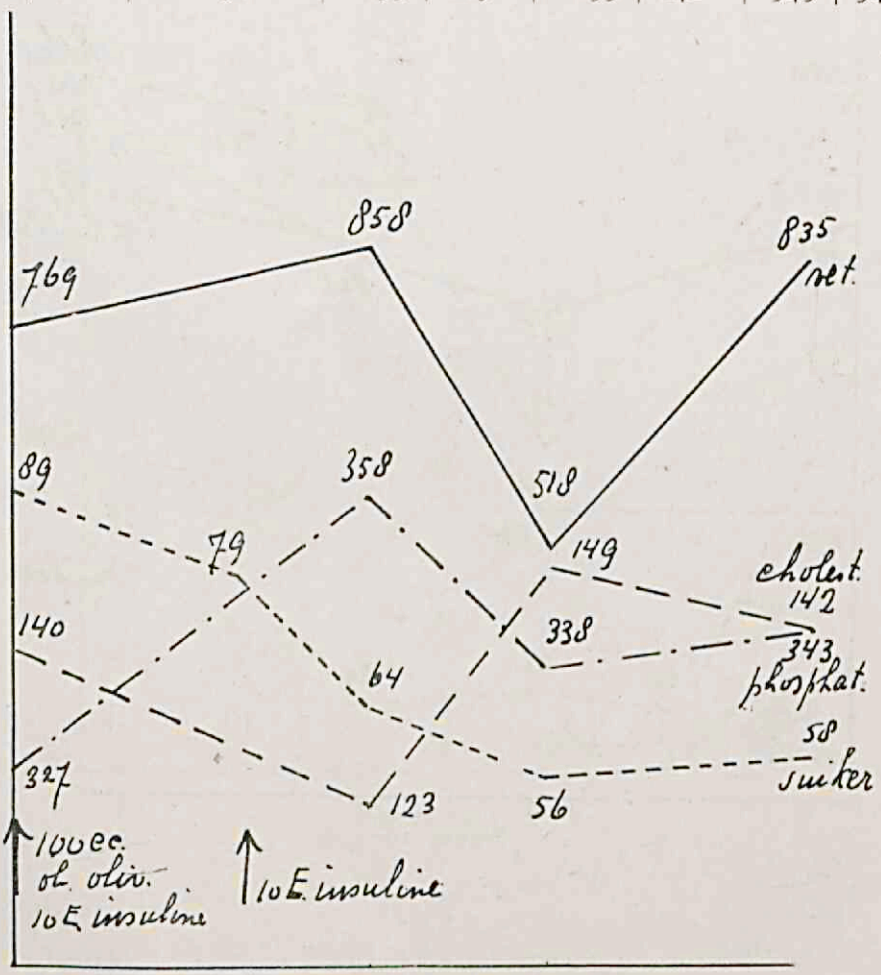
Figuur 15.

Proef op hond 2, op 25 Febr. '32.

Deze abnormaal dikke hond had geen voedsel gekregen vanaf 24 Febr. 18 uur, terwijl ook op den dag der proefneming alle voedsel werd onthouden. Op 25 Febr. om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang toegediend, terwijl getijktijdig 10 *E insuline* onderhuidsch werden ingespoten. Het bloed werd onderzocht om 8, 10 uur 30, 12, 14 en 17 uur. Omdat het gehalte van het bloed aan suiker niet voldoende verminderde na het inspuiten van insuline, werden voor de tweede maal 10 *E insuline* ingespoten om 11 uur.

De waarden, die op de aangegeven tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan suiker, vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides		
		a	b	a	b	a	b	
8 uur	89	743	769	139	140	327	321	
10.30 ,,	79							
12 ,,	64	842	858	124	123	354	358	
14 ,,	56	518	492	149	145	339	338	
17 ,,	58	835	829	135	142	343	341	



Figuur 16.

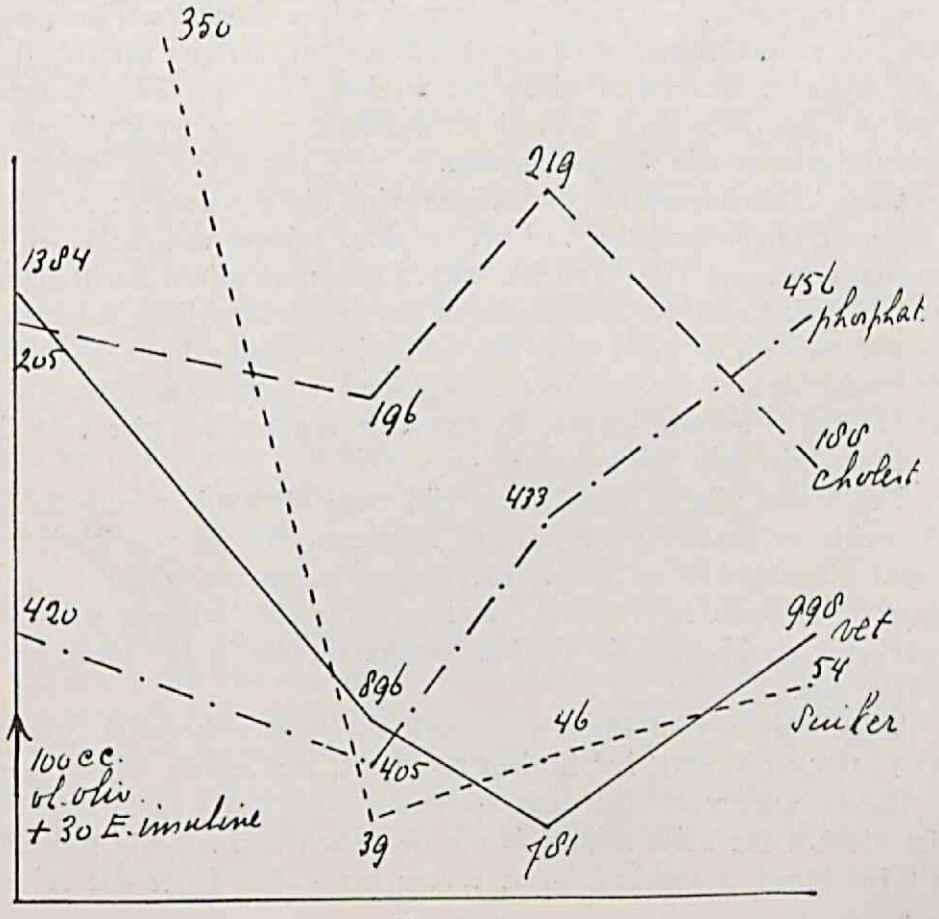
Proef op hond 4, op 8 April '32.

Bij dezen hond van middelbare grootte was de alvleeschklier weggenomen op 10 Februari '32. Vanaf dezen ingreep werd het dier iederen dag gemalen alvleeschklier-weefsel gegeven, waardoor geen sterke vermagering is ingetreden. Verder werd iederen dag 40 E insuline ingespoten, zoodat de grootte van het gehalte van het bloed aan suiker schommelde om de 100 mG. per 100 cc. bloed.

Vóór de proefneming was het dier 24 uur vrij van insuline, terwijl vanaf 7 April 18 uur geen voedsel werd gegeven; ook op den dag der proefneming werd alle voedsel onthouden.

8 April om 8 uur werd 100 cc. olijf-olie met de maagslang gegeven en gelijktijdig 30 *E insuline* onderhuidsch ingespoten. Het bloed werd onderzocht om 8, 12, 14 en 17 uur. De waarden, die op die tijden gevonden werden voor het gehalte van het bloed aan suiker, vet en vet-achtige stoffen, geeft het onderstaande staatje weer:

Tijdstip waarop bloed is afgenomen.	Gehalte van het bloed per 100 cc. aan							
	suiker	vet		cholesterine		phosphatides		
		a	b	a	b	a	b	
8 uur	350	1384	1373	201	205	420	415	
12 ,,	39	829	896	196	191	405	400	
14 ,,	46	781	752	216	219	433	421	
17 ,,	54	998	937	188	184	456	444	



Figuur 17.

BESCHOUWING OVER DE VERKREGEN UITKOMSTEN.

In het voorafgaande heb ik allereerst getracht een overzicht te geven van den huidigen stand van onze kennis omtrent de stofwisseling van vet, cholesterine en phosphatides.

Daarna heb ik de verschillende feiten besproken, die er op wijzen, dat de stofwisseling der vetten ten nauwste samenhangt met die der koolhydraten.

In een volgend hoofdstuk heb ik de bestaande werkwijzen voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van bloed aan vet besproken en getracht die naar hun waarde te schatten. Daarbij werden de navolgende besluiten gemaakt:

De oude gewichtsanalytische werkwijzen zijn voor de meeste onderzoekingen niet bruikbaar, omdat ze zeer veel bloed vereischen.

De nephelometrische werkwijzen (BLOOR, BING en HEKSCHER) zijn niet nauwkeurig, omdat het voor een goede vergelijking van de troebelheid noodig is, dat de standaard-vloeistof niet veel verschilt van de te onderzoeken vloeistof; daar dit echter meestal wel het geval zal zijn maakt men fouten, omdat de vetzuurdeeltjes samenballen en neerslaan. Bovendien biedt het werken met de nephelometer practisch en theoretisch zooveel bezwaren, dat deze werkwijzen als geheel verlaten zijn te beschouwen.

Van de titrimetrische werkwijzen zijn die genoemd, welke berusten op een verbranden van het vet door middel van een krachtig oxydatie-mengsel (BANG en BLOOR). Deze werkwijzen bezitten het groote nadeel, dat verontreinigingen een zeer belangrijken rol spelen en dat men bij de berekening een coëfficient noodig heeft, die door de verschillende onderzoekers verschillend wordt opgegeven. Deze coëfficient is noodig, omdat de oxydatie van het vet niet volledig is d.w.z. niet gaat tot koolzuur en water.

Ten slotte zijn in den lateren tijd twee werkwijzen uitgedacht, die beide op het volgende beginsel berusten. Het vet wordt uit het bloed uitgetrokken en gezuiverd; daarna wordt het verzeept en de daarbij ontstane hoeveelheid vetzuur getitreerd, waaruit men gemakkelijk de hoeveelheid vet kan berekenen, die in het bloed aanwezig was.

Ik gebruikte voor mijn onderzoek dit laatste beginsel, zooals STEWART en WHITE het hebben toegepast, met enkele wijzigingen.

Omdat men sedert het onderzoek van KUMAGAWA en SUTO weet, dat alcohol het beste middel is om de vetten zoo spoedig mogelijk uit het bloed te trekken, maar tevens het nadeel heeft dat er veel

verontreinigingen meekomen en dat petroleum-aether het middel is om de vetten zuiver uit het bloed te verkrijgen, terwijl daarbij echter belangrijke hoeveelheden in het bloed achterblijven, heb ik een wijze van werken gevolgd, die wel de voordeelen van deze beide uittrekmiddelen bezit, maar niet de nadeelen.

Het bloed werd eerst bij kooktemp. uitgetrokken met alcohol-aether en het filtraat van dit uittreksel ingedampt tot droog; vervolgens werd deze droge rest uitgetrokken met petroleumaether. Een gedeelte van deze droge rest lost niet op in de petroleumaether en bleek bij onderzoek geen vet of vet-achtige stoffen te bevatten.

Terwijl STEWART en WHITE voor hun onderzoek 2cc. bloed noodig hadden, kon ik volstaan met 0.2cc. Daarvoor was het echter noodig enkele wijzigingen aan te brengen en in de buret, die door de genoemde onderzoekers is gebruikt, waarvan echter het beginsel is uitgedacht door REHBERG.

Met deze werkwijze gelukte het mij bijna steeds goed overeenstemmende uitkomsten te verkrijgen bij parallel-bepalingen. Het gebeurde echter een enkele maal, dat de gevonden waarden zeer ver uit elkaar lagen, zonder dat ik daarvoor een oorzaak kon aanwijzen. Daarom gebruikte ik alleen uitkomsten die door parallel-bepalingen werden gevonden, waarbij deze uitkomsten goed met elkaar in overeenstemming waren.

Vervolgens werden de werkwijzen besproken, die er bestaan voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan cholesterine. Dit zijn er zeer vele, die in beginsel niet verschillen en alle berusten op de kleurreactie van LIEBERMANN—BURCHARD.

Ik heb het gewaagd het aantal met een te vermeerderen, door zelf een werkwijze uit te denken, die op dezelfde kleurreactie berust, maar waarbij ik slechts 0,4 cc. bloed noodig had.

Een groot nadeel van de bestaande werkwijzen is een bruine verkleuring in het chloroform-uittreksel van het bloed, die het kleurvergelijken onnauwkeurig en moeilijk, soms zelfs onmogelijk maakt.

Daarom heb ik bij mijn onderzoek het petroleumaether-uittreksel van het bloed eerst ingedampt tot droog en deze droge rest verzeept, waarna het chloroform-uittreksel hiervan volkomen kleurloos is. Door onderzoek heb ik aangetoond, dat daarbij geen cholesterine verloren gaat. Ik heb dit beginsel ontleend aan het werk van BIERICH, DETZEL en LANG, die het voor het eerst gebruikten bij het onderzoek van tumorweefsel op cholesterine.

Terwijl ook hier als regel goed overeenstemmende uitkomsten werden gevonden bij parallel-bepalingen, gebeurde het een enkele maal dat de gevonden waarden zeer ver uit elkaar lagen, zonder dat ik daarvoor een oorzaak kon aanwijzen. Voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides bestaan niet zooveel werkwijzen.

Naast de oxydatieve werkwijzen van BANG en BLOOR, die op de zelfde wijze worden uitgevoerd als bij het onderzoek naar de hoeveelheid vet in het bloed en die dus ook dezelfde nadeelen bezitten, bestaan er nog enkele werkwijzen van LEIBOFF, die in beginsel niet van elkaar verschillen.

Deze onderzoeker trekt de phosphatides uit het bloed met het alcohol-aether-mengsel, destrueert dit uittreksel met zwavelzuur en waterstofperoxyde en onderzoekt daarna de hoeveelheid phosphorzuur, die daarbij is vrijgekomen. Het nadeel van deze werkwijze is gelegen in de manier waarop het bloed wordt uitgetrokken, waarbij verontreinigingen meekomen, die phosphorus bevatten.

Daarom heb ik in het uittreksel eerst de phosphatides neergeslagen met aceton en magnesiumchloride en onderzocht daarna in dit neerslag de hoeveelheid phosphorzuur. Door onderzoek van MAC LEAN en BLOOR is aangetoond, dat de phosphatides practisch volledig worden neergeslagen met aceton en magnesium-chloride. Voor het onderzoek naar de hoeveelheid phosphorzuur gebruikte ik de werkwijze van F. F. TISDALL.

Niettegenstaande ik voor het onderzoek naar de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides slechts 0,2cc. bloed gebruikte, bleek deze werkwijze zeer nauwkeurig te zijn en steeds goed overeenstemmende uitkomsten te geven bij parallel-bepalingen.

In de volgende hoofdstukken zijn proeven beschreven, die ik verrichtte op honden en waarbij ik de volgende uitkomsten verkreeg.

Bij vier verschillende honden van middelbare grootte, die alle dezelfde gemengde voeding kregen en onder dezelfde omstandigheden verkeerden, werd op verschillende tijden van den dag het bloed onderzocht op de grootte van het vetgehalte nadat de dieren 14 uren hadden gevast, terwijl op den dag van de proefneming geen voedsel werd gegeven.

Daarbij vond ik zeer uiteenloopende waarden voor de grootte van het gehalte van het bloed aan vet bij verschillende dieren; de grootste waarde was 1089 mG. en de kleinste 381 mG. per 100 cc. bloed.

De grootte van het gehalte van het bloed aan cholesterine bleek bij deze dieren niet zooveel uiteen te loopen; als grootste waarde vond ik 180 mG. en als kleinste 128 mG. per 100 cc. bloed, terwijl voor de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides bij deze honden deze getallen resp. zijn 350 mG. en 313 mG. per 100 cc. bloed.

Ook bij het onderzoek dat ik deed met eenzelfde dier op verschillende dagen, kwamen ongeveer dezelfde schommelingen in het vetgehalte van het bloed aan het licht, terwijl die in het cholesterine- en phosphatide-gehalte iets geringer zijn, dan bij verschillende honden werden gevonden.

Verder stelde ik een onderzoek in naar de veranderingen, die konden worden waargenomen in het vet-, cholesterine- en phosphatidegehalte van het bloed van een hond binnen 12 uur. Het bleek hierbij, dat zeer verschillende veranderingen zich kunnen voordoen.

Bij een hond nam het vetgehalte van het bloed in 7 uur toe van 1003 mG. tot 1088 mG. per 100 cc. bloed, terwijl ook de hoeveelheid phosphatides in het bloed toenam van 346 tot 351 mG. Veel belangrijker was de toename van het cholesterine gehalte van het bloed in denzelfden tijd, n.l. van 142 tot 182 mG. per 100 cc.

Bij een anderen hond nam ook de grootte van het vetgehalte van het bloed in 5 uur onbeteekenend toe, maar in afwijking met de vorige proef verminderde het cholesterine-gehalte in 1½ uur van 150 mG. op 121 mG. per 100 cc. om daarna in 3½ uur weer toe te nemen tot 177 mG.

Toen ik bij denzelfden hond deze proef ongeveer 1½ maand later herhaalde kwamen geheel andere veranderingen in het gehalte van het bloed aan vet en vetachtige stoffen aan het licht; het vetgehalte verminderde van 947 mG. op 685 mG. per 100 cc., het cholesterinegehalte van 158 op 145 mG. en het phosphatide-gehalte van 350 op 324 mG. per 100 cc. bloed.

Bij een derden hond herhaalde ik deze proef, maar spoot nu aan het begin daarvan zooveel insuline onder de huid in, dat het suikergehalte van het bloed tot bijna op de helft verminderde. Zoowel de grootte van het gehalte van het bloed aan vet, als cholesterine en phosphatides veranderden zeer weinig.

Vervolgens deed ik proeven bij drie verschillende honden van middelbare grootte (lichaamsgewicht 20 tot 30 K.G.), die voor de proefneming 14 uren hadden gevast en een vetmaaltijd kregen van 100 cc. olijf-olie, die met de maagslang werden toegediend. Na dezen vetmaaltijd deden zich steeds karakteristieke veranderingen in het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen voor.

De grootte van het vetgehalte neemt toe en bereikte na 5 of 6 uur de grootste waarde; de grootte van deze toename is zeer verschillend: bij den eenen hond vermeerderde het vetgehalte van 721 tot 992 mG. per 100 cc. bij den anderen van 1003 tot 1275 mG. en bij den derden hond van 385 tot 1165 mG. per 100 cc. bloed. Bij een van deze honden herhaalde ik deze proef, maar gaf nu 170 cc. olijf-olie met de maagslang. Daarbij nam ik waar, dat het vetgehalte eerst verminderde van 783 op 412 mG. in 1½ uur en daarna toenam tot 1022 mG. in 2 uur, waarna het vetgehalte van het bloed weer verminderde tot iets beneden de waarde, die gevonden werd aan het begin van de proefneming.

Deze z.g. „hypolipaemische phase", die LEITES bijna als regel kon waarnemen bij zijn proeven over alimentaire hyperlipaemie, heb ik maar eenmaal gezien.

Zeer eigenaardige veranderingen heb ik steeds waargenomen in het gehalte van het bloed aan cholesterine. De grootte hiervan neemt in het begin na de vetmaaltijd wat toe en vervolgens af, waarbij dan de kleinste waarde wordt bereikt op het oogenblik, dat het gehalte aan vet het grootste is.

Deze eigenaardige verandering in het gehalte van het bloed aan cholesterine heb ik steeds waargenomen bij honden die een vetmaaltijd kregen, niet alleen wanneer de dieren onder normale omstandigheden verkeerden, maar eveneens wanneer insuline was ingespoten of wanneer de alvleeschklier was weggenomen.

LEITES, die dit verschijnsel voor het eerst heeft waargenomen, tracht het te verklaren door aan te nemen, dat cholesterine overgaat in vet.

Mij kan deze eenvoudige gedachtengang niet bevredigen, omdat ik niet kan begrijpen waarom op een bepaald oogenblik cholesterine zou overgaan in vet, terwijl enkele uren later het omgekeerde zou plaats hebben; en waarom ook zou er in het lichaam nog meer vet gevormd worden, wanneer er zooveel door het darmkanaal wordt opgenomen?

De meest voor de hand liggende verklaring zou zeker de volgende zijn: door deze groote hoeveelheid vet in het darmkanaal wordt veel gal afgescheiden en daardoor zou mogelijk veel cholesterine aan het bloed worden onttrokken.

Een dergelijke gedachtengang kan ons echter niet voldoen, omdat de hoeveelheid cholesterine die met de gal wordt afgescheiden betrekkelijk gering is en zeker niet voldoende om dit kleine cholesterinegehalte van het bloed te verklaren.

Ten overvloede is dit door LEITES nog eens met getallen aangetoond.

Een mogelijke wisselwerking tusschen vormelementen en plasma van het bloed kan evenmin de oorzaak zijn voor dit verdwijnen van cholesterine uit het bloed, omdat ik steeds geheel bloed onderzocht.

Al wil ik mij allerminst er aan wagen een oplossing te geven voor dit zeker zeer belangrijke verschijnsel, toch wil ik een mogelijkheid opperen, die naar het mij toeschijnt het meest waarschijnlijk is.

Het zou mogelijk kunnen zijn, dat cholesterine een rol speelt als overdrager van vetzuren, op een wijze zooals men dat vermoedt van de phosphatides (LEATHES). Daarbij zou men zich kunnen voorstellen, dat de verbinding van cholesterine en vetzuur in de weefsels wordt afgezet, terwijl later de cholesterine weer wordt afgestaan aan het bloed.

Dit vraagstuk is nog te weinig onderzocht, om daaromtrent zekerheid te kunnen verkrijgen.

Tot slot van deze reeks van proeven heb ik bij een van die honden tevens nagegaan welke veranderingen werden waargenomen in de

grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides na een vetmaaltijd.

Ik vond daarbij een regelmatig en sterk toenemen van de hoeveelheid phosphatides in het bloed van 313 tot 373 mG. per 100 cc. gedurende den geheelen tijd der proefneming, zonder dat een toppunt van de waarde werd gevonden.

Hoewel de meeste onderzoekers vermelden, dat zij geen verandering konden waarnemen in het gehalte van het bloed aan phosphatides na een vetmaaltijd, kan ik toch de door mij waargenomen vermeerdering van phosphatides in het bloed niet aan een toevalligheid toeschrijven, gezien de nauwkeurigheid van de werkwijze en het gestadige sterke toenemen van de hoeveelheid phosphatides.

Men moet hierbij echter wel bedenken, dat men met de werkwijzen, die door andere onderzoekers zijn gebruikt om het gehalte van het bloed aan phosphatides na te gaan, niet alleen de hoeveelheid phosphatides onderzoekt, maar dat daarbij phosphorzuurbevattende verontreinigingen worden meegerekend.

Behalve dit gedrag der phosphatides stemmen de vormen van alimentaire hyperlipaemie, die ik bij mijn honden waarnam vrijwel overeen met hetgeen anderen (BLOOR, LEITES) hebben beschreven. Alleen treft het ons, dat LEITES de grootste waarde van het vetgehalte van het bloed na een vetmaaltijd zoo vroeg waarnam (1½ tot 3 uren na het toedienen van het vet), terwijl BLOOR dit pas na 5 tot 6 uren waarnam; dit laatste is geheel in overeenstemming met hetgeen door mij werd waargenomen.

Dit zoo snel vermeerderen van de hoeveelheid vet in het bloed na een vetmaaltijd, dat LEITES waarnam, kan ik alleen verklaren door aan te nemen, dat de honden naast den vetmaaltijd hun dagelijksch voedsel behielden, waardoor de maagbewegingen worden aangezet, zoodat het vet sneller in den darm kwam en werd opgenomen.

LEITES vermeldt dit evenwel niet.

Vervolgens deed ik proeven met twee honden waarbij de alvleeschklier was weggenomen, maar die voor de proefneming gruimen tijd in een goede lichaamstoestand verkeerden, door een dieet en zooveel insuline, dat de grootte van het suikergehalte van het bloed steeds om de 100 mG. per 100 cc. schommelde; voordat er proeven met deze dieren werden genomen kregen zij 24 uur geen insuline.

Aan deze honden werd een vetmaaltijd van 100 cc. olijf-olie gegeven met de maagslang, nadat de dieren 14 uren hadden gevast, terwijl ook op den dag van de proefneming alle voedsel werd onthouden.

De veranderingen die ik nu waarnam in het gehalte van het bloed aan vet zijn geheel anders dan die, welke ik regelmatig waarnam bij normale dieren na een vetmaaltijd en wijzen er zonder eenigen

twijfel op, dat de tolerantie voor vet aanzienlijk kleiner is geworden na het wegnemen van de alvleeschklier.

Bij een van deze honden had ik dezelfde proef verricht toen het dier nog in het bezit was van de alvleeschklier en ik kon dus de veranderingen in het bloed na een vetmaaltijd in den abnormalen toestand vergelijken met die, welke waren waargenomen, toen het dier nog normaal was.

Het bleek hierbij, dat na het toedienen van de olijf-olie het gehalte van het bloed aan vet veel sneller toeneemt en dat dit toenemen veel sterker is; zoo vermeerderde het vetgehalte van het bloed toen het dier normaal was van 1003 tot 1275 mG. per 100 cc. terwijl in den abnormalen toestand het vetgehalte vermeerderde van 1046 tot 1436 mG. per 100 cc. bloed.

Bovendien werd de grootste waarde voor het gehalte van het bloed aan vet reeds na 4 uren bereikt terwijl dit bij het normale dier pas na 5½ uur het geval was. Daarna neemt de grootte van het vetgehalte veel langzamer af dan in den normalen toestand van den hond werd waargenomen, zoodat na 9 uren nog niet de waarde van uitgang voor het gehalte van het bloed aan vet was bereikt, terwijl in den normalen toestand na 7½ uur het gehalte van het bloed aan vet ver beneden de waarde van uitgang was verminderd.

De veranderingen, die werden waargenomen in het gehalte van het bloed aan cholesterine en phosphatides, zijn niet karakteristiek en verschillen niet van hetgeen bij de normale dieren werd waargenomen.

De tweede hond zonder alvleeschklier dien ik onderzocht, gaf weer geheel andere veranderingen in het gehalte van het bloed aan vet te zien na een vetmaaltijd, maar ook die wijzen op een zeer kleine tolerantie voor vet.

Zeer snel na den vetmaaltijd neemt het gehalte van het bloed aan vet toe (van 1058 tot 1665 mG. per 100 cc. in 4 uren); daarna neemt de hoeveelheid vet in het bloed weer iets af en neemt vervolgens weer toe (tot 1775 mG.), terwijl na 9 uren nog niets te bespeuren is van een verminderen van de hoeveelheid vet in het bloed, iets wat zich bij normale honden nooit voordoet.

Van de veranderingen in de hoeveelheid cholesterine in het bloed is het van belang op te merken, dat tot tweemaal het grooter worden van het vetgehalte gepaard gaat met een afnemen van het cholesterinegehalte van het bloed.

Ook de hoeveelheid phosphatides in het bloed veranderde zeer eigenaardig na een vetmaaltijd.

Na een vermindering van 516 op 453 mG. per 100 cc. in 6 uren volgt een zeer snel vermeerderen tot 578 mG. in 3 uren tijd. Een verklaring voor deze eigenaardige verandering in het gehalte van

het bloed aan phosphatides, die ik nergens in de literatuur vermeld vond, kan ik niet geven.

Vervolgens deed ik bij drie honden de volgende proef.

Nadat bij deze dieren eerst de veranderingen, die in het bloed werden waargenomen na een vetmaaltijd, waren nagegaan, werd bij elk der honden dezelfde proef herhaald, terwij gelijktijdig met het vet zooveel insuline onder de huid werd ingspoten, dat het gehalte van het bloed aan suiker tot bijna de helft verminderde.

Terwijl deze honden alle drie een duidelijk vermeerderen van de hoeveelheid vet in het bloed te zien gaven na een vetmaaltijd zonder insuline, blijft dit grooter worden geheel achterwege, wanneer insuline werd ingespoten; in tegendeel, het vetgehalte van het bloed nam in deze drie gevallen iets af.

Bij een der honden verminderde het gehalte van het bloed aan suiker niet veel na de eerste inspuiting van 10 E. insuline. In overeenstemming daarmede werd ook het gehalte van het bloed aan vet na den vetmaaltijd iets grooter. Toen echter voor de tweede maal insuline werd ingespoten, zoodat het suikergehalte van het bloed tot op de helft verminderde, nam ook het vetgehalte van het bloed sterk af.

Deze feiten bewijzen m.i. zonder eenigen twijfel, dat insuline in staat is de tolerantie van honden voor vet aanzienlijk te vergrooten.

De veranderingen in het gehalte van het bloed aan cholesterine en phosphatides na een vetmaaltijd zijn zonder en met insuline-inspuiten practisch dezelfde te noemen.

Deze waarnemingen zijn vrijwel in overeenstemming met de uitkomsten van het onderzoek van BLOOR, dat eveneens aan honden werd verricht.

Ze zijn echter geheel in strijd met de bevindingen bij lijders aan suikerziekte. (BLIX, HARTMANN). Volgens deze laatste onderzoekers zou de tolerantie voor vet bij lijders aan suikerziekte niet kleiner zijn, dan die van normale personen.

Ten slotte heb ik bij een van deze honden zonder alvleeschklier, die ik tot mijn beschikking had, nog eens de alimentaire hyperlipaemie nagegaan, maar nu met inspuiten van zooveel insuline, dat het gehalte van het bloed aan suiker van 350 mG. per 100 cc. verminderde op 39 mG.

Terwijl het dier zonder dat insuline werd ingespoten na een vetmaaltijd een zeer sterk toenemen van het gehalte van het bloed aan vet vertoonde, was hiervan geen sprake toen insuline werd ingespoten. Integendeel, het vetgehalte van het bloed nam na den vetmaaltijd zeer sterk af (van 1384 tot 781 mG.), waarschijnlijk doordat te veel insuline was gegeven (het suikergehalte van het bloed verminderde tot 39 mG. per 100 cc.).

De tolerantie voor vet, die bij dezen hond zonder alvleeschklier

aanzienlijk was verminderd, kon dus door het inspuiten van insuline weer geheel worden hersteld.

Ook hier waren de veranderingen, die ik waarnam in het gehalte van het bloed aan cholesterine en phosphatides in beginsel niet verschillend van die, welke werden waargenomen zonder dat insuline werd ingespoten.

Deze proef is, voor zoover mij bekend, tot nu toe niet verricht.

In het kort samengevat, zijn de uitkomsten van mijn proeven als volgt.

1. Bij normale honden vond ik zeer uiteenloopende waarden voor het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen.

2. Bij eenzelfde dier op verschillende dagen onderzocht vond ik ongeveer dezelfde uiteenloopende waarden voor het gehalte van het bloed aan deze stoffen.

3. Bij eenzelfden hond vond ik, dat het gehalte van het bloed aan vet en phosphatides binnen 7 uren niet veel verandert, terwijl de hoeveelheid cholesterine eenigszíns toeneemt.

4. Wanneer insuline werd ingespoten bij normale dieren, kon ik geen verandering van beteekenis waarnemen in het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen.

5. Het toedienen van een vetmaaltijd aan nuchtere vastende honden brengt typische veranderingen te weeg in het gehalte van het bloed aan vet en vet-achtige stoffen, die voornamelijk hierin bestaan: een toenemen van de hoeveelheid vet, die de grootste waarde na 5 tot 6 uur bereikt en na 9 uur weer tot de waarde van uitgang of iets kleiner is teruggekeerd; een toenemen van het cholesterine-gehalte met opvolgend afnemen, waarvan de kleinste waarde overeenkomt met de grootste waarde voor het bloedvetgehalte; na dit afnemen volgt weer een regelmatig toenemen van de hoeveelheid cholesterine in het bloed.

6. NA HET WEGNEMEN VAN DE ALVLEESCHKLIER IS DE TOLERANTIE VOOR VET AANZIENLIJK VERMINDERD.

7. DOOR HET INSPUITEN VAN INSULINE KAN DE TOLERANTIE VOOR VET ZEER VERSTERKT WORDEN.

8. DOOR HET INSPUITEN VAN INSULINE BIJ EEN HOND ZONDER ALVLEESCHKLIER KON DE VERMINDERDE TOLERANTIE VOOR VET WEER WORDEN HERSTELD.

DISCUSSION OF THE RESULTS OBTAINED.

In the foregoing article I have, in the first place, tried to give a general view of the present state of our knowledge on metabolism of fats, cholesterine and phosphatides.

Subsequently I discussed the different facts, which tend to prove that the metabolism of fats is closely connected with that of carbohydrates. In a following chapter I discussed the existing methods for finding out the fat-content of blood and tried to compare their different values. The following conclusions were drawn: The old methods of weight-analysis are not practicable for most of the research work, as they require too much blood.

The nephelometric methods (BLOOR, BING and HEKSCHER) are not accurate. It is necessary for a good comparison of the opaqueners, that the standard fluid does not differ much from the fluid we have to examine.

As this however will generally be the case, we make mistakes, for the fatty-acid particles clog together and precipitate. Moreover work with the nephelometer offers practically and theoretically so many disadvantages, that we may consider these methods as entirely deserted. By the titrimetric methods we have mentioned those which are founded on a carburation of fat by means of a powerful oxydation mixture. (BANG and BLOOR). These methods have the great disadvantage, that impurities play a very important part, and moreover that for the calculation we met a coefficient which varies according to each different worker. This coefficient is necessary as the oxydation of the fat is not complete; that is to say, does not go as far as carbondioxide and water. Finally two methods have been thought out lately, which are both founded on the following principle: The fat is extracted from the blood and purified; subsequently it is saponified and the quantity of fatty acid thereby generated titrated, from which we can easily calculate the quantity of fat, which was present in the blood. I used this last principle for my research in almost the manner described by STEWART and WHITE, with a few alterations. We know since the work of KUMAGAWA and SUTO that alcohol is the best medium for extracting fats as completely as possible from the blood, that it has at the same time, the disadvantage that a great many impurities come out with it;

we also know that petroleum-ether is the medium to extract fats purely from the blood, but that it leaves a considerable quantity behind. Considering these facts I have chosen a method of working, which comprises the advantages, but leaves out the disadvantages of these two extract mediums. The blood was first treated with alcohol-ether at boiling temparture and the filtrate of this extract evaporated until dry; subsequently this dry rest was extracted with petroleum-ether. A portion of this dry rest does not dissolve in petroleum-ether and proved to contain neither fat nor fatty substance.

While STEWART and WHITE needed 2 cc. of blood, I wanted only 0,2 cc. To this purpose it was necessary to make a few alterations in the burette, which was used by the above mentioned workers and the principle of which, however, was invented by REHBERG. Working according to this method I succeeded in most cases in obtaining corresponding results in parallel experiments. A few times the values found differ widely without any detectable cause. I therefore only used findings, obtained in parallel experiments with well-coinciding results. Subsequently the methods were discussed for determining the cholesterine content of the blood. These are numerous, do not differ much in principle and are all founded on the colour-reaction of LIEBERMANN—BURCHARD. I added one more to this list, founded on the same colour-reaction, but for which I only needed 0,4 cc. of blood. A great disadvantage of the existing methods is a brown discoloration in the chloroform extract of blood, which makes comparison of the colours inaccurate and difficult, sometimes even impossible.

In my experiments I therefore first evaporated the petroleum-ether extract of blood until dry and saponified this dry rest, after which the chloroform-extract was entirely colourless. Experiments showed that no cholesterine was lost in this manner. I borrowed this principle from the work of BIERICH DETZEL and LANG, who used it for the first time in their research work on the cholesterine content of tumor-tissue. Although in general well-coinciding results were found in parallel experiments, the findings sometimes again varied greatly, without a perceptible cause.

For the determination of the phosphatide content of the blood not many methods exist.

Besides the oxydation methods of BANG and BLOOR, which are carried out in the same manner as described in the examination of the fat content of the blood and which therefore have the same disadvantages, a few methods of LEIBOFF exist which do not differ one from the other in principle.

This worker extracts the phosphatides from the blood with the alcohol-ether mixture, destructs this extract with sulfuric acid and

peroxide of hydrogen and subsequently examines the quantity of phosphoric acid, thereby obtained.

The disadvantage of this method lies in the manner in which the extract has been made from the blood, as impurities containing phosphorus are found in it.

I therefore first precipitated the phosphatides in this extract with aceton and magnesium-chloride and afterwards examined the quantity of phosphoric acid in this precipitate. MAC LEAN and BLOOR have shown that the phosphatides are practically entirely precipitated by aceton and magnesium-chloride. To ditermine the phosphoric acid I used the method of F. F. TISDALL.

Although the quantity of blood I used, in determining the phosphatide content was only 0,2 cc.; this method proved to be very accurate and always gave coinciding results in parallel determinations. In the subsequent chapters experiments are described, which I performed on dogs with the following results. On four different dogs of middling size, which all got mixed food, and lived under the same conditions, the fat content of the blood was examined at different times of the day, after the animals had fasted for 14 hours and had received no food on the day of the experiment. I found very varying values for the fat-content of the blood in different animals: the highest value being 1089 m.G. and the lowest 381 m.G. per 100 cc. of blood.

The cholesterine content of the blood in these animals appeared to vary less; the highest value was 180 mG. the lowest 128 mG. per 100 cc. of blood; while the phosphatide content showed values varying from 313 mG. to 350 mG. per 100 cc. of blood.
On examining the same animal on different days, practically the same varying results were found in the fat content of the blood, while in the phosphatide and cholesterine content the variations were somewhat smaller than those found in different dogs.

I further examined the changes in fat-, cholesterine- and phosphatide-content of the blood, which may be detected in dogs in the course of 12 hours. It appeared that great changes can take place. In one dog the fat-content rose from 1003 mG. to 1088 mG. per 100,cc. of blood in 7 hours, while the quantity of phosphatides rose from 346 to 351 mG.: the rise in cholesterine content being much more considerable in the same period, vid from 142—182 mG. per 100 cc.

In another dog the fat content also rose, very slightly in the course of 5 hours, but contrary to the former experiment, the cholesterine content fell in 1½ hours from 150 to 121 mG. per 100 cc. rising again during the following 3½ hours to 177 mG.

When I repeated this experiment with the same dog about 1½ months later quite different variations in the content of fat and fatty

substances in the blood appeared. The fat content fell from 947 to 685 mG. per 100 cc., the cholesterine from 158 to 145 mG. and the phosphatide content from 350 to 324 mG. per 100 cc. of blood.

I repeated this experiment with a third dog, but began by injecting so much insuline, subcutaneously, that the sugar content of the blood was lowered almost to the half. The fat, cholesterine and phosphatide content of the blood underwent practically no change.

I then did several experiments on three dogs of middling size. (weight 20 to 30 K.G.), which had fasted for 14 hours before the work began and then got a meal of fat, consisting of 100 cc. of olive oil, administered through a stomac tube.

After this meal characteristic changes in the content of fat and fatty substances of the blood were constantly seen. This content rises and reaches its highest value in 5 to 6 hours. The rise itself varies greatly. In one dog the fat content rises from 721 to 992 mG. per 100 cc., in the second from 1003 to 1275 mG. and in the third from 385 to 1165 mG. per 100 cc. of blood.

I repeated the experiment again with one dog, but administered 170 cc. of olive oil, with a stomac tube, instead of 100 cc. I found that the fat content first fell from 783 to 412 mG. in 1½ hours to rise subsequently, to 1022 mG. in 2 hours, after which it again fell to somewhat below the value found at the beginning of the experiment. This so called „hypolipaemic phase", which LEITES almost always found in his experiments on alimentary hyperlipaemic; I only saw once. I always found very curious changes in the cholesterine content of the blood. After the fat-meal this rises a little in the beginning, and falls afterwards, reaching its lowest value at the moment that the fat content is at tis highes.

I always saw this curious change in the cholesterine content of the blood in dogs, which had received a meal of fat, not only when the animals were under normal conditions, but also after insuline had been injected or when the pancreas had been removed.

LEITES, who saw this phenomenon first, has tried to explain it by supposing that cholesterine turns into fat.

This simple explanation cannot satisfy me, as I cannot understand why cholesterine should at a given moment, turn into fat, while a few hours later on the opposite change takes place, and why should still more fat be made in the body, when the intestinal canal absorbs so much of it?

The most obvious explanation would be the following through this great quantity of fat in the intestinal canal a great deal of gall is secreted which might perhaps absorb a lot of cholesterine from the blood. Such a line of througt can however, not satisfy us, as the quantity of cholesterine which is secreted with the gall is com-

paratively small and certainly not sufficient to explain the low cholesterine content of the blood.

LEITES has proved this with figures. A possible exchange between the form-elements of the blood and the plasm can also not be the cause of this disappearance of cholesterine out of the blood, as I always examined the entire blood.

Although I do not pretend to give a solution for this very important phenomenon, I may perhaps suggest a possibility, which in my mind is the most probable one.

It might be possible that cholesterine plays the part of carrier of the fatty acids in the same manner as that supposed to belong to the phosphatides (LEATHES.) We could then imagine that the composition of cholesterine and fatty acid is deposited in the tissues, while later on the cholesterine is again returned to the blood.

This question has as yet, been too little invesigated to be able to obtain any certainty on the fact. Finally I investigated which changes took place in the phosphatide content of the blood after a fat-meal. I found a regular and considerable increase in the phosphatide content from 313 to 373 mG. per 100 cc., during the whole duration of the experiment, without being able to find a maximum of the value.

Although most workers state that they could find no change in the phosphatide content of the blood after a meal of fat, I cannot ascribe the increase, which I noted in phosphatides in the blood to a coincidence, as the method used was a very accurate one, and the phosphatide content showed a regular and considerable increase.

One must, however, consider that in the methods used by other workers it is not only the phosphatides, which are determined, but also impurities, containing phosphoric acid.

Besides this behaviour of the phosphatides the forms of alimentary hyperlipaemia, which I found in my dogs practically coincided with the facts described by others (BLOOR, LEITES.). We are only struck by the fact, that LEITES noted the highest value of the fat content of the blood at such an early stage. ($1\frac{1}{2}$ to 3 hours after administering the fat), while BLOOR only noticed this after 5 to 6 hours. The latter entirely coincides with my observations.

I can only explain this rapid increase in the quantity of fat in the blood after a meal of fat, as observed by LEITES, by accepting that the dogs had their daily food besides the fat meal: thus stimulating the stomach movements so, that the fat arrived in the intestinal canal and was absorbed quicker. LEITES however does not mention this.

Subsequently, I did experiments with two dogs, whose pancreas gland had been removed, but who had been in good condition for an considerable time, before the experiments began, by keeping

diet and with the help of insuline, so that the sugar content of the blood almost vacillated about 100 mG. per 100 cc. Before the experiments began, these animals got no insuline during 24 hours.

These dogs were given a meal of fat of 100 cc. of olive oil with a stomach tube, after having fasted for 14 hours, while all food was also withheld on the day of the experiment.

The changes I Now observed in the fat-content of the blood are quite different to those, which I found in normal animals after a meal of fat and without any doubt-point to the fact, that the tolerance for fat becomes considerably smaller by removing the pancreas.

I had experimented on one of these dogs, while the animal still possessed a pancreas-gland and I was therefore able to compare the changes in the blood after a meal of fat, during normal and abnormal conditions.

It appeared that after administering the olive-oil, the fat content of the blood increases much faster and reaches a higher value, thus the fat content of the blood increased from 1008 to 1275 mG. per 100 cc., while the animal was normal, while in its abnormal condition the fat content rose from 1046 to 1436 mG. per 100 cc. of blood.

Moreover the highest value for the fat content was reached after 4 hours, while this only took place after 5½ hours in the normal dog. Then the fat content falls at a slower rate than during the dog's normal condition, so that in 9 hours' time the initial value of the fat content of the blood had not yet been reached, while in the normal condition in 7½ hours' time this fat content had fallen far below the initial value.

The changes observed in the cholesterine and phosphatide content of the blood are not characteristic and do not differ from what was found in normal animals. The second dog without pancreas, which I examined, showed quite different changes in the fat content of the blood a fat meal, these also point to a very low tolerance for fat. Very soon after the meal of fat, the fat content of the blood increases (from 1058 to 1665 mG. per 100 cc. in 4 hours); subsequently it decreases a little to rise again to 1775 mG., while after 9 hours, nothing is to be seen of this decrease, a thing, which is never observed in normal dogs. It is of some importance to note that twice the increase in fat content is accompanied by a decrease in the cholesterine content of the blood.

The phosphatide content also showed very curious changes after a meal of fat.

After a decrease of 516 to 453 mG. per 100 cc. in 6 hours follows a rapid increase to 578 mG. in 3 hours' time. I cannot give an explanation for this strange change in the phosphatide content, which I found mentioned nowhere in the literature on the subject.

Subsequently I did the following experiment on three dogs.

After I had observed the changes, which took place in the blood of these animals after a meal of fat, I repeated the same experiment with each dog this time, administering the fat while simultaneously so much insuline was injected subcutaneously, that the sugar content of the blood was reduced to almost the half.

While all these three dogs showed a distinct increase of the fat content of the blood after a meal of fat, without insuline, this rise was entirely lacking when insuline was injected: the fat content even falling slightly.

In one of these dogs the sugar content of the blood did not diminish much after the first injection of 10 units of insuline. In agreement the fat content rose slightly after the meal of fat, but when the sugar content fell to the half of its former value after the scond injection of insuline, the fat content diminished greatly. These facts prove without any doubt that insuline is able to increase the tolerance of dogs for fat very considerably.

We may consider the changes in the cholesterine and phosphatide content of the blood after a meal of fat to be the same, whether insuline is injected or not. These observations practically correspond with the results obtained by BLOOR, who also used dogs. They are however quite in contradiction to the findings in diabetes patients. (BLIX, HARTMANN.) According to these workers the fat tolerance in diabetes patients is not lower than in normal persons. Finally I once more tested the alimentary hyperlipaemia in one of these dogs, without a pancreas gland, but now I injected so much insuline, that the sugar content of the blood fell from 250 mG. to 39 mG. per 100 cc., while this animal showed a very great rise in the fat content after a meal of fat, when no insuline had been injected, now that insuline had been given, there was no question of such a rise. On the contrary the fat content fell considerably after the meal of fat, (from 1384 to 781 mG. probably because too much insuline had been given. (the sugar content of the blood decreased to 39 mG. per 100 cc.)

The tolerance for fat, which had considerably diminished in this dog without a pancreas, could be entirely reestablished by injecting insuline. Here also the changes I observed in the cholesterine and phosphatide-content of the blood did not in principle differ from those, seen without insuline-injection. This experiment has, as far as I know, not been carried out up till now.

In short the results of my experiments are as follows:

1. In normal dogs I found the most different values for the content of fat and fatty substances in the blood.
2. I found approximately the same varying values, for the quantity

of these substances in the blood when examining the same animal on different days.

3. In the case of one dog I found, that the content of fat and phosphatides did not change much during 7 hours, while the quantity of cholesterine rose slightly.

4. When normal animals received insulin-injections, I could observe no change of any importance in the content of fat and fatty substances.

5. By administering a fat-meal to fasting dogs, we obtain typical changes in the content of fat and fatty substances in the blood, changes, which consist chiefly of the following: A rise in the quantity of fat, which reaches its highest value after 5 to 6 hours, and after 9 hours again falls to the initial value or below it; an increase in the cholesterine content with successive decrease, the lowest value corresponding to the highest value of the fat content of the blood. After this decrease follows a regular increase of the quantity of cholesterine in the blood.

6. After removing the pancreas the tolerance for fat is considerably diminished.

7. By injecting insuline the tolerance for fat can be considerably increased.

8. By injecting a dog without pancreas the decreased tolerance for fat can be reestablished.

ALPHABETISCHE LITERATUURLIJST

L. ABELIN en P. KÜRSTEINER. Biochem. Ztschr. 198. 19. 1928.
Idem. 199. 103. 1928.
M. ABELMANN. Inaug. Diss. Dorpat. 1890.
E. ABDERHALDEN.. Lehrbuch der physiol. Chem. URBAN und SCHWARZENBERG. blz. 80. 1931.
H. ARNDT. Ztschr. f. exper. Med. 54. 391. 1927.
E. MC. ARTHUR. Journ. o. biol. Chem. 87. 299. 1930.
M. ARTHUS. Journ. d. Physiol. et Pathol. 4. 455. 1902.
L. ASCHOFF. Beitr. pathol. Anat. 47. 1. 1910.
W. AUTHENRIETH en C. FUNK. Münch. Med. Wschr. 23. 1243. 1913.
BABINGTON en MARIET. gecit. NASSC. Untersuch. z. Physiol. u. Pathol. blz. 300. gecit. NAUNYN. a.a.o.s. 239.
BACMEISTER. Bioch. Ztschr. 26. 223. 1910.
J. BAER en L. BLUM. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac. 55. 89. 1906.
Idem. 56. 92. 1906.
Idem. 59. 321. 1908.
J. BANCROFT. Ergebn. d. Physiol. 1. 699. 1900.
L. BANG. Chemie und Biochemie der lipoide. Wiesbaden. BERGMANN. 1911.
Micromethoden zur Bestimmung einige Blutbestandteile. BERGMANN. 1916.
Bioch. Ztschr. 91. 86. 1918.
Idem. 91. 104. 1918.
Idem. 91. 235. 1918.
Idem. 91. 111. 1918.
Idem. 94. 359. 1919.
Biochemie der Zelllipoide. Ergebn. d. Physiol. 6. 131. 1907.
Idem. 8. 463. 1909.
F. BANTING e.a. Transact. Roy. Soc. Canada. Sect. 5. 1922. Univers. Toronto.
K. BARRENSCHEEN, F. DOLESCHALL en L. POPPER. Bioch. Ztschr. 177. 39. 1926.
E. J. BAUMANN. Journ. o. biol. chem. 59. 667. 1924.
R. D. BELL en E. A. DOISY. Journ. o. biol. chem. 44. 55. 1920.
S. R. BENEDICT en R. C. THEIS. Journ. o. biol. chem. 61. 63. 1924.
S. BERGEL. Bioch. Ztschr. 130. 533. 1922.
CL. BERNARD. Journ. o. biol. chem. 35. 15. 1918.
C. R. d. l. Acad. d. Sciences p. 470 et 490. 1856.
W. BEUMER en F. LEHMANN. Ztschr. f. exper. Med. 37. 274. 1923.
W. BIEDERMANN. Ergebn. d. Biol. 2. 497. 1927.
R. BIERICH, A. DETZEL en A. LANG. Ztschr. f. Physiol. Chem. 201. 157. 1931.
H. BING en H. HEKSCHER. Bioch. Ztschr. 149. 79. 1924.
F. S. BISSEL. Journ. amer. med. Assoc. 75. 1638. 1920.
N. BLATHERWICK. Journ. o. biol. chem. 49. 193. 1921.
G. BLIX. Skan. Arch. f. Physiol. 48. 267. 1926.
Studies on diabetic lipaemia. London. 1925.

W. R. BLOOR. Journ. o. biol. chem. 15. 105. 1913.
Idem. 17. 377. 1914.
Idem. 23. 317. 1915.
Idem. 24. 227. 1916.
Idem. 25. 577. 1916.
Idem. 52. 191. 1922.
Idem. 68. 33. 1926.
Idem. 72. 327. 1927.
Idem. 75. 61. 1927.
Idem. 77. 53. 1928.
Idem. 80. 443. 1928.
Idem. 82. 273. 1929.
Physiologic. Rev. 2. 92. 1923.
W. R. BLOOR en KNUDSON. Journ. o. biol. chem. 27. 107. 1916.
M. BODANSKY. Proc. Soc. f. exp. Biol. a. Med. 28. 631. 1930/31.
E. BOGDANOW. Arch. f. d. ges. Physiol. 68. 431.
A. BOKAY. Ztschr. f. physiol. Chem. 1. 157. 1877.
W. BOLDYREFF. Ergebn. d. Physiol. 11. 140. 1911.
S. BONDI en A. NEUMANN. Wien. klin. Wschr. 1910. blz. 734.
L. BOSMAN en MERTEN. Ztschr. f. Nahrungsmitt. 43. 101. 1922.
BREHME en LEPSKY. Klin. Wschr. dl. 6. blz. 1905. 1906.
E. LE BRETON. Bull. Soc. Chim. Biol. 3. 539. 1921.
A. P. BRIGGS. Journ. o. biol. chem. 53. 13. 1922.
TH. BRUGSCH en MASUDA. Ztschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 8. 617. 1911.
H. BURCHARD. Beitrag zur Kenntnis des Cholesterins. Diss. Rostock. 1899.
M. BÜRGER en H. BEUMER. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac. 71. 311. 1913.
L. CHAIKOFF en J. WEBER. Journ. o. biol. chem. 76. 813. 1928.
W. CHAMBERS en H. DEUEL. Journ. o. biol. chem. 65. 21. 1905.
A. CHAUFFARD. Presse Méd. No. 30. 1922.
A. CHAUVEAU en M. KAUFMANN. C. R. Acad. Sciences. 122, 429, 594, 1098, 1163. 1896.
CHRISTISON EDINBURGH. med. a. surg. journ. 39. 1831.
A. CHRISTOMANOS. Bioch. Ztschr. 214. 482. 1929.
A. CLEMENTI. Arch. di fisio. 21. 471. 1923.
MC. CLENDON. Journ. o. Physiol. 38. 191. 1922.
C. MC. CLURE en M. HUNTSINGER. Journ. o. biol. Chem. 76. 1. 1929.
A. COHNSTEIN. Arch. f. Anat. u. Physiol. 30. 1899.
J. COLLAZO en M. HAENDEL. Dtsch. med. Wschr. 1923. II. blz. 1546.
L. CONDORELLI. Riforma Med. 38. 746. 1922.
C. CONSTANZI en S. ANTONUCCI. Arch. di farmac. sperim. e sciense. 40. 220. 1925.
L. CRANDALL en I. SHERRY. Proc. Soc. f. exp. biol. a Med. 28. 572. 1931.
M. CREMER. Münch. med. Wschr. 1902. blz. 944.
J. CROHNHEIM. Ztschr. f. physik. u. diaet. Therap. 14. 257. 1910.
F. CSONKA. Journ. o. biol. chem. 24. 431. 1916.
Idem. 34. 577. 1918.
FR. CZAPEK. Ber. deutsch. Bot. Ges. 37. 207. 1919.
H. DAKIN. Journ. o. biol. chem. 4. 77. 1908.
A. DANNINGER. Pflüger's Arch. 220. 430. 1928.
A. DASTER. Arch. d. Physiol. 2. 315. 1890.
Idem. 3. 186. 1891.
F. DELOUGNE. Arch. f. exp. Pathol. und Pharmac. 159. 131. 1931.
G. DENIGES. Bull. d. l. Soc. d. Pharm. d. Bordeaux. 1903.
W. DIETZ. Ztschr. f. physiol. Chem. 52. 279. 1907.
M. DOBSON. Medic. Observ. by a Soc. of Physic. London. 1775.
M. DE DOMINICIS. Atti Congr. Intern. Med. vol. 3. 39. 1894.

C. DORMEYER. Arch. f. d. ges. Physiol. 61. 341.
Idem. 65. 90.
D. R. DRURY en F. MC. MASTER. Journ. o. exper. Med. 49. 765. 1929.
R. DUBOIS. C. R. Soc. Biol. 46. 821. 1894.
R. EHRMANN en H. KRUSPE. Berl. klin. Wschr. 50. 1111. 1913.
G. EMBDEN. Hofmeister's Beiträge. 8. 129. 1906.
Idem. 11. 318. 1908.
Ztschr. f. physiol. Chem. 113. 138. 1921.
H. EPPINGER, W. FALTA en C. RÜDINGER. Ztschr. f. klin. Med. 66. 1. 1908.
G. ERRICO. Arch. di Fisiol. 4. 513. 1908.
JOH. FEIGL. Bioch. Ztschr. 88. 53. 1918.
Ztschr. f. ges. Exp. Med. 9. 178. 1920.
T. VON FELLENBERG. Bioch. Ztschr. 188. 365. 1927.
A. V. FETEKE. Pflüger's Arch. 139. 211. 1911.
B. FISCHER. Virchow's Arch. 172. 30 en 218. 1903.
Arch. f. Pathol. Anat. u. Physiol. 172. 30 en 218. 1903.
A. FLEISCH. Bioch. Ztschr. 177. 453. 1926.
W. FLEISCHMANN. Bioch. Ztschr. 200. 25. 1928.
N. FLETCHER en F. HOPKINS. Proc. o. the Roy. Soc. o. London. 89. 444. 1917.
F. FONSECA. Dtsch. med. Wschr. 1. 362. 1924.
J. FORBES en V. RICHMOND. Journ. o. Lab. a. Clin. Med. 16. 520 en 909. 1931.
H. FÖRSTER. Bioch. Ztschr. 146. 562. 1924.
H. H. FRANCK. Münch. Med. Wschr. 65. 1216. 1918.
O. FRANK. Ztschr. f. Biol. 35. 549. 1897.
Idem. 36. 568. 1898.
Arch. f. Anat. u. Physiol. 1892. blz. 497 en 1894. blz. 297.
O. FRANK en A. ARGYRIN. Ztschr. f. Biol. 59. 143. 1912.
FRASER en J. GARDNER. Proc. Roy. Soc. Biol. 81. 230. 1920.
Idem. 82. 559. 1920.
F. FRERICKS. Wagner's Handwörterbuch der Physiol. Bd. 3. S. 842.
A. FROSCHBACH en G. SCHÄFFER. gecit. naar GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 21. 1 en 27. 274.
O. FÜRTH. Hofmeister's Beiträge. 4. 430. 1903.
O. FÜRTH en E. SCHÜLL. Bioch. Ztschr. 222. 430. 1930.
T. FURUKO. The journ. o. Bioch. 13. 185. 1931.
H. E. GADE. *Biblio.* LOEGER KØBENK. 91. 1.
S. GAGE en P. FISH. Americ. Journ. o. Anat. 34. 1. 1924.
H. GEELMUYDEN. Ergebn. d. Physiol. 21. 1 en 274. 1923.
Idem. 26. 1. 1928.
Idem. Scand. Arch. f. Physiol. 40. 211. 1922.
A. GETTLER en W. BAKER. Journ. o. biol. chem. 25. 211. 1916.
W. GIES en ROSENBLOOM. Bioch. Bull. 1. 270. 1911/12.
R. GIBSON en ESTES. Journ. o. biol. chem. 6. 349. 1909.
K. GLASSNER en S. SINGER. Medizin. Klin. 1909. No. 51.
W. GLIKIN. Arch. f. d. ges. Physiol. 95. 107. 1903.
L. GOLODITZ. Chemiker Zeit. 32. 160. 1908.
Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41. 252. 1908.
W. GRAHAM en E. EMERY. Journ. o. lab. a. clin. Med. 13. 1097. 1928.
E. GRAUPNER. Dissert. Göttingen. 1898.
A. GRIRAUT. C. R. d. l. Soc. d. Biol. 7. 5. 791. 1910.
Idem. 14. 5. 827. 1910.
Idem. 18. 11. 441. 1911.
A. GRUN. Analyse der Fette und Wachse. Bd. 1. Berlin. Springer. 1925.
M. GRUGGENHEIM en W. LÖFFLER. Bioch. Ztschr. 74. 208. 1916.

H. HAEHN en W. KINNTOF. Chem. Ber. 56. 439. 1923.
Chemie der Zelle und Gewebe. 12. 115. 1925.
H. J. HAMBURGER. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1900. blz. 554.
A. HAMSIK en M. LOMBROSO. Ztschr. f. physiol. Chem. 90. 489. 1914.
H. HAMSIK. Ztschr. f. physiol. Chem. 59. 1. 1909.
Idem. 65. 232. 1910.
Idem. 71. 238. 1911.
M. HANRIOT. C. R. Soc. Biol. 48. 925. 1896.
C. R. Acad. d. Science. 123. 753. 1896.
M. HANRIOT en L. CANNUS. C. R. de l'Acad. d. Sciences. 124. 235. 1897.
M. HANRIOT, J. KASTLE, A. LOEWENHART, O. MOHR en H. POTTEVIN. Annal. Instit. Pasteur. 22. 901. 1906.
A. HARNES. Journ. o. biol. chem. 77. 408. 1928.
E. HARTLEY. H. o. Physiol. 36. 17. 1907.
Idem. 38. 353. 1909.
E. HARTLEY en W. BLOOR. Journ. o. Physiol. 32. 734. 1903.
H. HARTMANN. Bioch. Ztschr. 146. 307. 1924.
E. HEDON. Arch. d. Physiol. p. 622. p. 623. 1897.
E. HEDON en J. VILLE. Arch. d. Physiol. 9. 606. 1897.
F. HEINSHEIMER. Dtsch. med. Wschr. 52. 1194. 1906.
HENES. Proc. N. Y. Path. Soc. 13. 155. 1913.
M. HENZE. Ztschr. f. Physiol. Chem. 41. 109. 1904.
Idem. 55. 427. 1908.
J. HEPNER en O. WAGNER. Bioch. Ztschr. 189. 322. 1927.
Idem. 193. 187. 1927.
HERDUSCHKA en STEINRÜCK. H. for pract. Chem. 2. 102 en 241. 1921.
TH. E. HESS-THAYSSEN. Bioch. Ztschr. 62. 89. 1914.
J. W. LE HEUX. Pflüger's Arch. 179. 177. 1920.
Idem. 190. 280. 1921.
W. HEWSON. Disquis exper. de Sanguinis natura Ludy Batav. blz. 145. 1785.
A. HILL. Ergebn. d. Physiol. 15. 340. 1916.
HIRSCHSOHN. Pharm. Centralbl. 43. 357. 1902.
K. HIRUMI. Bioch. Ztschr. 139. 336. 1923.
A. HOLTZ. 36. Tagung der deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde.
HOPPE-SEYLER. Ztschr. f. physiol. Chem. 3. 351. 1877.
Thierfelder Handbuch der Physiol und Pathol. Chem. Analyse. Springer. 1924. blz. 104.
Lehrbuch der Physiol. Chem. Aanalyse. 1903.
Y. HORINCHI. Journ. o. biol. chem. 44. 345. 1920.
M. HULL en W. KEETON. Journ. o. biol. chem. 32. 127. 1917.
A. A. HYMANS v. D. BERG. Voordrachten over suikerziekte. Oosthoek. Utrecht '30.
ROC. O IRISH en J. BOYD. Journ. o. biol. chem. 67. 579. 1926.
H. ISCOVESCO. Comot. Rend. Soc. Biol. 72. 920. 1912.
C. R. d. l. Soc. d. Biol. 1908.
A. JARISCH. Bioch. Ztschr. 134. 163. 1922.
H. JASTROWITZ. Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 27. 276. 1922.
B. JENSEN. Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde. 1913. blz. 711.
I. JOANNOVICS en P. PICK. Wien. klin. Wschr. 16. 573. 1910.
Idem. 23. 5731. 1910.
H. JOST. Ztschr. f. physiol. chem. 197. 790. 1931.
L. KAHLENBERG. Journ. o. biol. chem. 52. 217. 1922.
R. KAHN. Proc. o. the Soc. exp. Biol. a. Med. 19. 265. 1922.
Amer. Journ. o. med. Science. 166. 826. 1923.
Arch intern. Med. 36. 44. 1925.
S. KATSURA en T. HATAKEYAMA. Bioch. Ztschr. 234. 462. 1931.

W. KLEIN en L. DINKIN. Ztschr. f. physiol. Chem. 92. 302. 1904.
F. KNOOP. Hofmeister's Beiträge. 6. 150. 1905.
E. KOBUS. Het bloedvet bij kinderen, gemeten in monomoleculaire laag. Diss. Leiden. 1926.
M. KOCH-MEEKIN. Journ. Am. Chem. Soc. 46. 2066. 1924.
J. KOLTHOFF. Der Gebrauch von Farben-indikatoren.
A. KOSSEL en K. OBERMUELLER. Ztschr. f. physiol. Chem. 14. 559. 1890.
Idem. 15. 321. 1891.
O. KOSTYAL. Magg. arv. Arch. 27. 286. 1926.
S. KRASTELEWSKY. Bioch. Ztschr. 143. 403. 1923.
FR. KRAUS. Virchow's Arch. 247. 1. 1908.
L. KREHL. Arch. f. Anat. und Physiol. 1. 97. 1891.
A. KROGH. Skand. Arch. f. Physiol. 20. 279. 1908.
A. KROGH en J. LINDHARD. Bioch. Journ. 14. 290. 1920.
M. KUMAGAWA en K. SUTO. Bioch. Ztschr. 8. 212. 1908.
E. LAFON. C. R. Acad. d. Sciences. 156. 1248. 1913.
W. LAMB. Journ. o. Physiol. vol. 40. 1910.
M. LANDAU. Die Nebennierenrinde. Jena. 1915.
J. LANG en F. FENGER. J. Amer. Chem. Soc. 39. 1278. 1917.
J. DE LANGEN en W. SCHUT. Mededel. geneesk. lab. te Weltevreden. 3de serie. 1919. no. 2.
E. LAQUEUR. Hofmeister's Beiträge. 8. 281. 1911.
MAC. LEAN. Bioch. Journ. 6. 355. 1912.
Idem. 8. 453. 1914.
Idem. 9. 351. 1915.
Bioch. Ztschr. 57. 134. 1913.
J. B. LEATHES. Journ. o. Physiol. 38. 370. 1909.
The Fats. London. 1913.
Problems in animal metabolism. London. 1906.
The Lancet. 1909. blz. 593.
J. B. LEATHES and RAPER. The Fats. sec. edit. London. 1925.
J. B. LEATHES and MEYER-WEDELL. Journ. o. Physiol. 38. proc. 38. 1909.
J. J. v. LEEUWEN. Dissert. Leiden. 1930.
S. L. LEIBOFF. Journ. o. biol. chem. 61. 177. 1924.
Idem. 79. 611. 1928.
Idem. 80. 211. 1928.
Journ. Lab. a. Clin. Med. 10. 857. 1925.
Idem. 11. 777. 1925.
Idem. 15. 776. 1929.
S. LEITES. Bioch. Ztschr. 184. 273. 1927.
Idem. 184. 310. 1927.
Idem. 186. 436. 1927.
Idem. 190. 286. 1927.
Idem. 221. 32. 1929.
J. LEVA. Berl. klin. Wschr. 14. 21. 1909.
Idem. blz. 8961. 1909.
L. v. LIEBERMANN. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 18. 1. 1804. 1885.
L. v. LIEBERMANN en S. SZEKELY. Arch. f. d. ges. Physiol. 72. 360.
J. LIFSCHÜTZ. Arch. f. Pharmac. 265. 350 en 450. 1927.
S. M. LING. Journ. o. biol. chem. 76. 361. 1927.
S. LOEWE. Ztschr. Neur. 7. Heft. 1. 1911.
M. LOMBROSO. Pflüger's Arch. 112. 531. 1906.
Arch. intern. d. Physiol. 22. 1 en 9. 1923.
Arch. ital. de Biol. 42. 336. 1904.
Arch. f. Exper. Pathol. u. Pharm. 56. 357. 1907.

Idem. 60. 407. 1910.
Arch. di Fisiol. 8. 290. 1915.
M. LOMBROSO en GENTILE. Arch. intern. d. Physiol. 23. 357. 1924.
LORRAIN-SMITH. Journ. Pathol. Bact. 12. 1. 1908.
Idem. 15. 53. 1911.
LUDEN. Journ. o. Lab. a. Clin. Med. 4. 749. 1918/19.
I. LUNDIN. Journ. Metabol. Research. 4. 151. 1923.
H. LUTJE. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1904. blz. 98.
JOH. MAAS. Bioch. Ztschr. 144. 379. 1924.
H. MAGISTRIS. Ergebn. d. Physiol. 31. 165. 1931.
Bioch. Ztschr. 210. 85. 1929.
R. MAGNUS. Münch. Med. Wschr. 1925. blz. 249.
A. MAGNUS-LEVY. Arch. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1902. blz. 365.
Ztschr. f. klin. Med. 56. 83. 1905.
F. MAJOR. Journ. Amer. Med. Assoc. 1. 1597. 1923.
G. MANSVELD. Zentralbl. f. Physiol. 20. blz. 21.
J. MARCET. Proc. of the Royl. Soc. 9. 306. 1858.
W. MARIOT en ASSLER. Journ. o. biol. chem. 32. 241. 1917.
J. MARSH en O. WALLER. Arch. f. intern. Med. 31. 63. 1923.
A. MASSNIKOW en B. HINSKY. Ztschr. f. klin. Med. 102. 65. 1926.
Idem. 105. 228. 1927.
Ztschr. f. exper. Med. 52. 171. 1926.
Idem. 53. 100. 1926.
W. MAXWELL. Amer. Chem. Journ. 13. 428. 1891.
Idem. 15. 185. 1893.
E. MEISSL en F. STROHMER. Sitzber. Akad. f. Wissensch. 88. 3. Juli heft. 1883.
E. MELLANBY. Journ. o. Physiol. 64. 5 en 33. 1928.
J. MERKING. Arch. f. d. ges. Physiol. 73. 172.
L. MERZBACHER. Ergebn. d. Physiol. 3. 214. 1904.
MEYERS en GORHAM. Post-Graduate. 29. 938. 1914.
Arch. intern. Med. 20. 599. 1917.
MEYERS en WARDELL. Journ. o. biol. chem. 36. 147. 1908.
J. A. MILROY. Bioch. Journ. 22. 1206. 1928.
O. MINKOWSKI en J. v. MEHRING. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. 1890. blz. 370.
B. MOORE en D. ROCKWOOD. Journ. o. Physiol. 21. 58.
M. MORIMOTO. Pflüger's Arch. 213. 733. 1928.
J. MUELLER. Journ. o. biol. chem. 25. 88 en 549. 1916.
J. MÜLLER en H. MURSCHHAUSER. Bioch. Ztschr. 78. 63. 1916.
J. MUNK. Virchow's Arch. 122. 302. 1890.
J. MUNK en FRIEDENTHAL. Zentralbl. f. Physiol. 13. 4 en 297.
J. MUNK en ROSENSTEIN. Virchow's Arch. 123. 230 en 484. 1890.
W. NEDWEDSKI. Pflüger's Arch. 214. 337. 1926.
Idem. 219. 619. 1926.
F. NEES. Bioch. Ztschr. 124. 156. 1921.
NEISSER en BRÄUNING. Ztschr. f. exp. Pathol. u. Ther. 4. 1907.
J. NENCKI. Journ. prakt. Chem. 17. 105. 1878.
J. NERKING. Bioch. Ztschr. 23. 262. 1910.
C. NEUBERG. Berl. klin. Wschr. 1907. blz. 54.
C. NEUBERG-RAUCHWERGER. Ztschr. f. physiol. Chem. 47. 335. 1906.
A. NEUMANN en G. KREIDL. Zentralbl. f. Physiol. 21. 1907.
Wien. klin. Wschr. 1907.
Sitzungsber. Wien. Akad. Naturw. Klasse. Februar. 1911. Bd. 120. III.
N. NISSEN. Acta Med. Scand. 73. 99. 1930.
NITZESCU, POPESCA, INOTESTI en CADÁRUI. C. R. Soc. Biol. 90. 538. 1924.
E. NOBEL. Arch. f. Physiol. 134. 436. 1910.

T. NOMUCA. Tohoku. Journ. exper. Med. 5. 323. 1924.
K. OBERMUELLER. Ztschr. f. Physiol. Cchem. 15. 37. 1891.
Idem. 16. 143. 1892.
S. OKADA en M. ARAI. Journ. o. biol. chem. 51. 135. 1922.
RUTH OKEY. Proc. o. t. Royal. Soc. 518. 1928/29.
Journ. o. biol. chem. 88. 367. 1930.
G. IZAC OPPENHEIMER. Die Fermente. 1913. blz. 163.
TH. OSBORNE en L. MENDEL. Journ. o. biol. chem. 17. 401. 1914.
Idem. 20. 397. 1915.
H. PAAL. Bioch. Ztschr. 211. 244. 1929.
I. H. PAGE. Journ. o. biol. chem. 57. 471. 1923.
I. PAGE, L. PASTERNAH en M. BART. Bioch. Ztschr. 223. 445. 1930.
Idem. 231. 113. 1931.
J. PARNAS en R. WAGNER. Bioch. Ztschr. 61. 387. 1914.
G. PATTERSON. Bioch. Journ. 25. 733. 1931.
C. A. PEKELHARING. Ztschr. f. physiol. Chem. 81. 355. 1912.
A. PELUFFO. C. R. Soc. Biol. 100. 115/116. 1928.
PEMBREY. Journ. o. Physiol. 27. 407. 1901.
Idem. 29. 195. 1903.
E. PFLÜGER. Arch. f. d. ges. Physiol. 51. 1892.
Idem. 80. 131. 1900.
Idem. 82. 360. 1900.
Idem. 103. 1. 1904.
Idem. 108. 123. 1905.
S. POLLAK. Ergebn. inn. Med. u. Kinderh. 22. 237. 1923.
S. PORTES. Journ. Amer. Med. Assoc. 91. 1248. 1928.
W. PORTHEINE. Nephelometrische bloedvetbep. bij lijders aan suikerziekte. Diss. Utrecht. 1927.
POUGET en CHOUCHAH. Bull. Soc. Chim. d. France. Dl. 5. S. 4. blz. 104.
Idem. Dl. 9. blz. 649. 1911.
W. RAAB. Wien. Arch. f. inn. Med. 7. 443. 1924.
Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 49. 179. 1926.
F. RANDLESS en A. KNUDSON. Journ. o. biol. chem. 53. 53. 1922.
T. RANSON. Journ. o. Physiol. 7. 245. 1905.
H. RAPER en E. SMITH. Journ. o. Physiol. 60. 41. 1924.
E. RAUCH. Dissert. Leipzig. 1895.
P. REHBERG. Bioch. Journ. 19. 270. 1925.
A. RINGER, E. FRÄNKEL en L. JONAS. Journ. o. biol. chem. 14. 539. 1913.
A. RINGER en L. JONAS. Journ. o. biol. chem. 14. 431. 1913.
E. RITTER. Ztschr. f. physiol. Chem. 34. 430. 1902.
H. ROGER en L. BINET. Bull. de l'Acad. de Med. 86. 97. 129 en 203. 1921.
Idem. 88. 1140. 1923.
Scand. Arch. f. Physiol. 49. 215. 1926.
W. RÖHL. Verhandl. Kongr. f. inn. Med. 29. 607. 1912.
P. RONA en L. MICHAELIS. Bioch. Ztschr. 31. 345. 1911.
H. RONY en A. LEVY. Journ. o. lab. a. clin. Med. 15. 221. 1929.
P. ROODZANT. Dissert. Utrecht. 1931.
G. ROSENFELD. Ergebn. d. Physiol. 1. 651. 1902.
Idem. 2. 50. 1903.
Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. 55. 179 en 344. 1906.
Centralbl. f. inn. Med. 21. 833. 1900.
O. ROSSI. Arch. di Fisiol. 4. 429. 1909.
M. RUBNER. Ztschr. f. Biol. 22. 411. 1902.
G. S. SACKETT. Journ. o. biol. chem. 64. 203. 1925.
S. SAKAI. Bioch. Ztschr. 62. 387. 1914.

L. SALKOWSKY. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. 6. 207. 1891.
A. SANO. Tohoku. Journ. exp. Med. 1. 448. 1920.
Idem. 4. 417. 1924.
T. SATO. Journ. o. biol. chem. 35. 473. 1918.
G. SCHAUDT. Bioch. Ztschr. 166. 136. 1925.
K. SCHEER. Klin. Wschr. 7. 163/165. 1927.
M. SCHEY. Rec. d. Trav. Chim. Pays-Bas. 18.169. 1902 .
H. SCHIFF. Liebig's Annal. d. Chem. 104. 332. 1857.
Idem. 115. 335. 1906.
Arch. d. Physiol. p. 623. 1892.
B. SCHONDORFF. Pflüger's Arch. 117. 291. 1907.
R. SCHÖNHEIMER. Bioch. Ztschr. 1447. 258. 1924.
Virchow's Arch. 249. 1. 1924.
Ztschr. f. physiol. Chem. 180. 1, 25 en 32. 1929.
H. SCHULZE en J. BARBIERI. Journ. prakt. chem. 25. 159. 1882.
E. SEVRING LOUS. Journ. o. biol. chem. 19. 59. 1924.
Y. SHIMIDZU. Bioch. Ztschr. 28. 1910.
G. SIMON en M. NICLOUX. Bull. Soc. Chim. Biol. 9. 758. 1927.
R. G. SINCLAIR. Journ. o. biol. chem. 86. 579. 1930.
Idem. 88. 575. 1930.
Idem. 92. 245. 1931.
Idem. 95. 393. 1932.
B. SJOLLEMA. Voeding en melkproductie. Cultura. 1923.
B. SLOWTZOFF. Beitr. chem. Physiol. u. Pathol. 7. 508. 1905.
F. SOUKLET. Ztschr. d. landw. Verein. Bayern. Aug. 1881.
W. STEPP. Bioch. Ztschr. 22. 452. 1909.
M. STERN. Med. Klin. 21. 958. 1925.
G. STEWART, R. GADDIE en D. DUNLOV. Bioch. Journ. 21. 958. 1927.
C. STEWART en A. WHITE. Bioch. Journ. 19. 840. 1925.
J. STODDARD en P. H. DRURY. Journ. o. biol. chem. 84. 741. 1929.
N. STORCH. verg. MELTS. Jahresber. 27.
H. STRAUSS en L. WEST. Proc. o. t. Soc. exp. Biol. a. Med. 21. 485. 1924.
O. STRECKER. Liebig's Annal. Bd. 65. 29. 1848
L. SURANYI en A. KORONYI. Bioch. Ztschr. 160. 178. 1925.
A. v. SZENT-GUORGYI. Bioch. Ztschr. 136. 107 en 112. 1923.
Idem. 146. 226. 1924.
M. TAKATO. Tohoku. Journ. o. exp. Med. 2. 209. 1921.
Ztschr. f. klin. Med. 98. 120. 1924.
H. TANGL. Bioch. Ztschr. 241. 87. 1931.
H. TANGL en N. BEREND. Bioch. Ztschr. 220. 234. 1930.
Idem. 232. 181. 1930.
H. TAYLOR. Journ. o. biol. chem. 2. 87. 1906.
A. E. TAYLOR en C. W. MILLER. Journ. o. biol. chem. 18. 215. 1914.
Y. TERADA. Bioch. Ztschr. 145. 426. 1924.
S. THANNHAUSER. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 141. 290. 1923.
S. THANNHAUSER en H. SCHRABER. Ztschr. f. physiol. Chem. 127. 278. 1923.
TH. HESS-THAYSSEN. Bioch. Ztschr. 62. 89. 1914.
T. THUNBERG. Scand. Arch. f. Physiol. 40. 1. 1922.
A. TICHOMIROFF. Ztschr. f. physiol. Chem. 9. 518 en 566. 1885.
E. F. TISSDALL. Journ. o. biol. chem. 50. 329. 1922.
G. M. DE TONI. Journ. o. biol. chem. 70. 207. 1926.
P. TRAILL. Phill. Ann. 5. 179.
G. TRIER. Ueber einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweiszstoffe und Lecithine. Berl. Borntraeger. 1912.
TSCHUGAJEFF. Ref. Ztschr. f. angewan. Chem. 618. 1900.

M. E. TURNER. Journ. o. biol. chem. 92. 495. 1931.
P. VASILEWSKA. Trav. Instit. Nencki. 1923. no. 28 van chem. Zentr. 1. 2715. 1925.
P. VERKADE. Verslag van de vergadering van het klin. genootschap te Rotterdam op Dec. 1931. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1932. 11. blz. 1782.
P. VERKADE en J. COOPS. Bioch. Ztschr. 223. 394. 1930.
F. VERSE. Verhandl. d. deutsch. pathol. Ges. 1925.
F. VERZAR en A. KUTHY. Ergebn. der Physiol. 32. 391. 1931.
Idem. 15. 1. 1916.
Bioch. Ztschr. 205. 367. 1929.
Idem. 210. 264 en 281. 1929.
C. VOIT en F. ROHRMANN. Pflüger's Arch. 29. 509. 1882.
L. WACHER en W. HUECK. Bioch. Ztschr. 100. 84. 1919.
P. WALTHER. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1890. blz. 329.
J. WARKANY. Bioch. Ztschr. 189. 336. 1927.
O. WEISS. Pflüger's Arch. 144. 540. 1912.
A. WERNER en SZESSI. Münch. med. Wschr. 1908. blz. 374.
E. WERTHEIMER. Pflüger's Arch. 217. 728. 1927.
H. WESTENBRINK. Ned. Tijdschr. v. Gen. 1931. 4. blz. 4983.
C. WESTON. Journ. Med. Research. 26. 47. 1912.
C. WESTON en KENT. Journ. med. Research. 26. 531. 1912.
A. WHITE. Bioch. journ. 19. 921. 1925.
J. C. WHITEHORN. Journ. o. biol. chem. 62. 133. 1924.
H. WIELAND. Ergebn. d. Physiol. 20. 499. 1922.
H. WIELAND en REVERY. Ztschr. f. physiol. Chem. 140. 189. 1924.
en SORGE. Idem. 97. 1. 1916.
en STENDER. Idem. 106. 184. 1919.
E. WILLSTÄTTER en MEMMEN. Ztschr. f. physiol. Chem. 129. 1. 1923.
Idem. 129. 133 en 247. 1923.
A. WINDAUS. Ztschr. f. physiol. Chem. 65. 110. 1910.
E. WINFELD. Journ. o. Physiol. 49. 171. 1915.
J. WOHLGEMUTH. Bioch. Ztschr. 21. 381. 1909.
M. YAMAKAWA en FUGINAGA. Tohoku. Journ. exp. med. 14. 265. 1929.
MORIO YASUDA. Journ. o. biol. chem. 92. 495. 1931.
E. ZAUDY. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 70. 301. 1901.
S. ZAWILSKY. Arbeiten Physiol. Instit. Leipzig. Bd. 11. 1876.
G. ZUELZER. Ztschr. f. physiol. Chem. 27. 255. 1899.

J 8877

STELLINGEN

1.

Door inspuiten van insuline wordt de tolerantie voor vet aanzienlijk versterkt.

2.

Voor de zuiverheid van een wetenschappelijk onderzoek is het noodig, dat men een goede onverschilligheid heeft voor hetgeen men vinden zal.

3.

Bij verdenking van ulcus ventriculi, make men in plaats van een röntgen-photo voglens de oude werkwijze (vulling van de maag met 450 Gr. contrastmaaltijd) liever een z.g. slijmvlies-photo volgens de techniek van H. H. BERG. Omdat:

a. de oude werkwijze gevaren kan opleveren.

b. de slijmvlies-photo in een grooter percentage van de gevallen antwoord geeft op de gestelde vraag, of er een ulcus aanwezig is en bovendien soms belangrijke aanwijzingen geeft in verband met de prognose.

c. het regelmatig vervaardigen van slijmvlies-photo's van de maag bij maaglijders misschien eenig licht kan verschaffen in de aethiologie van het ulcus ventriculi.

4.

De vetachtige stoffen van het bloed zijn van groote beteekenis voor het stollen en waarschijnlijk ook voor het ontstaan van thrombose.

5.

Het is wenschelijk, dat de studenten bij de lessen in anatomie het lezen van röntgen-photo's van het normale lichaam leeren.

6.

De schuine aanhechting van de radix mesenterii kan niet van beteekenis zijn voor het feit, dat de zwangere baarmoeder in verre weg het meerendeel der gevallen naar rechts ligt afgeweken.

7.

Onmiddellijke geneeskundige contrôle is de beste.

8.

De calcaneus der Javanen vertoont enkele typische kenmerken, die wijzen op een ras-vermengen. (CHR. A. R. D. SNELL. Geneesk. Tijdschr. v. N. I. 1932 blz. 766).

9.

Heelkundige bewerkingen aan de maag verrichte men onder plaatselijke gevoelloosheid.

10.

Bij de behandeling van arthritis deformans overwege men het gebruik van immetal. (W. KÖNIG Zentralbl. f. Chir. No. 32 1932).