



Proeven naar aanleiding van de theorie van Castle

<https://hdl.handle.net/1874/322567>

7^{me}. 192, 1936

PROEVEN NAAR AANLEIDING
VAN DE THEORIE
VAN CASTLE

A. W. C. G. KAMERLING

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

PROEVEN NAAR AANLEIDING VAN DE THEORIE
VAN CASTLE.

Diss Utrecht 1936

PROEVEN NAAR AANLEIDING VAN DE THEORIE VAN CASTLE

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. W. VOLL-
GRAFF, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER
LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BE-
SLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TE VERDEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE OP
DINSDAG 9 JUNI 1936, DES NAMIDDAGS TE
4 UUR

DOOR

ANTON WILLEM CONSTANTIJN
GERARD KAMERLING

ARTS
GEBOREN TE HERWIJNEN

BROEKHOFF N.V. v/h KEMINK EN ZOON
OVER DEN DOM - DOMPLEIN 2 - UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN OUDERS EN
AAN MIJN VROUW

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid U, Hoogleraren en Docenten van de Medische en Philosophische Faculteiten der Utrechtsche Universiteit, mijn dank te betuigen voor het van U ontvangen onderwijs.

In het bijzonder geldt dit U, Hooggeleerde H y m a n s v a n d e n B e r g h, Hooggeachte Promotor. De jaren, waarin ik het voorrecht heb gehad als assistent in Uw kliniek werkzaam te zijn en vrijwel dagelijks van Uw groote kennis en ervaring heb kunnen leeren, stemmen mij tot groote dankbaarheid. In bijzondere mate weet Gij door Uw voortdurende belangstelling en opbouwende critiek Uwe leerlingen tot wetenschappelijk denken en werken aan te sporen. Zeer erkentelijk ben ik U voor de wijze, waarop Gij mij in staat gesteld hebt dit proefschrift te bewerken. De aangename en vriendschappelijke wijze, waarop Gij mij steeds geleid hebt, zullen mij altijd in dankbare herinnering blijven.

Hooggeleerde v a n d e n B r o e k, U breng ik mijn oprechten dank voor de gelegenheid, die U mij geboden hebt als hoofdassistent in Uw laboratorium werkzaam te zijn geweest; nog dagelijks ondervind ik het nut van deze vooropleiding. Dank zij Uw persoon en de vriendschappelijke verhoudingen, die in Uw laboratorium heerschen, zal deze tijd voor mij steeds een prettige herinnering blijven.

Hooggeleerde d e L a n g e n, voor Uwe belangstelling en de leerzame gesprekken, welke ik met U mocht hebben, ben ik U zeer erkentelijk; deze maken het voor mij een voorrecht U te hebben leeren kennen.

Zeer Ervaren B r e s t e r, het is mij een behoefte ook U langs dezen weg mijn dank te betuigen voor hetgeen ik van U heb mogen leeren. Uw groote klinische ervaring en voortreffelijke leiding heb ik steeds bewonderd.

Zeer Geleerde G r o t e p a s s, voor een niet gering gedeelte dank ik aan U het slagen van een aantal proeven, die zonder Uwe voortreffelijke hulp zeker niet op deze wijze hadden kunnen worden uitgevoerd. Dat gij hiervoor noch tijd, noch moeite gespaard hebt, zal ik niet licht vergeten.

Zeer Geleerde v a n d e r H o e d e n, U ben ik zeer erkentelijk

voor de hulp, die ik van U bij mijn proeven mocht ondervinden. Ook voor mij stond Gij, als steeds, met raad en daad klaar.

Zeer Geleerde Hulst, dankbaar ben ik voor de vriendschap die ik vele jaren lang van U mocht ondervinden. Nimmer deed ik tevergeefs een beroep op Uw goede raad en voorlichting.

Collegae-assistenten, wilt mijn dank aanvaarden voor de medewerking, die ik in menigerlei vorm ondervond en voor de goede verstandhouding, die steeds onder ons heerschte.

Ook aan de Hoofdzusters en Eerste-verpleegsters past hier een woord van dank voor de uitnemende wijze, waarop zij mij hulp verleenden.

Waarde Verhoef, mijn welgemeenden dank voor het vervaardigen der teekeningen.

Tenslotte dank ik U allen, die op eenigerlei wijze hebt medegewerkt aan de tot standkoming van dit proefschrift.

INLEIDING.

In 1926 ontdekten Minot en Murphy de levertherapie voor de pernicieuze anaemie. Deze ontdekking, die voor een groot deel te danken was aan het fundamenteele werk van Whipple en medewerkers, werd weldra allerwege bevestigd.

Korten tijd later gelukte het Cohn werkzame extracten uit de lever te bereiden.

De invoering dezer extracten beteekende niet alleen een grooten vooruitgang voor de therapie, doch tevens werd met de bereiding der extracten een eerste poging gedaan om tot een isoleering in zuiveren vorm van het „antipernicieuze principe” te komen.

Ook thans, negen jaren na de eerste onderzoekingen van Cohn op dit gebied, is men hierin nog steeds niet geslaagd; ondanks vele onderzoekingen, tast men nog vrijwel in het duister omtrent de samenstelling van het werkzame leverbestanddeel.

Betrekkelijk korten tijd na de eerste publicaties van Minot en Murphy, verschenen de fraaie onderzoekingen van Castle en medewerkers, welke een geheel nieuw inzicht gaven in de pathogenese der pernicieuze anaemie. Vrij algemeen wordt de door Castle opgestelde theorie thans aanvaard. Alhoewel deze vele problemen op zeer aannemelijke wijze verklaart, blijven enkele moeilijkheden bestaan, waarvoor ook deze theorie een onvoldoende oplossing geeft. Het werk van Castle voerde Sturgis, Isaacs en Sharp tot de ontdekking der maagtherapie.

In de luttele jaren, welke sedert deze onderzoekingen verlopen zijn, heeft de literatuur over de aetiologie en de therapie der pernicieuze anaemie een dergelijken omvang aangenomen, dat een overzicht nauwelijks te verkrijgen is.

Ik heb getracht in dit proefschrift zooveel mogelijk de voornaamste publicaties te vermelden, doch uit den aard der zaak kan een dergelijk overzicht niet anders dan onvolledig zijn. Ik heb mij daarom voornamelijk beperkt tot een bespreking der theorie van Castle en de hierover verschenen literatuur.

Mijn belangstelling voor dit onderwerp ontstond, toen ik in de gele-

genheid was het maagsap van een patiënt met intestinaal infantilisme op de aanwezigheid van den „intrinsic factor" te onderzoeken. Hierbij werd gebruik gemaakt van de door Castle aangegeven methode.

Bij de hierna verrichtte proeven werd de door Reimann aangegeven methode toegepast. Het leek mij echter gewenscht, alvorens de theorie en de proeven van Castle en mijn eigen experimenten te beschrijven, eerst een kort overzicht over de levertherapie te geven.

HOOFDSTUK I.

DE LEVERTHERAPIE.

I. Het leverdieet.

Lever was reeds in de grijze oudheid als geneesmiddel bekend. Zoo paste *Dioscorides* al geitenlever toe, bij wat toen *νυκταλωψ* genoemd werd; *Celsus* schijnt lever met succes tegen nachtblindheid te hebben aangewend (125) en ook later kan men lever als middel tegen nachtblindheid in de volksgeneeskunde vermeld vinden.

Voor al in den tijd der opotherapie zijn in de Fransche en Italiaansche literatuur talrijke mededeelingen te vinden, waarin lever als therapeuticum bij leveraandoeningen werd aanbevolen. Daarbij werd vooral de gunstige werking van lever op de haemorrhagische huidverschijnselen en de diuretische werking bij cirrhoses in het licht gesteld.

Zoo vonden b.v. *Gilbert*, *Carnot* e. a., dat bij gebruik van lever de ascites der cirrhose minder vaak gepuncteerd behoefde te worden. Merkwaardiger wijze heeft reeds *Perrin* (207) er op gewezen, dat bij patiënten met levercirrhose, die tevens een anaemie hadden, deze anaemie onder leverbehandeling verbeterde.

In de latere jaren is echter met de opotherapie ook de leverbehandeling geheel op den achtergrond geraakt en vindt men de waarneeming van *Perrin* hoegenaamd niet vermeld.

Ook *Castellino* en *Pirera* schijnen reeds geruimen tijd vóór het onderzoek van *Whipple*, *Minot* en *Murphy* experimenteel en klinisch werk over de leverwerking bij anaemien verricht te hebben. *Goldstein* (91) vermeldt, dat *Pirera* experimenteerde op honden en konijnen, die door verbloeding anaemisch gemaakt werden. Na toediening van lever, hersenen of ijzer bleek vooral lever de anaemie snel te verbeteren.

Deze experimenten, nagenoeg gelijk aan die van *Whipple*, trokken echter in het geheel niet de aandacht en hebben, in tegenstelling tot de laatsten, niet tot de levertherapie tegen de pernicieuze anaemie gevoerd

Zonder nu in bijzonderheden op het baanbrekend werk van Whipple en medewerkers in te gaan, mogen in het kort hun proeven vermeld worden.

In een reeks experimenten gingen Whipple, Hooper en Robscheit (283) de werking van verschillende dieëten op de snelheid van bloedregeneratie na. Als proefdieren werden honden gebruikt, die door verbloeding anaemisch gemaakt werden.

Bij de eerste proeven geschiedde dit door op twee opeenvolgende dagen $\frac{1}{4}$ van het bepaalde bloedvolume aan bloed af te nemen. In de latere proeven (284) werden de dieren door herhaalde kleinere verbloedingen tot op $\frac{1}{3}$ anaemisch gemaakt en kon de anaemie zoодоende maanden, zelfs jaren (286, 287), constant gehouden worden.

Bovendien kon door het onttrekken van deze kleine hoeveelheden bloed de sterk prikkelende werking, welke een 1 of 2 \times uitgevoerde groote bloeding op de vorming van haemoglobine en erythrocyten uitoefent, zooveel mogelijk uitgeschakeld worden.

In het aantal grammen haemoglobine, dat verwijderd moest worden, teneinde de anaemie constant te houden, had men nu een vergelijkbare maat voor de potentie der verschillende dieetfactoren op de bloedregeneratie.

Uit de eerste proeven bleek reeds, dat, terwijl met een gemengd dieet in 4—7 weken een volledig bloedherstel mogelijk was, vooral met lever een zeer snelle bloedregeneratie in 2—4 weken werd verkregen. In de later genomen proeven kon dit bevestigd worden (286, 287), terwijl ook ijzer van grooten invloed was.

Nier was even werkzaam als lever (218). Daarnaast bleek ook vogelmaag sterk stimuleerend te werken (285); vleesch was echter minder werkzaam.

Naar aanleiding van deze onderzoekingen hebben Minot en Murphy (188) hun patiënten met pernicieuze anaemie behandeld met lever.

Als werkzame dosis werd aangeraden 200 gr. lever per dag te gebruiken, waarbij de lever eventueel korten tijd gekookt kan worden, zonder dat dit het therapeutisch effect beïnvloedt. Naast lever werd het gebruik van verschillende fruitsoorten en groenten aangeraden, terwijl ook vleesch in ruime mate werd voorgeschreven; de vetten werden zooveel mogelijk beperkt.

Het therapeutisch effect van dit dieet was verrassend. Reeds na

eenige dagen verbeterde de eetlust, de algemeene toestand ging snel vooruit, de anaemie verdween bij langer voortgezette therapie.

Deze verbetering was bij de 41 behandelde patiënten gelijk en maakte plaats voor een achteruitgang in den algemeenen toestand en een verergering der anaemie wanneer het dieet gestaakt werd.

In hun eerste publicaties, waarin nog een uitgebreid dieet wordt gegeven, werd aan het dagelijksche gebruik van lever een overwegende beteekenis toegeschreven. *Minot en Murphy* vermelden hierin uitdrukkelijk, dat, indien geringe eetlust bestaat, in de eerste plaats lever en fruit gebruikt moesten worden. Toch werden de andere bestanddeelen van het dieet, gedeeltelijk om hun hoog ijzergehalte, gedeeltelijk om hun effect op de experimenteele verbloedingsanaemie, van invloed geacht. Het dieet werd voorts vetarm gehouden om zooveel mogelijk een haemolyseerenden invloed der gevormde vetzuren uit te schakelen.

Het bleek echter, dat uitsluitend de lever, die zoo noodig vervangen kan worden door nier, de verbetering tot stand bracht (189). Vooral zoogdierlever werkte goed, beter dan lever van vogels.

Het is hier de plaats het werk van onzen landgenoot *Elders* te noemen. Ook hij kwam tot een dieettherapie voor de pernicieuze anaemie, zij het ook langs anderen weg dan de Amerikaansche onderzoekers.

In een reeks voordrachten (63) verdedigde *Elders* de meening, dat de Indische spruw als een deficiënte ziekte moest worden opgevat, althans de de symptomen dezer ziekte zich het beste door een deficiënte voor bepaalde stoffen lieten verklaren.

Aan een deficiënte was weliswaar reeds in 1886 door *Maclean* gedacht, doch deze mogelijkheid was sindsdien door verschillende onderzoekingen, waarbij meer naar een infectieuzen of toxischen oorzaak werd gezocht, op den achtergrond geraakt (*Kohlbrugge, Castellani en Low, Ashford e.a.*).

Voor een deficiënte pleitte voorts de gunstige reactie op dieeten.

Een steun voor zijn hypothese vond *Elders* in de proeven van *Mc. Carrison*, die door deficiënte dieeten bij verschillende proefdieren afwijkingen kon te voorschijn roepen, welke eenige overeenkomst met die der spruw vertoonden.

Op grond nu van de gelijkenis van het beeld der spruwanaemie met dat der pernicieuze anaemie en de overeenkomst, die er tusschen enkele klinische verschijnselen der beide ziekten bestaan, kwam *Elders*

(64) ertoe eveneens voor de pernicieuze anaemie de oorzaak in de een of andere deficiëntie te zoeken. Hij vroeg zich af of het niet mogelijk zou zijn, de pernicieuze anaemie met een voortgezet doelmatig dieet vrij van recidief te houden. „Mij dunkt het kan de moeite loonen dit te probeeren” schrijft hij in 1920.

Inderdaad gelukte het hem eenige jaren later (65) door middel van dieeten, waarbij o.a. groote hoeveelheden vleesch, rauwe melk, eieren en vruchten gegeven werden, eenige verbetering der anaemie te verkrijgen. Het aantal behandelde gevallen was echter zeer klein en slechts één patiënt werd gedurende een periode van drie jaar gecontroleerd, terwijl andere patiënten na korteren of langeren tijd suc-combeerden.

Een gunstige invloed van dergelijke dieeten was vroeger ook al door *Smithies* waargenomen.

De levertherapie heeft echter deze en de voordien gebruikelijke behandelingen geheel verdrongen.

Korten tijd na de eerste publicatie van *Minot* en *Murphy*, werd de gunstige werking der lever van vele zijden bevestigd, in ons land het eerst door *Heeres* (115) en *Hoogenboom* (130).

Aanvankelijk zagen enkele schrijvers minder goede resultaten; in sommige publicaties werd zelfs vermeld, dat 20—40 % der gevallen bij de orale levertodiening niet of onvoldoende zouden reageeren.

Het bleek echter, dat verschillende bijkomstige factoren een minder gunstig reageeren van sommige patiënten tot gevolg kunnen hebben; infecties en andere complicaties kunnen een patiënt als het ware tijdelijk ongevoelig voor lever maken. Dergelijke patiënten hebben belangrijk hogere doses lever noodig om een genezing tot stand te brengen; verder zijn ook individueele verschillen van grooten invloed. Terwijl bij sommige patiënten met 150—200 gram rauwe lever per dag een genezing is te verkrijgen, hebben anderen 500 gram en meer per dag noodig.

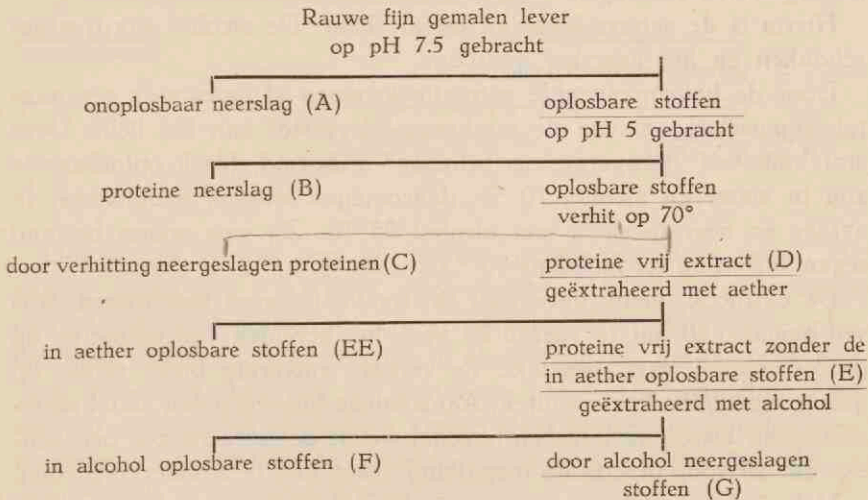
Het valt licht te begrijpen, dat de toediening van deze groote hoeveelheden op vele bezwaren stuitte, vooral in ernstige gevallen, waar de tegenzin voor voedsel toch al groot is.

Door de invoering der leverextracten, vooral toen het mogelijk werd deze extracten parenteraal toe te dienen, zijn deze bezwaren geheel verdwenen.

II. Het Leverextract.

Reeds korten tijd na de publicatie van Minot en Murphy gelukte het aan Cohn en medewerkers (39, 40) uit de lever werksame extracten voor oraal gebruik te bereiden.

Ik geef hierbij ter verduidelijking het schema van de door hen gevolgde extractie.



Het eindproduct, de zoogenaamde fractie G, bleek nu sterk werkzaam te zijn tegen de pernicioze anaemie. In hoeveelheden van 9—14 gram dagelijks toegediend gaf zij een snelle genezing. De fracties A, B en F waren onwerkzaam, D en E daarentegen sterk werkzaam.

Een bezwaar dezer eerste extracten was de zoute smaak. Dit werd echter opgeheven toen later bleek (40), dat de voorextractie met alcali kon weggelaten worden.

De fractie G werd door Lilly in den handel gebracht onder den naam „Liverextract No. 343". Zij was gelijk wij later zullen zien het uitgangsmateriaal voor de bereiding van de parenteraal werksame extracten der Amerikaansche onderzoekers.

Ook in ons land werd weldra door „Organon" volgens aanwijzingen van Laqueur (158) een bruikbaar extract bereid en met succes toegepast.

Dit extract, het pernaemon, werd volgens de voorschriften der Amerikaansche onderzoekers bereid. (zie schema).

De gemalen lever werd geextraheerd met 1 à 2 deelen aangezuurd water (pH 5). Vervolgens werd het extract op 80° verhit en gefiltreerd. Het filtraat werd ingedampt tot een stroop, die ter verdere zuivering opgelost werd in 60 % alcohol. De onoplosbare substanties worden afgefiltreerd, het filtraat nogmaals ingedampt en vervolgens in absoluten alcohol gegoten, zoodat een ongeveer 90 % alcoholoplossing wordt verkregen.

Hierin is de actieve leverstof onoplosbaar. De alcohol wordt afgeschonken en het neerslag gedroogd.

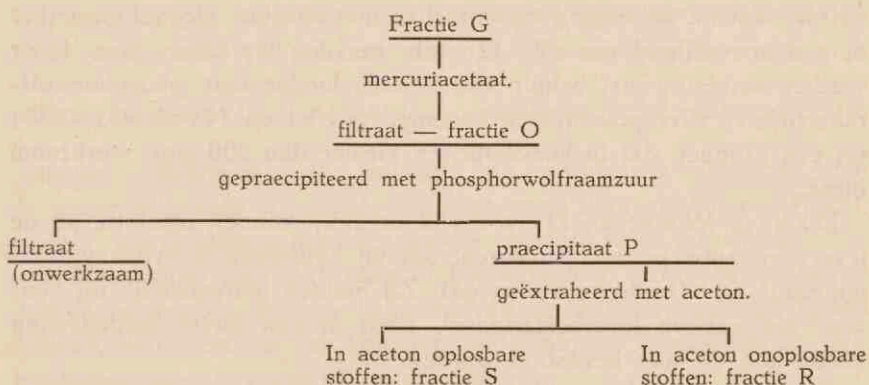
Door de bovengenoemde extractie kwamen al aanstonds een aantal eigenschappen van de werkzaame leverstof aan het licht. Deze stof, ook wel „antipernicieus principe” genoemd, bleek oplosbaar te zijn in water en alcohol 70 %, daarentegen was zij onoplosbaar in aether en neer te slaan met alcohol 95 %. Zij was voorts bestand tegen verhitting tot minstens 80° C.

De extractie, gelijk deze voor de fractie G werd beschreven, was vrij gemakkelijk uit te voeren en voor het bereiden van extracten op groote schaal zeer geschikt; de verdere zuivering bleek echter op groote moeilijkheden te stuiten. Aanzienlijke hoeveelheden actief materiaal gaan hierbij verloren en bovenal wordt de extractie zoo omslachtig, dat zij voor practische toepassing zeker niet in aanmerking komt.

Vele oplosmiddelen en praecipitantia werden aangewend om tot verdere zuivering te komen, welke ik niet alleen wil vermelden; doch wel staat men in bewondering voor het vele werk dat aan deze Amerikaansche onderzoekingen ten grondslag ligt, vooral wanneer men bedenkt, dat steeds weer voor iedere nieuwe verkregen fractie de werkzaamheid bij een onbehandelde lijder aan pernicieuze anaemie moest worden nagegaan.

Bij deze extracties werd uitgegaan van de fractie O; deze werd uit fractie G verkregen door loodpraecipitatie. Hierbij ontstaat een onwerkzaam neerslag, terwijl het filtraat O, na de verwijdering van overtollig lood, werkzaam principe bevatte.

Uit de fractie O werd vervolgens het onderstaand schema een fractie S verkregen, welke duidelijk werkzaam bleek te zijn. Zij bevatte 5.5 gram vaste bestanddeelen, die uit niet minder dan 27 K.G. lever werden verkregen; 3.2 gram dezer fractie dagelijks toegediend gaf een duidelijke werking te zien.



Ook fractie R was nog, zij het dan in mindere mate, actief. Het gelukte reeds aan C o h n en medewerkers (41, 42) een werkzaam extract voor intraveneuze injectie te bereiden. De gemakkelijke oplosbaarheid van het actieve principe in alcohol maakte het mogelijk hiermede te extraheeren van uit voldoende gezuiverde extracten. Door concentratie van het alcoholisch extract slaat het actieve principe grotendeels neer, terwijl de bloeddrukverlagende stoffen daarentegen grotendeels in oplossing blijven.

De verdere zuivering wil ik hier niet op de voet volgen. Genoeg zij, dat tenslotte een fractie werd verkregen, welke in een hoeveelheid van 600 mgr. intraveneus toegediend buitengewoon actief was (41).

Uit dit onderzoek kwam vast te staan, dat het actieve leverprincipe oplosbaar was in water, alcohol 70 %, phenol, glycerine, formamide, azijnzuur, chloroform en tetrachloorkoolstof, daarentegen onoplosbaar in aether en neer te slaan met phosphorwolfraamzuur. Het bevat geen ijzer, zwavel, koper of phosphorus. Daar de gezuiverde fracties geen neerslag geven met trichloorazijnzuur of met wolfraamzuur, de biureetreactie negatief was, en geen vermeerdering van aminostikstof bij hydrolyse optrad, kon worden aangetoond dat het actieve principe geen polypeptide was. Volgens C o h n is het waarschijnlijk een stikstofhoudende base.

Naast C o h n gelukte het ongeveer gelijktijdig aan enkele anderen werkzame extracten te bereiden.

Zoo verkreeg W e s t (277) door extractie met 60 % alcohol een

extract, dat na indamping en wasschen met absolute alcohol en aether in een hoeveelheid van 10—12 gram per dag werkzaam was. Door verdere zuivering met behulp van basisch loodacetaat, phosphorwolfraamzuur en zilverpraecipitatie kwamen *West en Nichols* (278) tot een product, dat in hoeveelheden kleiner dan 300 mgr. werkzaam bleek.

Dakin, West en Howe (52 en 279) konden tenslotte uit de lever een zuur product isoleeren, dat bij hydrolyse β hydroxyglutaminezuur en γ hydroxyproline gaf. Zij hielden aanvankelijk dit zuur voor het actieve leverbestanddeel, doch in een latere mededeeling (280) kon dit niet bevestigd worden.

Fontès en Thivolle (78) meenden dat het actieve principe waarschijnlijk identiek was met histidine en tryptophaan.

De werking dezer aminozuren werd bij menselijke anaemien en proefdieren nagegaan. Het bleek echter, dat deze waarnemingen niet juist waren en dat genoemde aminozuren bij parenterale toediening alleen een reticulocytose gaven, doch geen verbetering der anaemie (*Büttner* 23; *Gänsslen* 86).

Bovendien is de ingespoten hoeveelheid dezer aminozuren (0.3 gram) veel grooter dan die, welke men bij inspuiting van de meest zuivere leverfracties noodig heeft teneinde een duidelijk antianaemisch effect te bereiken. Volgens zeer recente onderzoekingen zou zelfs 0.002 gram voldoende hiervoor zijn (244).

In een aantal publicaties deelden *Pal* (204) en medewerkers (136, 149, 75) mede, dat histamine en wellicht ook choline per os en parenteraal toegediend de regeneratie der erythrocyten bij de pernicieuze anaemie en andere anaemien zou aanzetten. *Pal* oppert de mogelijkheid, dat het werkzame leverprincipe histamine of choline zou kunnen zijn.

De uitkomsten dezer onderzoekingen zijn niet zeer overtuigend, doch verder is de tijdelijke werking dezer stoffen, zoo deze al aanwezig is, zeker niet op één lijn te stellen met de therapeutische werking van lever.

Dat choline en histamine niet identiek zijn met de leverstof blijkt reeds uit de onderzoekingen van *Chon* (40); de door hem geïsoleerde fractie F bevat veel choline en histamine, doch is therapeutisch niet werkzaam. Na het belangrijke onderzoek van *Chon* is men niet veel verder gekomen; ondanks vele onderzoekingen is het nog steeds niet gelukt het antipernicieus werkzame leverprincipe te isoleeren, ter-

wijl omtrent den aard van deze stof vrijwel niets met zekerheid bekend is. Erdős (67) meent, dat naast de aanwezigheid van vrije carboxylgroepen (Cohn) —C $\begin{matrix} \diagup O \\ \diagdown NH_2 \end{matrix}$ bindingen in het antipernicieuze principe voorkomen. Hij isoleerde uit gezuiverde extracten een in water oplosbaar zilverzout. Dit zout werd door zoutzuur gesplitst, waarbij het in water oplosbare actieve principe weer vrij kwam.

Het is echter zeer de vraag in hoeverre hier werkzame producten geïsoleerd werden, daar ter bepaling van de activiteit dezer producten gebruik werd gemaakt van konijnen als testobject, waarbij een phenylhydrazine anaemie werd opgewekt (68).

Deze methode is echter van zeer twijfelachtige waarde.

Belangrijker schijnen mij de onderzoeken van Dakin en West (51) en Strandell (244); uit hun publicaties blijkt, dat een vergaande graad van zuivering werd bereikt.

Dakin en West gaan hierbij uit van handelsleverextract, de fractie G van Cohn. Nadat te voren deze fractie met alcoholisch calciumacetaat behandeld was, teneinde inactief materiaal te verwijderen, werd een verdere zuivering verkregen door praecipitatie van het actieve principe met behulp van Reinecke zout, ammoniumsulfaat en magnesiumsulfaat.

Tenslotte werd een zeer werkzame fractie geïsoleerd, waarvan 80 mgr. intramusculair toegediend sterke werkzaamheid vertoonde. Het verkregen product werd „anahaemin” genoemd; het bevatte geen koolhydraten, aminozuurgroepen, pyrimidine of purinebasen.

Bij hydrolyse werd een aminohexose verkregen, waarin lysine, arginine, glycine, leucine, hydroxyproline en asparaginezuur aanwezig waren.

De werkzaamheid dezer fractie werd onlangs bevestigd door Ungley en Davidson (264) en Wilkinson (300).

In een recent artikel beschrijft de Zweedsche onderzoeker Strandell zijn ervaringen over de werkzaamheid van zeer gezuiverde fracties. Het chemische gedeelte van dit onderzoek, dat verricht werd door Laland en Klem, moet nog verschijnen, zoodat de wijze van extractie niet bekend is; het is hun o.a. gelukt uit 100 gram lever een droge substantie van slechts 0.002 gram te verkrijgen, welke intramusculair toegediend, duidelijk werkzaam was. Wilkinson kon de werking van een van Strandell's extracten bevestigen; zelf

bereidde hij eveneens zeer gezuiverde producten door de praecipitatie volgens Dakin en West met behulp van Reinecke zout bij zijn eigen extractie methode te verwerken. Zoodoende werden extracten verkregen waarvan 18 mgr. nog zeer duidelijk werkte. De wijze van extractie wordt ook hier niet nader vermeld. Uit de genoemde onderzoekingen valt op te maken, dat in ieder geval een verre graad van zuivering bereikt werd; wellicht zal binnen afzienbaren tijd een isolatie van het werkzame principe mogelijk zijn.

Alle zoogdierlevers, voor zoover deze onderzocht werden, bleken antipernicieus principe te bevatten; de werkzaamheid schijnt echter niet voor alle leversorten gelijk te zijn. Zoo is b.v. leverextract uit hondenlever gemaakt volgens Strauss en Castle (248) ongeveer 20 % minder werkzaam dan een gelijke hoeveelheid varkensleverextract op dezelfde wijze bereid.

Antipernicieus werkzaam zijn o.a. de levers van varken, rund (Minot, Murphy en Stetson 190), paarden (Richter, Meyer en Ivy 217) en van verschillende vischsoorten, zooals kabeljauw en schelvisch (Connery 48; Hansen, Stub en Forbech 108; Davidson 55). Ook extracten uit menselijke levers gemaakt hebben een goede werking (Wilkinson en Klein 297; Goldhamer, Isaacs en Sturgis 90).

Van groot practisch belang was de bereiding van werkzame extracten voor parenteraal gebruik. Wij zagen reeds dat Cohn een dergelijk extract vervaardigde, doch de door hem gevolgde methode was technisch zoo omslachtig, dat ze voor het maken van extracten op groote schaal ongeschikt was; eerst eenige jaren later gelukte dit aan Gänsslen (85) en Castle, Taylor en Strauss (32 en 245).

Gänsslen houdt de bereidingswijze van zijn extract, dat onder den naam „campolon” in den handel werd gebracht, geheim. De gebruikelijke dosis is 2cc extract, die uit 5 gram versche lever verkregen wordt.

Castle en Taylor (32) gaan uit van de fractie G van Cohn. Deze fractie bevat nog stoffen, die bloeddrukverlagend werken en alleen door uitgebreide extracties te verwijderen zijn. De werking dezer stoffen is vrijwel niet meer aanwezig, indien het extract voldoende met water verdund wordt. Het extract werd nu zoodanig gemaakt,

dat 20 cc 4.5 gram fractie G bevatte. Een dergelijke hoeveelheid fractie G wordt uit 100 gram verse lever verkregen.

Het bleek nu, dat, wanneer niet meer dan 0.1 gram fractie G per K.G. lichaamsgewicht intraveneus of intramusculair werd ingespoten, er slechts een geringe bijwerking optrad, terwijl dit verdunde extract intraveneus of intramusculair ingespoten toch zeer sterk werkt. Een dagelijksche dosis van 2cc was voldoende om een genezing tot stand te brengen. Hierbij wordt slechts 0.45 gram fractie G ingespoten, dus de hoeveelheid actief materiaal verkregen uit 10 gram verse lever.

Wanneer dergelijke extracten door een permutite filter gefiltreerd en vervolgens met behulp van een aceton extractie verder van schadelijk werkende bijstoffen gezuiverd werden, bleek bij intraveneuze injectie geen enkele schadelijke bijwerking meer op te treden. (141).

De groote werkzaamheid dezer extracten werd van vele zijden bevestigd, in ons land het eerst door van Leeuwen (163), die het inspuitbare extract van Organon gebruikte. Van verschillende zijden werd gewezen op de groote voordeelen der parenterale therapie. Ook bij het gebruik der orale extracten stuitte men nog, zij het dan in mindere mate dan met het leverdieet, op tegenzin bij het innemen. Thans werd het mogelijk in betrekkelijk kleine volumina sterk werkend materiaal toe te dienen, onafhankelijk van den eetlust van den patiënt. Vooral bleek dit van belang voor de gevallen, waarbij de gebruikelijke doseering onvoldoende was en die om verschillende redenen zeer veel lever noodig hadden. Van groot voordeel was ook de snelle werking, welke bij ernstige anaemien practisch het geven van bloedtransfusies overbodig maakt (Sturberg 253; Murphy 198).

Ook in de Utrechtsche kliniek zagen wij dit laatste meerdere malen. Vóór de invoering der extracten voor parenteraal gebruik, verschenen eenige mededeelingen waarin gevallen van pernicieuze anaemie werden besproken, die z.g. lever-resistent zouden zijn of waarin minder gunstige resultaten werden vermeld. Het is echter te betwijfelen of er wel gevallen van pernecieuze anaemie voorkomen, die lever-resistent zijn. Grootendeels zijn dergelijke waarnemingen toe te schrijven aan foutieve diagnoses, een niet streng doorgevoerde kuur, te lage doseering of gebruik van onvoldoend werkzame praeparaten; sinds het gebruik van de inspuitbare extracten werden leverresistente gevallen vrijwel niet meer gezien.

Van groot belang is de parenterale levertherapie voor de behandeling der neurologische complicaties. Een consequent doorgevoerde

parenterale leverkuur, waarbij optimale doses gegeven moeten worden, kan veel verbetering geven in niet te ver voortgeschreden gevallen. Een toename der verschijnselen, hetgeen bij de orale levertherapie nogal eens werd waargenomen, berust hier veelal op een onvoldoend doorgevoerde behandeling. Voor literatuuropgaven verwijs ik hier naar de publicaties van *Wuite* (311), en *Singer* (238).

Nadeelige reacties worden bij intramusculaire toediening van lever slechts zeer zelden waargenomen. Wanneer men bedenkt hoe vaak tegenwoordig te recht of ten onrechte leverinspuitingen worden gegeven, dan vallen de enkele mededeelingen over schadelijke bijwerkingen hierbij in het niet. Wij zagen een dergelijke reactie slechts één maal.

De patiënt, waarop wij later nog terugkomen, was een man van 42 jaar en lijdende aan „coeliac disease”. Hij werd na opname in December 1933, gedurende een maand met pernaemon injecties behandeld, zonder eenig bijverschijnsel. Op zekeren dag trad een half uur na de injectie een urticariachtig uitslag over het geheele lichaam op, gepaard gaande met een hevigen jeuk, zwelling van oogleden en lippen en dyspnoe. Na inspuiting van adrenaline verminderde de dyspnoe geleidelijk. Het ooglidoedeem en de jeuk verdwenen in den loop van den volgenden dag. Lever per os werd hierna goed verdragen.

Deze overgevoeligheids reacties werden slechts enkele malen gezien. *Held en Goldboom* (118) beschreven een patiënt, die in het verloop van leverbehandeling per os een urticaria en jeukend erythema nodosum kreeg.

Grün (101) zag in aansluiting aan een injectie van exhepar, dyspnoe en braken optreden. Over de geheele huid ontstonden erythemateuze vlekken. Na eenige uren was deze reactie weer voorbij.

Er bleek een cutane overgevoeligheid voor 1/10000 cc exhepar te bestaan, welke na een jaar nog voor verschillende leverpraeparaten aanwezig was.

Het gelukte hem den patiënt door injecties met kleine stijgende doses te desensibiliseeren.

Dergelijke allergische reacties werden ook waargenomen door *Lasch* (159) en *Kuipers* (154).

Roovers (219) zag in aansluiting aan pernaemoninjecties longoedeem optreden; *Klinkert* (151) beschreef een patiënte, waarbij zich meningeaale prikkelingsverschijnselen voordeden.

Merkwaardig zijn verder de waarnemingen van *Spence* (243),

Gänsslen (86) en Gordon Sears (94), die na gebruik van lever, jichtaanvallen zagen optreden. Het is echter de vraag of hier eenig verband mag worden aangenomen.

III. Het aantonen van het antipernicieus werkzame leverprincipe.

Wanneer de antipernicieuze werkzaamheid van een extract moet worden nagegaan, dan is men uitsluitend aangewezen op den onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie als proefpersoon. Treden na de toediening van een dergelijk extract de later te noemen bloedveranderingen op, benevens klinische verbetering, dan mag men hieruit besluiten, dat dit extract antipernicieus principe bevat.

Meerdere bezwaren zijn aan deze omslachtige werkwijze verbonden; een betere testmethode is echter nog niet bekend, daar alle tot nu toe beschreven dierproeven en chemische methoden niet juist bleken te zijn. Hieraan is het dan ook wel deels toe te schrijven, dat het verdere onderzoek naar den aard van het antipernicieuze principe en een isolatie hiervan zoozeer vertraagd is. Vooral echter in de laatste jaren doet zich de behoefte aan een geschikte test sterk gevoelen, daar bruikbare proefpersonen zelfs in de grootere klinieken zeldzaam worden.

Het zou te ver voeren hier alle proeven te vermelden, waarmede men gemeend heeft het antipernicieuze principe te kunnen aantonen. Voor uitgebreidere literatuuropgaven verwijs ik naar het overzicht van Singer (238).

Een der eerste dezer proeven was de bartonella anaemie test. Lauda (162) vond, dat splenectomie bij ratten een anaemie veroorzaakte, die eenige gelijkenis vertoonde met de pernicieuze anaemie. Mayer, Borchardt en Kikuth (173) konden aantonen, dat deze anaemie veroorzaakt werd door de bartonella muris rattis, welke reeds 5 jaar te voren door Mayer (172) gevonden was. Bij ratten, die met bartonella geïnfecteerd zijn, worden de symptomen dezer infectie na splenectomie manifest. Onder anderen treedt hierbij een haemolytische anaemie op met regeneratieve verschijnselen. Van vele zijden is getracht deze infectie en anaemie door toediening van lever te voorkomen.

Gewoonlijk gaan de meeste geïnfecteerde ratten, wanneer splenectomie wordt verricht, na 1—2 weken te gronde. Vedder (268) vond, dat lever niet in staat was de levensduur dezer ratten te verlengen; alleen door miltimplantatie kon dit bereikt worden, doch de

verschijnselen der infectie traden weer op zodra het implantaat gesorbeerd was. Friedemann en Deicher (83) zagen aanvankelijk wel succes van levervoeding; in een tweede reeks proeven was het resultaat echter minder duidelijk, terwijl leverextract van geen invloed was.

Volgens Haendel en Hagen (106) en Gänsslen (85) zou de anaemie wèl door lever te genezen zijn. Van verschillende zijden werd dit echter later tegengesproken (Neumann 200; Reiter 214; Wills en Metha 303).

Ook met de kunstmatig verwekte phenylhydrazine anaemie werden zeer tegenstrijdige resultaten verkregen. Zoo zagen Jastrowitz en Neidhard (146), Rusznyák en v. Engel (222) en enkele anderen (254, 68), dat door de proefdieren voor te behandelen met leverextract de anaemie, welke tengevolge van phenylhydrazine toediening optreedt, voorkomen kon worden. Door anderen werd dit echter niet bevestigd. (Strisower 249; Adlersberg en Gottsegen 1; Heath 114; Gottsegen 95; Paschkis en Taylor 205; Friedländer en Steinitz 84).

Op de positieve resultaten van bovengenoemde schrijvers is wel het een en ander aan te merken. Zeker is, dat de anaemie, welke met phenylhydrazine bij verschillende proefdieren zooals honden en konijnen kan worden opgewekt, wel zeer weinig gelijkt op de pernicioze anaemie (95; 205). Meer zou dit het geval zijn met de anaemie, die men met saponinen bij konijnen kan verkrijgen (205).

Paschkis en Taylor meenen, dat deze, zulks in tegenstelling met de phenylhydrazine anaemie, wèl door voorbehandeling met lever voorkomen kan worden. Toch heeft ook deze anaemie echter niet veel meer dan een oppervlakkige gelijkenis met de pernicioze anaemie; het beeld der pernicioze anaemie is toch nog wel iets anders dan deze experimenteele hyperchrome anaemie. Het behoeft dan ook nauwelijks te verwonderen, dat voor de levertoediening bij deze experimenteele anaemie, negatieve resultaten door anderen werden verkregen (146).

Rominger, Bomskov en medewerkers (220; 221) konden door uitsluitende geitenmelkvoeding bij 3—4 weken oude ratten een hyperchrome anaemie te voorschijn roepen, gepaard gaande met diarrhoe en vetontlasting. Ook deze anaemie zou weer door lever (injecties van hepatopson) te voorkomen zijn.

Een te onderzoeken praeparaat wordt werkzaam genoemd, indien minstens 4 van de 6 met lever behandelde dieren voor anaemie be-

schut worden. H a a s e (105) zag echter geen verbetering dezer geitenmelkanaemie bij jonge ratten door toediening van paardenlever, terwijl G y ö r g y (104) schrijft, dat het hem niet gelukte door eenzijdige voeding met geitenmelk bij ratten een hyperchrome anaemie te doen optreden. Zijn proefdieren waren ouder dan die van R o m i n g e r en hij meent dat hierdoor wellicht het verschillende resultaat is te verklaren. Wanneer men echter de uitkomsten van R o m i n g e r nagaat, dan blijkt de beschuttende werking der lever wel zeer problematisch te zijn; deze loopt trouwens voor de verschillende praeparaten zeer sterk uiteen.

W o l f f e n v a n E e k e l e n (310) konden aantonen, dat d e z e vorm van anaemie op een tekort aan ijzer en koper berust, terwijl de op spruw gelijkende verschijnselen mogelijk te wijten zijn aan een latente infectie der ratten, welke tengevolge van de dieetwijziging manifest wordt.

Dat een ijzer tekort de oorzaak der anaemie is blijkt ook uit het volgende: bij voortzetting van het dieet daalt het haemoglobinegehalte niettegenstaande lever werd gegeven. IJzertoeiening doet hierna snel het haemoglobinegehalte en erythrocytenaantal stijgen. Dit laatste pleit er sterk voor, dat het antipernicieus werkzame principe der lever niet de beschuttende factor voor deze anaemie is.

Door enkele andere onderzoekers werden soortgelijke proeven genomen, doch de waarde hiervan als test voor het werkzame leverprincipe is zeer twijfelachtig.

M c. G o w a n (175) zag door intraperitoneale inspuiting van leverextract verbetering optreden van een bij kippen voorkomende anaemie. Deze anaemie, die met leucaemische verschijnselen gepaard gaat, wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een bandworm. Slechts bij een gering aantal der geïnfecteerde dieren treedt deze anaemie op.

Wanneer men de verkregen uitkomsten nagaat, dan blijkt in vrijwel alle gevallen, na een aanvankelijke stijging van haemoglobinegehalte en erythrocyten, een daling op te treden, zelfs al wordt leverextract in groote hoeveelheden toegediend. Een blijvende genezing werd nooit gezien; vele vogels stierven spontaan. Werd het leverextract per os gegeven, dan was geen invloed op de anaemie te bemerken; dit maakt het waarschijnlijk dat de geringe verbetering der anaemie niet op een werking van het leverprincipe berust, doch eerder aan een niet specifieke beenmergprikkeling moet worden toegeschreven.

Een dergelijke beenmergprikkeling kan, vooral bij gevoelige proef-

dieren, door inspuiting van verschillende stoffen veroorzaakt worden (193) en uit zich soms alleen in een reticulocytose.

Zoo zagen enkele schrijvers een reticulocytose bij duiven optreden na toediening van werkzame leverextracten (115; 266), terwijl *Jacobson* (145) hetzelfde vermeldt bij chineesche biggetjes.

Bij deze proeven heeft men echter niet de minste zekerheid, dat deze reticulocytose door het antipernicieuze principe wordt te voorschijn geroepen. Ook niet ingespoten dieren vertoonen gelijk sterke wisselingen in het aantal reticulocyten! (117; 2).

Van geheel anderen aard is de proef van *Duesberg* en *Koll* (61). Volgens deze schrijvers zou, wanneer men 0.2 — 2cc leverextract gedurende $\frac{1}{2}$ —1 uur bij 38° op een haemoglobineoplossing laat inwerken, reeds methaemoglobine ontstaan. Antipernicieus werkzame extracten gaven deze methaemoglobinevorming te zien. Ook deze proef bleek niet juist te zijn (*Wilkinson* en *Klein* 299).

HOOFDSTUK II.

DE REACTIE VAN DEN LIJDER AAN PERNICIEUZE ANAEMIE OP LEVERTOEDIENING.

De veranderingen, speciaal die, welke in het morphologische bloedbeeld na levertoediening optreden, zijn van overwegend belang voor de beoordeeling van de werkzaamheid van een praeparaat. Teneinde later niet in herhalingen behoeven te vervallen, moge hier een korte bespreking dezer veranderingen volgen.

Een der eerste verschijnselen, waaraan men kan bemerken dat de patiënt op lever gaat reageeren, is een vermeerdering van het aantal reticulocyten, die gewoonlijk tusschen den 3den en 9den dag na het begin der leverbehandeling begint. (Minot, Murphy, e. a. 190, 191).

Het reticulocytenaantal, dat voor onbehandelde gevallen van pernicieuze anaemie in den regel niet meer dan 3 % bedraagt, neemt snel toe, stijgt in eenige dagen tot een zeker maximum, waarna weer een daling plaats vindt. In den regel duurt deze reticulocytenoename 7—9 dagen, waarna de reticulocyten nog gedurende een week iets vermeerderd blijven. De top dezer z.g. reticulocytenstoot of reticulocytencrise ligt tusschen den 6den en 9den dag na het begin der behandeling.

Reeds tijdens de reticulocytenstoot wordt een vermeerdering van het erythrocytenaantal en haemoglobinegehalte waargenomen; terwijl nu het aantal reticulocyten daalt, houdt de stijging van erythrocyten en haemoglobine aan tot nagenoeg normale waarden bereikt worden. In den regel wordt met voldoende leverdoseering, bij een anaemie van 1.500000 erythrocyten, een vermeerdering van 2.5 miljoen erythrocyten in 30 dagen verkregen. (193).

Deze drie verschijnselen, de reticulocytenstoot, het stijgen van de erythrocyten en van het haemoglobine, benevens het optreden van een clinische verbetering, vormen een voldoende maatstaf voor de beoordeeling van de werkzaamheid van een onbekend praeparaat, mits een spontane remissie kan worden uitgesloten. Treedt alleen een reticulocytenstoot op, dan mag hieruit nog niet besloten worden tot de

werkzaamheid van een dergelijk praeparaat. Hieraan is door meerdere onderzoekers onvoldoende aandacht geschonken met het gevolg, dat producten als werkzaam werden beschreven, welke het inderdaad niet waren. Vooral bij de parenterale toediening van praeparaten moet men voorzichtig zijn met conclusies. Extracten van lever of weefsel, die geen antipernicieuze werking bezitten, kunnen door hun gehalte aan proteïnen of nucleïnerivaten een prikkelende werking op het beenmerg uitoefenen, welke in het optreden van een reticulocytenstoot tot uiting kan komen (193). Hetzelfde moet gezegd worden van verschillende aminozuren, die wel voor het antipernicieuze principe zijn gehouden (Fontès en Thivolle). Uit het onderzoek van Minot, Murphy en Castle (190, 191, 193) blijkt, dat verschillende factoren op den aard van den reticulocytenstoot en de verbetering der anaemie van invloed zijn.

Bij een maximale leverdoseering treedt niet steeds een reticulocytenstoot op. Deze wordt alleen waargenomen bij anaemien, waarbij het aantal erythrocyten minder dan 3,000000 / $m.M^3$ bedraagt.

Voorts wordt het maximum van de reticulocytenstoot bij optimale levertoediening bepaald door den graad van de anaemie; hoe ernstiger de anaemie is, des te sterker zal de reticulocytose zijn.

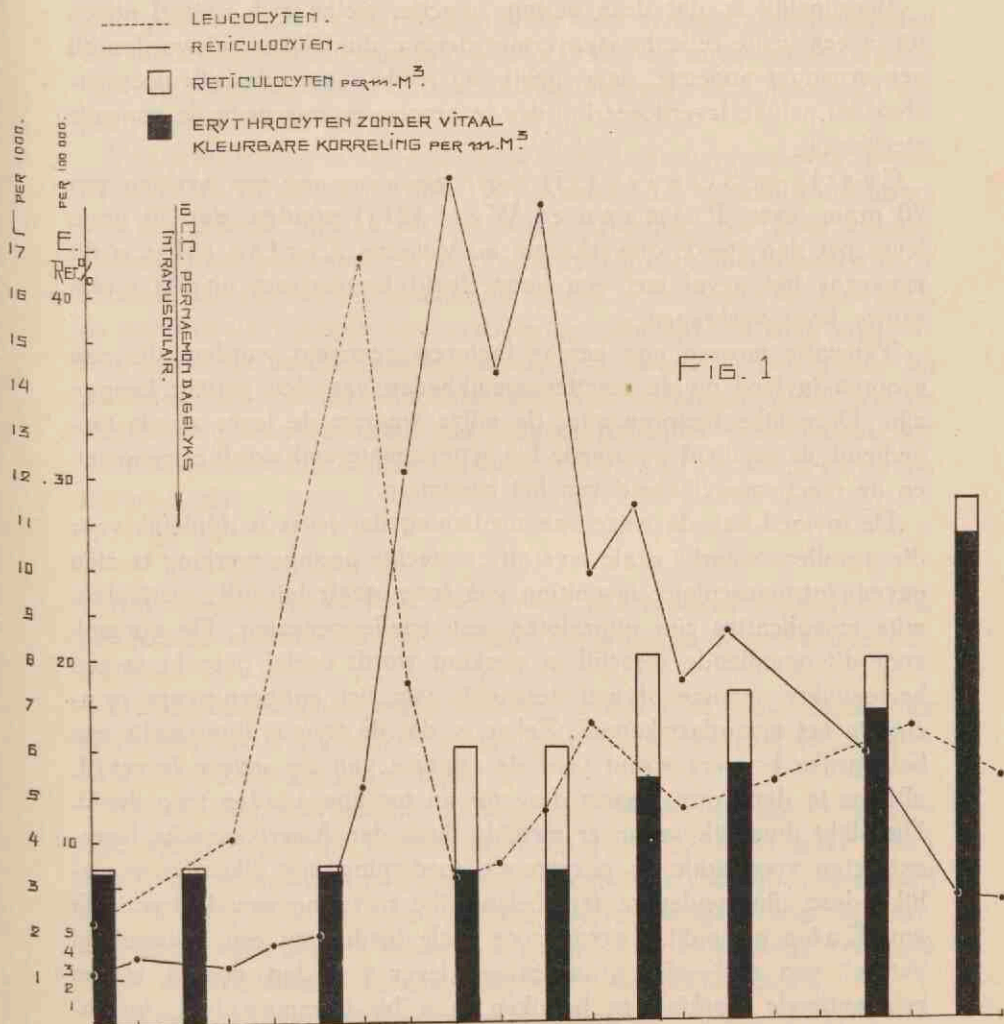
Het is te begrijpen, dat de toegediende dosis lever van grooten invloed op de bloedveranderingen zal zijn. Een hoeveelheid van 250—300 gram rauwe of even gekookte lever per dag gaf bij ongecompliceerde gevallen gewoonlijk een optimale reactie (190, 192); bij sommige patiënten was dit echter reeds met 150 gram lever te bereiken, anderen hadden aan 600 gram lever en meer niet voldoende (33).

Er waren dus blijkbaar sterke individuele verschillen voor de optimaal werkende leverdosis (de adaequate dosis, 191, 121, 309).

Voor het orale leverextract was deze adaequate dosis in den regel de hoeveelheid extract verkregen uit 400 gram rauwe lever. Ook hierbij zijn soms sterke individuele verschillen waar te nemen (158, 191, 245, 10). Bij de intramusculaire toediening geldt dit in mindere mate, hoewel hier toch ook wel verschillen zijn waargenomen. (152). Stijgt men nu met de leverdosis boven de adaequate, dan neemt de reticulocytose niet toe; hoogstens begint de reticulocytenvermeerdering iets eerder en valt een aanvankelijk iets snellere erythrocytentoe name waar te nemen, doch het eindresultaat, het genezen zijn der anaemie, wordt in gelijken tijd bereikt als met de adaequate leverdosis. Wordt daarentegen de adaequate leverdosis verminderd, dan

nemen de reticulocyten minder snel in aantal toe; het maximum der reticulocytentoe name treedt later op en kan dan wel na den 10den dag der eerste levertoediening vallen, terwijl hierna de reticulocytose wat langer aanhoudt. De toename van het aantal erythrocyten wordt dan pas duidelijk na de reticulocytenstoot; tevoren kunnen de erythrocyten tijdelijk zelfs iets terug gaan (85, 190), wat wel wordt toegeschreven aan een toename van het bloedvolume.

Vooral in gevallen van ernstige anaemie, wanneer een maximale leverdosis wordt gegeven, vindt de erythrocytenvermeerdering reeds



tijdens de reticulocytenstoot plaats. Deze vermeerdering is dan uitsluitend het gevolg van de zeer sterke reticulocytose (191, 193). (figuur 1).

De minimum dosis lever, waarbij juist geen reactie meer wordt waargenomen, is niet met zekerheid bekend. Deze zal niet alleen individueel verschillen, doch ook de graad der anaemie zal van invloed hierop zijn. Minot (190) vond, dat 70 gram lever per dag nog eenige reactie gaf bij een anaemischen patiënt, die 1.250000 erythrocyten per $m.M^3$ had.

Begrijpelijk is, dat deze geringe reactie, welke zich vrijwel alleen uit in een lichte reticulocytenvermeerdering, duidelijker zal worden bij een ernstiger anaemie, daar, gelijk wij reeds zagen, de reticulocytenstoot bij gelijke leverdoseering des te grooter is, naarmate de anaemie sterker is.

Castle en Strauss (35) zagen eveneens nog een werking van 70 gram lever. Reimann en Weil (213) vonden, dat 30 gram lever per dag steeds onwerkzaam is. Volgens Zervas (313) is dit eveneens het geval met een hoeveelheid leverextract uit 100 gram rauwe lever verkregen.

Tenslotte moeten nog eenige factoren genoemd worden, die van grooten invloed op de reactiemogelijkheden van den patiënt kunnen zijn. Dergelijke factoren zijn: de wijze waarop de lever wordt toegediend, de snelheid waarmede het actieve materiaal wordt opgenomen en de reactiemogelijkheid van het beenmerg.

De invloed van de wijze van toediening der lever is duidelijk voor die gevallen, waarbij orale levergiften slechts geringe werking te zien geven; intramusculaire inspuiting van lever geeft bij zulke patiënten, mits complicaties zijn uitgesloten, een snelle genezing. De oorzaak voor dit opvallende verschil in werking wordt veelal gezocht in een bemoeilijkte opname of wel destructie van het antipernicieuze principe in het maagdarmkanaal. Zeker is, dat de tractus intestinalis een belangrijke barrière vormt voor de opname van de actieve leverstof, althans in den vorm waarin deze tot nu toe kon worden toegediend. Dit blijkt duidelijk, wanneer men de dosis der Amerikaansche leverextracten voor orale en parenterale toediening met elkander vergelijkt; deze zijn zonder verdere belangrijke zuivering van de fractie G van Cohn gemaakt. Terwijl voor orale toediening een hoeveelheid extract van 400—600 gram rauwe lever per dag noodig is om een optimale werking te bereiken, kan bij intramusculaire inspui-

ting hetzelfde effect worden verkregen met een hoeveelheid extract uit 10 gram rauwe lever (Minot 192; Conner 46).

Bij parenterale toediening is de lever ongeveer 40—60 maal werkzaam dan bij oraal gebruik (253; 141; 193).

Een dergelijk opvallend verschil is moeilijk anders te verklaren, dan door aan te nemen, dat slechts geringe hoeveelheden werkzame stof geresorbeerd worden, resp. tot werking komen, bij oraal gebruik.

De snelheid, waarmede het actieve materiaal wordt toegevoerd, kan verder van eenigen invloed op het verloop der reticulocytencurve zijn. Zoo geeft een enkele zeer groote dosis lever een iets eerder optreden der reticulocytenvermeerdering te zien (141); bij intraveneuze injectie van een dergelijke dosis kunnen de reticulocyten reeds binnen 24 uur gaan vermeerderen (89).

Van meer belang is de reactiemogelijkheid van het beenmerg. Reeds Minot en Murphy (189, 190) vonden, dat verschillende infecties een patiënt tijdelijk als het ware refractair voor lever kunnen maken en dat gedurende zoo'n infectie zeer groote hoeveelheden lever noodzakelijk zijn om het bloedbeeld op peil te houden. Ook hier heeft de parenterale therapie veel verbetering gebracht. Behalve voor infecties als pneumonie, pyelitis, sepsis e. a., werd dit ook gezien bij patiënten met ernstige arteriosclerose. Aan dit laatste wordt wel de waarneming toegeschreven, dat jongere patiënten veelal sneller op lever reageren dan oudere personen (Gänsslen 85; Beebe en Lewis 10).

Het bloedonderzoek leert, dat vrijwel alle typische kenmerken der pernicieuze anaemie bij een streng doorgevoerde levertherapie verdwijnen.

De kleurindex daalt reeds vrij snel, wordt 1 of soms wel kleiner dan 1 (Minot, Cohn, Murphy en Lawson 191; Minot en Murphy 189; Zerkas 313).

Bij een lang voortgezette therapie zou volgens sommige schrijvers zelfs een polyglobulie kunnen optreden (216; 275). Minot (192) meent, dat deze lichte polyglobulien slechts van voorbijgaanden aard zijn. In ieder geval mag het optreden hiervan, volgens hem, op zichzelf geen reden zijn de therapie te staken; het vormen van een flink depot aan werkzame stof moet een eerste vereischte blijven.

De megalocytose verdwijnt; langzamerhand verkrijgen de erythrocy-

ten weer nagenoeg hun normale grootte, hetgeen duidelijk in de Price-Jones curve tot uiting komt (112).

De kernhoudende erythrocyten in het perifere bloed verdwijnen snel; in de eerste dagen der leverbehandeling kunnen deze, vóór dat de reticulocytenstoot gaat optreden, gedurende korten tijd vermeerderd zijn (Minot, Murphy en Stetson 190).

Opmerkelijk is ook, naar uit de onderzoeken van Tempka en Braun (256) en van der Merwe (177) blijkt, de algeheele verandering, die zich in het beenmerg voor doet onder invloed van de levertherapie. In korten tijd maakt o.a. de hierin aanwezige megaloblastose plaats voor een normoblastische erythropoese. Een dergelijke verandering is typisch voor de behandeling met lever of maag en wordt ook bij de spontane remissies waargenomen, terwijl onder invloed van een arsenicumbehandeling, ook al is een verbetering der anaemie in het perifere bloed waar te nemen, deze omslag in een normoblastische bloedvorming niet optreedt (256).

In het witte bloedbeeld verdwijnt de hypersegmentatie, de leucopenie maakt plaats voor normale leucocytenwaarden, terwijl herhaaldelijk eosinophilie soms wel tot 20 % wordt waargenomen (189).

Een enkele maal kan men getijktijdig met het begin der reticulocytenvermeerdering of even hiervoor, een vrij sterke leucocytose vinden (figuur 1), terwijl dan in het uitstrijkpraeparaat myelocyten kunnen te zien zijn (Zerfas 313). Soms is deze leucocytose zeer sterk. Het bloedbeeld kan dan veel op leucaemie gelijken (Brugsch en Naegelsbach 21). Ook de thrombopenie, die bij onbehandelde patiënten aanwezig kan zijn, verdwijnt (189, 190, 193, 313).

Het cholesterinegehalte van het bloed, dat in den regel verminderd is, stijgt onder leverbehandeling tot normale waarden (257, 274). Tenslotte moge nog een opmerking over het bilirubinegehalte van het serum volgen. Meestal wordt dit bij onbehandelde gevallen verhoogd gevonden. Onder invloed der levertherapie ziet men het bilirubinegehalte snel dalen (Minot en Murphy 188 en 189; Zerfas 313; Rusznyák en v. Engel 222).

Zerfas schrijft hierover: „The blood bilirubin became normal or less than normal by the end of the first two or three weeks.”

Bij een daartoe ingesteld onderzoek in onze kliniek (140) bleek, dat tijdens de leverbehandeling bij verschillende gevallen van pernicieuze anaemie geen bilirubine in het serum aantoonbaar was (tabel I).

TABEL I.

Bilirubinewaarden in het bloedserum bij patiënten met pernicieuze anaemie tijdens intramusculaire behandeling met lever.

Weken na het begin der Lever-behandeling.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
No. 1	5E	4.4E	0.4E	—	spoor	0E	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2	2.3E	1.3E	0.4E	spoor	spoor	0E	0E	—	—	—	—	—	—	—
" 3	2.1E	1.2E	—	0.5E	0E	0E	0E	—	—	—	—	—	—	—
" 4	3E	1.7E	0.9E	spoor	spoor	0.3E	0.8E	0.9E	—	—	—	—	—	—
" 5	1.5E	—	—	—	0E	0E	—	0E	0E	—	spoor	—	—	—
" 6	1.4E	1.1E	—	0.4E	0.3E	0.3E	0.3E	0.3E	—	0E	—	0E	—	0.7E
" 7	2.5E	1.4E	1.2E	—	0.2E	0.1E	—	—	0.1E	—	—	—	—	—
" 8	3E	—	1.2E	1E	1E	spoor	0.3E	1.6E	2.E	—	—	—	—	—

Naast de bovenbeschreven veranderingen, die men bij onderzoek van het bloed aantreft, moet de klinische verbetering worden genoemd.

Merkwaardig is vooral, dat zoo snel na de eerste levertoedieningen subjectief een belangrijke beterschap wordt gevoeld (130, 245, 253, 89); deze kan reeds duidelijk waarneembaar zijn vóór dat een verbetering der anaemie is ingetreden.

De gelaatskleur verandert, het smaakgevoel verbetert, de tongklachten verminderen, de eetlust neemt toe, kortom in enkele dagen treedt een zeer opvallende wijziging in den algemeenen toestand in. In vele gevallen ziet men de papillenteekening van de tong weer te voorschijn komen (236). Hier moge vermeld worden, dat *Ungley* en *Davidson* (264) in hun laatste publicatie een opvallende verbetering van de tong en ruggemergverschijnselen beschrijven, na de behandeling met de ver gezuiverde leverfractie van *Dakin* en *West*.

Het ligt buiten de bedoeling van dit proefschrift hier nader op in te gaan, doch de vraag doet zich voor of de genoemde verschijnselen wel door een stoornis in de verwerking van den factor, die tegen pellagra beschut, kan worden verklaard. Naar aanleiding dezer recente publicatie, moet men er m. i. eerder toe komen ook het optreden dezer trophische stoornissen aan een tekort aan antipernicieus werkzaam leverprincipe toe te schrijven.

De achylia gastrica schijnt vrijwel het eenigste symptoom te zijn, dat door de levertherapie niet beïnvloed wordt. Er zijn echter enkele schrijvers, die ook de achylie een enkele maal na leverbehandeling zagen verdwijnen. Het valt echter te betwijfelen of men voor al deze gevallen wel van pernicieuze anaemie mag spreken. Hurst (134) meent, dat men alleen in die gevallen, waar de achylie het gevolg is van een chronische gastritis, eventueel een terugkeerende zoutzuurafscheiding kan verwachten. Een terugkeerende zoutzuursecretie werd beschreven door Shaw (232), Heeres (116), Mc. Peak en Neighbor (176), Seyderhelm en Opitz (229), Hurst (133), Connery en Joliffe (49) en Alsted (3).

De patiënte van Heeres wordt als een zeker geval van pernicieuze anaemie beschreven; opgemerkt moet echter worden dat de anaemie bij deze 28 jarige vrouw in aansluiting aan een graviditeit optrad en hier aan de mogelijkheid van een graviditeitsperniciosa gedacht moet worden.

Van de beide gevallen door Alsted vermeld, blijkt het eene een niet tropische spruw te zijn; de andere patiënt had vóór de leverbehandeling geen vrij zoutzuur in het maagsap. Het totaal zuurgehalte was echter 38, een zoo hooge waarde als men bij de pernicieuze anaemie slechts zelden ziet; men moet zich dan ook afvragen of deze patiënt ook voor de behandeling wel een achylie had, temeer daar het onderzoek van het maagsap na toediening van het Ewaldproefontbijt geschiedde, zonder dat hierbij histamine te voren was gegeven.

We zien dus, dat vrijwel alle verschijnselen, doch vooral de afwijkingen in het bloed, onder leverbehandeling verdwijnen; een uitzondering vormen hierop wellicht de achylie en voor een deel de neurologische symptomen. Welhaast steeds zal men de patiënten lever moeten laten gebruiken. Slechts enkele gevallen van spontane genezing zijn bekend (Shaw 232; von Willebrand 301; Lindbom 166; Tallquist 255; Larsen 160).

Voor al patiënten op jeugdiger leeftijd schijnen na een eerste kuur vrij lang zonder levergebruik te kunnen (86). Na korteren of langeren tijd komen de verschijnselen echter steeds weer terug. Een intercurrente ziekte kan dan het optreden der anaemie verhaasten.

HOOFDSTUK III.

DE THEORIE VAN CASTLE.

Reeds langen tijd voor de onderzoekingen van Castle werd door vele schrijvers een belangrijke beteekenis aan de achylia gastrica voor het ontstaan der pernicieuze anaemie toegekend.

Fenwick (74) beschreef al in 1877 de atrophie van het maagslijmvlies, terwijl Cahn en von Mehring (24) op de veranderde maagsapafscheiding wezen.

Door vele schrijvers werd hierna op de zoo constant voorkomende achylie gewezen (Faber 70, 71; Weinberg 276; Levine en Ladd 165; Campbell en Connybeare 25; Wilkinson 293 en anderen).

Toch komen er ongetwijfeld, al is het dan ook sporadisch, gevallen van pernicieuze anaemie voor, waarbij vrij zoutzuur kan worden aangetoond. Wilkinson (293, 203) verzamelde 74 gevallen uit de literatuur. Zeker zijn hieronder verscheidene gevallen, bij welke aan de diagnose getwijfeld moet worden, doch ook al schakelt men deze uit, dan blijven volgens Alsted (3) toch nog 32 gevallen over, waar de diagnose vast schijnt te staan.

Voor de Engelsche onderzoeker Hurst (131, 134) kende aan de achylie een overwegende beteekenis toe voor het tot stand komen der pernicieuze anaemie; volgens hem is de achylie niet een gevolg, doch veeleer de oorzaak der ziekte. Deels acht hij haar veroorzaakt door een „familial error of function”, waarvoor het familiair voorkomen van pernicieuze anaemie en het aanwezig zijn van achylie bij verschillende leden der familie pleit (Weinberg 276; Hurst 132; Meulengracht 180; Wilkinson en Brockbank 291 e. a.); deels is deze achylie wellicht het gevolg eener vroeger doorgemaakte gastritis (132).

Hurst, hoewel de achylie als de primaire oorzaak beschouwend, meende aan de abnormale darmflora, welke als gevolg van de achylie in de bovenste deelen van het maagdarmkanaal optreedt, de ziekteverschijnselen te mogen toeschrijven; in het bijzonder dacht hij aan de toxinen van streptococcen.

Het zou te ver voeren hier op de vele theoriën, die over het ont-

staan der pernicieuze anaemie zijn opgesteld, nader in te gaan; verwezen zij voor literatuur naar *Naegeli* (199) en het proefschrift van *Vedder* (269).

Het onderzoek van *Castle* en medewerkers heeft een verband tusschen maagfunctie en pernicieuze anaemie duidelijk aangetoond. Zij vonden in normaal maagsap een stof, door hen „intrinsic factor” genoemd, die op bepaalde voedselbestanddeelen den „extrinsic factor” inwerkende, een tegen de pernicieuze anaemie werkzaam principe doet ontstaan. Dit principe wordt vervolgens geresorbeerd en voornamelijk in de lever opgestapeld.

Aanvankelijk werden de proeven zoo ingericht, dat een normaal persoon 300 gram rauwe fijn gemalen biefstuk te eten kreeg; na een uur werd, door de pharynxwand te prikkelen, de maaginhoud te voorschijn gebracht en deze hierna gedurende 6—30 uur bij een pH van 2.5 — 3 in de broedstroof op 37 ° gezet. Vervolgens werd deze brei gezeefd, de verkregen vloeistof geneutraliseerd en gedurende 9—10 dagen aan een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie toegediend (26, 27). Bij het meerendeel der patiënten trad een reticulocytentoot op, gepaard gaande met een stijging van de erythrocyten en duidelijke klinische verbetering.

In latere proeven werd het benodigde maagsap na een voorafgaande histamine-injectie uitgeheveld en had de voorvertering alleen in de broedstroof plaats (28). Het resultaat was gelijk aan dat van de eerste proeven.

Uit verder onderzoek bleek nu, dat, terwijl het mengsel van normaal maagsap en biefstuk werkzaam was, normaal maagsap en biefstuk ieder voor zich onwerkzaam waren. Dit laatste was ook het geval met het product van biefstuk en maagsap van een lijder aan pernicieuze anaemie. Uit deze proeven volgt, dat in het normale maagsap een stof voorkomt (intrinsic factor), die opzichzelf onwerkzaam is, doch blijkbaar zekere bestanddeelen uit het vleesch noodig heeft (extrinsic factor), ten einde een werkzaam product te vormen.

De intrinsic factor ontbrak in het maagsap van lijders aan pernicieuze anaemie en was, naar later bleek (29), niet identiek met zoutzuur, pepsine of leb.

De extrinsic factor.

Omtrent den aard van den extrinsic factor is slechts weinig met zekerheid bekend.

Aanvankelijk veronderstelden Strauss en Castle (246), dat deze identiek was met vitamine B₂; zij kwamen hiertoe naar aanleiding hunner proeven met „Vegex”, een geautolyseerd gistpraeparaat, dat uit brouwersgist verkregen wordt en overeenkomt met het hier te lande veel gebruikte marmite.

Wanneer dagelijks 12 gram van een dergelijk praeparaat aan een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie werd gegeven, was geen werking te zien; wel was dit het geval, indien de geautolyseerde gist te voren met normaal maagsap geïncubeerd werd, op de wijze gelijk dit voor biefstuk was beschreven. Hieruit werd besloten, dat geautolyseerde gist, evenals vleesch, extrinsic factor zou bevatten.

De extrinsic factor bleek oplosbaar te zijn in water en in alcohol 80 % en was tamelijk thermostabiel. Op grond van deze eigenschappen meenden Strauss en Castle, dat de extrinsic factor waarschijnlijk gelijk aan vitamine B₂ zou zijn. Deze conclusie bleek evenwel voorbarig. Wills (305), Groen (99) en anderen (60, 161, 262, 270) toonden op overtuigende wijze aan, dat vitamine B₂ en de extrinsic factor niet identiek waren.

Niet alle schrijvers zijn het over de werking van marmite eens; terwijl Strauss en Castle van geautolyseerde gist zonder te voren met maagsap geïncubeerd te zijn, geen werking zagen, zou volgens Goodall (92), Ungley (260, 261) en Davidson (56), ook marmite alléén, in een aantal gevallen een verbetering der anaemie geven. Groen (99) kon daarentegen van marmite, evenals Davidson (54) voor de meeste gevallen van pernicieuze anaemie, geen werking waarnemen.

Ungley (262) verklaart deze tegenstelling door te veronderstellen, dat de gevallen van pernicieuze anaemie, waarbij marmite alléén een verbetering geeft, veroorzaakt worden deels door eenzijdige voeding arm aan extrinsic factor, deels door een verminderde afscheiding van den intrinsic factor, tengevolge waarvan een onvoldoende vorming van anti-pernicieus werkzame stof plaats vindt. Worden injecteerbare praeparaten volgens de leverextractiemethode uit marmite bereid, dan zijn deze bij intramusculaire injectie niet werkzaam, óók in die gevallen, waar later marmite, per os gegeven, wél werkte (Ungley 262). Dit pleit eerder tegen de veronderstelling, dat in de marmite antipernicieus werkzame principe aanwezig zou zijn. Zeker is in ieder geval, dat geautolyseerde gist, met normaal maagsap geïncu-

cubeerd, een duidelijke werking te zien geeft, zulks in tegenstelling met niet geautolyseerde gist (161).

Waarschijnlijk ontstaat de extrinsic factor tijdens het bereiden van marmite uit gist (Groen).

Welke voedselbestanddeelen komen nu als bron van extrinsic factor in aanmerking?

Van verschillende zijden zijn hier onderzoekingen over verricht; behalve in vleesch en geautolyseerde gistpraeparaten werd de extrinsic factor gevonden in rijstvliesjes (Castle 34; de Langen 157) en mogelijk ook in tarwekiemen (Ungley 261). Volgens Singer (235) zou zij eveneens in kippeneieren voorkomen. Terecht schrijft Groen, dat op deze laatste proeven critiek is uit te oefenen, daar de werkzaamheid van het ei-maagsapmengsel alleen beoordeeld werd naar het optreden van een slechts geringe reticulocytenvermeerdering.

Groen meent, dat waarschijnlijk ook tomaten extrinsic factor bevatten; terwijl tomaten, met normaal maagsap voorbehandeld, geen remissie gaven, bleek dit wel het geval te zijn met een geautoclaveerd tomatenextract. Eén keer gaf een dergelijk extract, met normaal maagsap geïncubeerd, een werking te zien; bij een anderen patiënt werd de werkzaamheid niet met zekerheid aangetoond, terwijl een derde patiënt niet reageerde.

Noch gistextracten, noch geautoclaveerde vruchtenextracten zijn echter bestanddeelen van het dagelijksch voedsel, en het is vooralsnog niet duidelijk uit welke voedingsmiddelen de normale mensch extrinsic factor punt; bovenal geldt dit voor den vegetarisch levenden mensch.

Men is dus wel genoodzaakt te veronderstellen dat in nog andere plantaardige voedingsmiddelen extrinsic factor aanwezig is, tenzij de opvatting van Castle op dit punt niet juist zou zijn.

Reeds voor eenige jaren werd door enkele schrijvers (Morris 195; Bence 12) aan de theorie van Castle getwijfeld. Zij kwamen op grond hunner proeven tot de meening, dat de maagwand zelf in staat is een antipernicieus werkzame stof af te scheiden. Deze proeven zullen nog later ter sprake komen; hier moge reeds opgemerkt worden, dat de experimenten der genoemde schrijvers niet afdoende de meening van Castle weerleggen. Van grooter belang schijnt in dit opzicht de recente mededeeling van Greenspon (98).

In tegenstelling met Castle en andere onderzoekers, meent

Green s p o n, dat normaal maagsap een werking vertoont, indien dit zoodanig wordt opgevangen, dat een pepsinewerking wordt uitgeschakeld. Volgens deze zienswijze, waarop wij nog in hoofdstuk VI terugkomen, moet het therapeutisch effect van biefstuk, geïncubeerd met normaal maagsap, zóó verklaard worden, dat het pepsine gelegenheid heeft op de biefstuk in te werken of hieraan gebonden wordt, waardoor de werkzame maagfactor als het ware voor een pepsine inwerking behoedt wordt.

Indien de proeven van Green s p o n bevestigd worden, heeft het weinig zin van extrinsic factor te spreken; overigens wordt hierdoor aan de verdienste van Castle, de ontdekking van den antipernicieus werkzamen maagfactor, in het minst geen afbreuk gedaan.

De intrinsic factor.

Vrij algemeen wordt aangenomen, dat de werkzame maagfactor een enzyme is. Hij is niet identiek met zoutzuur, leb of pepsine, daar biefstuk met zoutzuur-pepsine geïncubeerd, onwerkzaam was, zulks in tegenstelling met het product van biefstuk en normaal maagsap (29).

Voorts kon later worden aangetoond, dat bij behouden zoutzuur-pepsine afscheiding, de intrinsic factor toch afwezig kan zijn, terwijl omgekeerd, bij patiënten met achylie, doch zonder pernicieuze anaemie, de intrinsic factor in eenige gevallen aanwezig was; tenslotte bleek het normale maagsap, indien te voren pepsine en leb werden verwijderd, na incubatie met biefstuk nog werkzaam te zijn (30).

Bebroeden van het maagsap-biefstuk mengsel op pH 2.5—3.5, gelijk in de eerste proeven werd beschreven, is niet noodzakelijk om een werkzaam product te doen ontstaan; in later verrichte proeven werd geïncubeerd bij pH 7, zonder dat hierdoor de werkzaamheid van het product verminderde.

De intrinsic factor bleek verder thermolabiel te zijn; door verhitting gedurende eenige dagen op 45 °, een half uur op 60—70 ° of koken gedurende 5 minuten, wordt deze vernietigd. Het is op grond van deze thermolabiliteit, dat de intrinsic factor voor een enzyme wordt gehouden (29). Behalve maagsap, bleek ook duodenumsap na verwerking met biefstuk een goede reactie te geven; speeksel was niet werkzaam. Volgens Castle is duodenumsap werkzaam, doordat er steeds wat maagsap mede vermengd is. Wordt namelijk het duodenumsap zoodanig opgevangen, dat het zoo min mogelijk met

maagsap verontreinigd is, dan is het na incubatie met biefstuk niet meer werkzaam.

Wanneer men nu de literatuur nagaat, dan blijken de proeven van Castle slechts door enkelen, en dan nog slechts zeer fragmentarisch, nagewerkt te zijn. Voor een groot deel moet dit worden toegeschreven aan de vele technische bezwaren, welke een uitvoering dezer experimenten in den weg staan.

Door Hartfall en Witts (110) werd het ontbreken van den intrinsic factor in het maagsap van den lijder aan pernicieuze anaemie bevestigd.

Daarentegen konden Barnett (6) en Váradí (265) ieder bij één patiënt aantonen, dat dergelijk maagsap intrinsic factor kan bevatten. Deze waarneming behoeft nog geenszins in strijd te zijn met de theorie van Castle, gelijk beide schrijvers meenen; immers kan men gevallen van pernicieuze anaemie, waarbij de afscheiding van den intrinsic factor niet geleden heeft, aan verschillende andere oorzaken toeschrijven. Zoo kon b.v. Schlesinger (226) bij een patiënt met dunne darmstenose en een bloedbeeld, dat niet van dat der pernicieuze anaemie te onderscheiden was, in het maagsap, dat vrij zoutzuur bevatte, de intrinsic factor aantonen. Het ligt voor de hand in zulke gevallen, waar blijkbaar de vorming van het antipernicieus werkzame principe ongestoord plaats vindt, een belemmerde opname van dit principe aan te nemen. Deze en andere afwijkingen, welke tot het ontstaan eener pernicieuze anaemie aanleiding kunnen geven, komen in het volgende hoofdstuk ter sprake.

Voorts moet worden opgemerkt, dat zoowel de patiënt van Barnett als van Váradí, beiden vrij zoutzuur in het maagsap hadden; weliswaar kan dit, gelijk wij reeds zagen, een enkele maal bij de pernicieuze anaemie het geval zijn, doch het blijft een hooge uitzondering en moet een reden zijn de diagnose nog eens grondig te herzien.

Hoe dit ook zij, zeker is, dat deze patiënten nu niet bepaald als geschikte gevallen kunnen worden beschouwd, om het ontbreken van den intrinsic factor bij de pernicieuze anaemie aan te toonen.

In tegenstelling met Castle, vonden ook Isaacs en Goldhamer (142), dat in het maagsap van lijders aan pernicieuze anaemie intrinsic factor aanwezig was; de reactie van den proefpersoon op het toegediende maagsap-biefstuk mengsel, is echter, vooral wat de erythrocyten en het haemoglobine betreft, zeer matig te noemen.

Op grond van deze proef meenen zij, dat niet zoozeer een ontbreken van den intrinsic factor, als wel de sterk verminderde afscheiding van het maagsap en een hierdoor optredend te kort aan anti pernicious werkzame stof, de oorzaak is voor het ontstaan der anaemie.

Castle vond, dat normaal maagsap zonder biefstuk verwerkt geen werkzaamheid vertoonde. Dit werd bevestigd door Middleton en Stiehm (187) en Helmer, Fouts en Zervas (119, 81) en Vlados, Bagdasarov, Dulcin en Bondarenko (270). Coggeshal (38) vond hetzelfde voor hondenmaagsap, terwijl dit maagsap met biefstuk, volgens de methode van Castle verwerkt, wel werkzaam zou zijn (Guttzeit en Herrmann 103); de uitkomsten dezer laatste schrijvers zijn echter weinig overtuigend.

Van verschillende zijden werd de werkzaamheid van het product van biefstuk en normaal menschelijk maagsap bevestigd (259, 110, 100, 11, 18, 147); gelijk werkzaam is in dit opzicht rundermaagsap uit de lebmaag (Williams en van der Veer 302) en varkensmaagsap (Braun 18); alleen Franke (82) zag bij 2 patiënten van het biefstuk-normaalmaagsap mengsel vrijwel geen effect.

Het bestaan van een achylie behoeft vanzelfsprekend niet gepaard te gaan met een ontbreken van den intrinsic factor. Zoo vond Castle (31) bij patiënten met achylie en normaal bloedbeeld of hypochrome anaemie, dat het maagsap intrinsic factor bevatte.

Omgekeerd kan, bij aanwezigheid van vrij zoutzuur en pepsine, de intrinsic factor ontbreken en zodoende aanleiding geven tot het optreden eener pernicieuze anaemie.

Castle (31) kon dit aantonen bij een patiënt met spruw en één met multiple darmanastomosen.

Bij den laatsten patiënt werd, nadat hij met lever behandeld was, het onderzoek op den intrinsic factor nog eens herhaald; deze bleek toen aanwezig te zijn.

Castle veronderstelt, dat bij dezen patiënt de afscheiding van den intrinsic factor, tengevolge van de ingestelde levertherapie, weer is gaan plaats vinden. Voor de zeldzame gevallen van pernicieuze anaemie, die spontaan genazen, wordt sindsdien een gelijke verklaring aanvaard. Ook hier zou een terugkeeren van de afscheiding van den intrinsic factor de genezing te weeg brengen, evenals voor de spontane remissies een tijdelijke afscheiding wordt aangenomen. Be-

wezen is dit echter nooit, alhoewel het de eenigste aannemelijke verklaring schijnt te zijn. Toch is het niet zoo zeker, dat, in het zoeven vermelde geval van multiple darmanastomosen, een terugkeerende afscheiding van den intrinsic factor heeft plaats gevonden.

Bij het eerste onderzoek werd 75 cc van het maagsap dagelijks met biefstuk verwerkt. Hierop reageerde de proefpersoon niet; dit behoeft echter niet op een ontbreken van den intrinsic factor in het onderzochte maagsap te berusten. De oorzaak van het uitblijven eener reactie kan ook in den proefpersoon gelegen zijn; immers niet iedere onbehandelde pernicieuze anaemie zal op het product van normaal maagsap en biefstuk kunnen reageeren, daar dit in werking hoogstens met 200 gram rauwe lever per os overeenkomt.

Het ware daarom juister geweest, na de proef met het maagsap van den patiënt met multiple anastomosen, een contrôleproef met een gelijke hoeveelheid normaal maagsap te nemen, teneinde de reactiemogelijkheid van den proefpersoon na te gaan. Nu dit werd nagelaten, zegt deze proef weinig en moet de mogelijkheid opengelaten worden, dat het maagsap toch intrinsic factor bevatte.

Door enkele schrijvers werd het maagsap van patiënten met achylie zonder pernicieuze anaemie onderzocht.

Volgens *Castle* bevat dit maagsap den intrinsic factor. De resultaten van anderen zijn echter niet eensluidend. Zoo meent *Barnett* (7), dat in dit maagsap geen intrinsic factor aanwezig is; de door hem genomen proeven zijn echter van weinig waarde, daar de maag met physiologisch water uitgespoeld werd, teneinde voldoende maagsap te verkrijgen.

Het is duidelijk, dat men niet de minste zekerheid heeft, dat op deze wijze een voldoende hoeveelheid maagsap verkregen wordt.

Singer (236) vond in overeenstemming met *Castle*, dat in dergelijk maagsap intrinsic factor aanwezig was.

De werking wordt echter alleen beoordeeld naar het optreden van een slechts matige reticulocytenvermeerdering, zoodat het positieve resultaat dezer proef met de noodige reserve aanvaard moet worden. De uitkomsten van de experimenten, genomen door *Hartfall* en *Witts* (110), zijn evenmin eensluidend.

In 4 proeven werd slechts éénmaal een duidelijke reactie waargenomen, één maal een twijfelachtig effect, terwijl twee maal de proefpersoon niet reageerde.

Vastgesteld mag dus worden, dat de genoemde onderzoekingen

geen voldoende bevestiging geven voor de opvatting van Castle en de algemeen in de literatuur geldende meening, dat maagsap van patiënten met achylie, zonder pernicieuze anaemie, den intrinsic factor bevat. Toch moet men wel aannemen, dat een dergelijke factor aanwezig is, daar een ontbreken ongetwijfeld tot het optreden eener pernicieuze anaemie aanleiding zou geven. Verschillende verklaringen kan men voor deze negatieve proeven opstellen.

Bekend is b.v., dat de achylie jaren aan de eerste verschijnselen der anaemie vooraf kan gaan (Levine en Ladd 165; Faber en Gram 71; e. a.); waarschijnlijk is ook de afdeeling van den intrinsic factor in deze gevallen geruimen tijd vóór het optreden der anaemie verminderd of opgeheven.

Met het maagsap van een dergelijken patiënt, zal een Castle-proef negatief uitvallen.

Meer waarschijnlijk is, dat het negatief uitvallen dezer proeven te wijten is aan de betrekkelijk geringe hoeveelheden maagsap (voorzover opgegeven ± 75 cc.), welke hierbij verwerkt werden; van normaal maagsap heeft men al minstens 75 cc per dag noodig, om met het maagsap-biefstuk mengsel een reactie te verkrijgen.

Denkbaar is voorts, dat op andere plaatsen in het maagdarmkanaal, b.v. in het duodenum (zie blz. 38), stoffen worden afgescheiden, die, bij een ontbreken van den intrinsic factor, het optreden eener pernicieuze anaemie verhinderen.

Uit de bovenvermelde literatuur blijkt, dat verschillende proeven, waarop Castle zijn theorie baseerde, slechts ten deele door anderen bevestigd werden.

Het is dan ook wel wat al te voorbarig om, gelijk Beebe en Lewis (11) voorstellen, de Castle-proef als diagnosticum bij de anaemien in te voeren. Wel staat vast, dat de maag, gelijk het onderzoek van Castle ons geleerd heeft, een belangrijke rol speelt bij de bloedvorming; dat zij een antipernicieus werkzame factor bevat, blijkt niet alleen uit de werkzaamheid van normaal maagsap-biefstuk mengsels, doch ook uit de prachtige therapeutische resultaten, welke met maagpreparaten worden bereikt.

De maagtherapie.

Naar aanleiding van het werk van Castle, kwamen Sturgis

en Isaacs (250) en Sharp (230) op de gedachte om maag therapeutisch bij de pernicieuze anaemie toe te passen.

Zij namen hiervoor varkensmaag, die in zijn geheel gedroogd, ontvet en vervolgens gepulveriseerd werd.

In hoeveelheden van 15—30 gram, dagelijks per os toegediend, bleek deze even werkzaam te zijn als 250—300 gram lever.

Onafhankelijk van Sturgis, Isaacs en Sharp, kwamen ook Conner (43, 44) en Wilkinson (289, 290) tot deze therapie.

De groote werkzaamheid van gepulveriseerde maag werd van vele zijden bevestigd, in ons land het eerst door Snapper en Dupreez (242).

Behalve varkensmaag schijnt ook runder- en kalfsmaag een, zij het ook geringe, werkzaamheid te hebben (251, 44); daarentegen zijn schapenmaag (290) en hondenmaag (144) vrijwel inactief.

De verklaring van de werkzaamheid van maagpraeparaten is niet zoo eenvoudig als het oogenschijnlijk lijkt. Voor de hand ligt de veronderstelling, dat de intrinsic factor welke door het maagslijmvlies geproduceerd wordt, inwerkt op de spierlagen der maag en dat zoodoende antipernicieus principe gevormd wordt. De spierlagen zouden dan, gelijk de biefstuk in de Castle-proef, als extrinsic factor werken.

Indien dit juist is mag men verwachten, dat tunica mucosa en tunica muscularis ieder voor zich onwerkzaam zijn. De hierover verrichtte proeven zijn echter niet eensluidend.

Eenige schrijvers vonden praeparaten uit de spierlaag bereid, onwerkzaam (Isaacs en Sturgis 251, 252; Bondarenko en Dulcin 16; Burgess en Morgan 22). Wilkinson (289) en Conner (44) zagen van gedroogde en gepulveriseerde maagspier, ieder bij één patiënt een duidelijke werking. Ook de werking van maagslijmvlies-paerparaten wordt verschillend beoordeeld. Zoo vonden Sturgis en Isaacs; Burgess en Morgan; Bondarenko en Dulcin; en Lambin en Steenhoudt (155) deze weinig of niet werkzaam, zulks in tegenstelling met praeparaten uit de geheele maag vervaardigd.

Volgens Wilkinson, Conner, Henning en Stieger (122) en Guttzeit en Herrmann (103) is echter de werkzaamheid van mucosa-paerparaten vrijwel gelijk aan die van de geheele maag.

De werking der mucosa-praeparaten wordt nu verklaard door aan te nemen, dat de intrinsic factor der mucosa inwerkt op proteïnen of andere bestanddeelen van het slijmvlies. Tijdens de bereiding echter, vindt zulk een inwerking, waardoor antipernicieus werkzame stof zou worden gevormd, zeker niet plaats. De volgende feiten pleiten hier-
tegen :

- 1e. Is het niet gelukt uit gedroogde maagpraeparaten of uit versch maagweefsel, met behulp van de leverextractiemethoden, werkzame extracten te bereiden. (Meulengracht en Hecht Johansen 181; Henning en Stieger 122).
- 2e. De maagpraeparaten worden door verhitting onwerkzaam; de hierin aanwezige factor is dus, evenals de intrinsic factor, thermolabiel (16, 294), terwijl het werkzame leverprincipe tamelijk thermostabiel is.

Men is dus genoodzaakt aan te nemen, dat eerst na de toediening dezer maagpraeparaten de werkzame stof gevormd wordt. Een dergelijke verklaring is echter weinig bevredigend.

Henning en Stieger nemen aan, dat de werkzame stof in lever en maag van verschillende aard zijn; beiden zijn direct werkzaam, doch door verschillende eigenschappen gekenmerkt; over de opvattingen van Castle wordt door deze schrijvers verder niets vermeld.

Door enkele onderzoekers werd nagegaan aan welke deelen der maag de antianaemische werking gebonden is.

Conner (44) en Henning, Stieger en Brugsch (122, 123) vonden zowel fundus als pylorus slijmvlies werkzaam; daarentegen gaf een cardiapraeparaat bij één patiënt geen verbetering te zien. Pyloruspraeparaten gaven een betere werking, dan die van het fundusgedeelte der maag.

Volgens Guttzeit en Hermann (103) is daarentegen fundus slijmvlies het beste werkzaam; de door deze schrijvers medege-
deelde uitkomsten rechtvaardigen deze conclusie echter niet.

Door Meulengracht (182, 184) werd dit onderzoek nog eens bij een grooter aantal patiënten herhaald. Hij gebruikte hierbij gepulveriseerde cardia, fundus en pylorus van varkensmagen, waarbij ook tunica muscularis werd verwerkt. Uit zijn proeven blijkt, dat pyloruspoeder sterk werkzaam is; cardia-poeder is eveneens actief, doch in

mindere mate, terwijl fundus-poeder geen werking heeft. Dat maag-fundus door anderen wel werkzaam werd bevonden, is volgens Meulengracht toe te schrijven aan de eigenaardige topografische verdeling der pylorusklieren in de varkensmaag. Deze blijken zich gedeeltelijk in het fundusgebied langs de kleine curvatuur uit te strekken (183).

De geringe werkzaamheid der cardiapraeparaten zou op een meer verspreide ligging der cardia-klieren, met dientengevolge veel interglandulair bindweefsel berusten.

In verscheidene publicaties wordt de werking van andere orgaanpraeparaten dan lever en maag vermeld. Volgens Sharp, Mc. Keane en v. d. Heide (231) heeft 30 gram gepulveriseerd duodenum per dag een duidelijk antianaemisch effect. Guttzeit en Herrmann en Henning en Brugsch zagen geen werking van duodenumpraeparaten; de door hen gebruikte hoeveelheden waren echter kleiner. Meulengracht (185) vermeldt, dat een dosis van 40 gram duodenum-poeder even werkzaam is als een gelijke hoeveelheid maagpoeder; hij meent dat vooral de klieren van Brunner, welke bij het varken in bouw veel gelijken op de pylorusklieren, hier het werkzame product afscheiden.

Ook van nieren schijnt de werkzaamheid wel vast te staan (Minot en Murphy 188; Mc. Cann 174); of dit echter ook voor andere organen het geval is zal nader moeten blijken. Haemopoiëtische werkzaamheid werd gezien na toediening van hersenen (Ungley 260), placenta (Mach 171), long (Hitzenberger 126), colon (Schemensky 225) en voorts van urine (Decastello 57; Wakerlin 271) en bloed (Walter 273).

Het is zeer de vraag, in hoeverre al deze waarnemingen juist zijn; zeker is, dat in den regel de werking van de genoemde organen verren achter staat bij die van maag- en leverpraeparaten.

Merkwaardig is de publicatie van Walter; deze schrijver deelde in 1911 mede, een patiënt met pernicieuze anaemie genezen te hebben door middel van intramusculaire inspuitingen van bloed van een lijder aan polycythaemie. Deze mededeeling doet denken aan de nieuwere opvattingen van Morris e. a. over de oorzaak der polycythaemie. Morris (196) veronderstelt, dat deze ziekte berust op een overproductie van de haematopoiëtische maagfactor en stelt voor, dergelijke patiënten met dagelijksche maagspoelingen te behandelen.

Hitzenberger (127) en Oerting en Briggs (202) ver-

kregen goede resultaten met deze behandeling. *Hitzenberger* meent voor ernstige gevallen van polycythaemie zelfs een maagresectie te moeten aanraden. Voorts zijn er eenige waarnemingen in de literatuur vastgelegd, welke op een verband tusschen de antianaemische maagfunctie en het ontstaan van polycythaemie schijnen te wijzen. Voor een dergelijk verband pleit b.v. de bij *ulcus ventriculi* en *duodeni* waargenomen polyglobulie (*Tuchfeld* 258; *Hitzenberger* 127; *Wilbur* en *Ochsner* 288 e. a.). Door *Tuchfeld* werd verondersteld, dat deze *ulcus-polyglobulie* het gevolg van een vermeerderde productie van de antianaemische maagfactor zou zijn.

Duidelijk blijkt dit uit de publicatie van *Singer* (240), die bij een patiënt met *ulcus duodeni* en polycythaemie (erythrocyten 7.000000, haemoglobine 130 %), een jaar na de maagresectie, de polycythaemie zag verdwijnen.

Op een vermeerderde haematopoiëtische maagfunctie bij de polycythaemie wijst verder, dat het maagsap dezer patiënten een sterker antianaemisch effect bij de pernicieuze anaemie heeft dan normaal maagsap (*Baràth* en *Fülop* 5), terwijl extracten, bereid uit de lever van deze patiënten, eveneens een sterkere werking te zien geven dan extracten uit normale menselijke levers (297).

Het haemopoiëtine.

Wilkinson en *Klein* (294, 150, 296) hebben in een reeks onderzoekingen getracht de werkzame stof uit de varkensmaag te isoleeren. De extractie stuitte echter op vele bezwaren; slechts na groote moeite is het hun gelukt werkzame fracties af te zonderen.

Duidelijk blijkt uit dit onderzoek, dat de werkzame stof in lever en in varkensmaag verschillende eigenschappen hebben.

Terwijl de leverstof thermostabiel is en oplosbaar in alcohol 70 %, werd de werkzame maagfactor vernietigd door een verhitting boven 45 ° en neergeslagen door alcohol 70 %. Ook de werkzame stof in varkensmaag was, evenals de *intrinsic factor* in menselijk maagsap, niet identiek met pepsine of leb.

Wilkinson heeft deze werkzame stof in de varkensmaag „haemopoiëtine” genoemd en houdt haar voor een enzyme. Het haemopoiëtine komt in eigenschappen geheel overeen met *Castle's intrinsic factor*, zoodat beide stoffen waarschijnlijk identiek zijn.

Ook *Wilkinson* kon met behulp der leverextractiemethoden geen werkzame fracties uit de varkensmaag verkrijgen. Bij zijn verdere

onderzoekingen werd uitgegaan van een perssap, dat uit de maag verkregen werd volgens de door B ü c h n e r, in een beroemd onderzoek, aangegeven methode, om zymase uit gist te verwijderen. De maag werd hiertoe fijngemalen, met zand gewreven en vervolgens onder hoogen druk uitgeperst.

Dit perssap gaf na behandeling met alcohol een neerslag (P_5), dat sterk werkzaam was (294). 5 Gram P_5 had een werking, gelijk met 30 gram gedroogd maagpoeder (d. i. de therapeutische dosis pro die voor maagpoeder).

Op gelijke wijze werd een fractie uit de mucosa geïsoleerd: P_5 mucosa, welke iets sterker werkzaam was dan P_5 . (150).

Vervolgens werd getracht het perssap door gefractioneerde praecipitatie met alcohol verder te zuiveren; op deze wijze verkregen producten waren echter niet sterker werkzaam dan fractie P_5 , evenmin was dit het geval, wanneer door isoelectrische praecipitatie de pepsine uit fractie P_5 verwijderd werd en de overblijvende vloeistof weer, door gefractioneerd neerslaan met alcohol, gezuiverd werd. Het zoo verkregen product werd P_5 II genoemd en was vrij van pepsine en verontreinigingen onoplosbaar in alcohol concentraties tot 40 %.

Tenslotte werden eenige fracties geïncubeerd met biefstuk; hierdoor bleek de antianaemische werking versterkt te worden. Zoo waren de fracties P_5 mucosa en P_5 II, na incubatie met 100 gram biefstuk, sterker werkzaam dan bij toediening zonder biefstuk. Verhitting gedurende een half uur op 60° van een dergelijk mengsel van biefstuk en fractie P_5 verminderde de werkzaamheid niet, terwijl, wanneer fractie P_5 of P_5 mucosa eerst gedurende een half uur op 60° verhit (hierdoor wordt de intrinsic factor vernietigd) en hierna met biefstuk werd verwerkt, het mengsel niet werkzaam was.

Bovengenoemde proeven kunnen in overeenstemming met de theorie van C a s t l e verklaard worden: de fracties P_5 en P_5 mucosa bevatten intrinsic factor en zijn thermolabiel; na incubatie met biefstuk (extrinsic factor) wordt antipernicieus werkzame stof gevormd. Dat hierbij inderdaad antipernicieus principe, gelijk aan het in de lever aanwezige werkzame bestanddeel, wordt gevormd, kon W i l k i n s o n waarschijnlijk maken, doordat uit het mengsel van biefstuk en P_5 een werkzaam extract verkregen kon worden met behulp van de leverextractiemethode.

Dit extract gaf, parenteraal ingespoten, een duidelijke werking te zien. De in deze proeven gevonden feiten zouden geheel overeenstem-

men met de opvatting van Castle, indien de fracties P_5 en P_5 mucosa op zichzelf onwerkzaam waren, daar immers Castle aanneemt, dat de intrinsic factor alléén niet werkt. Deze fracties hebben echter, zonder biefstuk verwerkt, eveneens een duidelijk antianaemisch effect! Waaraan deze werkzaamheid moet worden toegeschreven is niet recht duidelijk.

De theorie van Castle geeft ook hiervoor, evenals dit voor de werking der maagtherapie het geval is, geen bevredigende verklaring, tenzij men gekunstelde hypothesen gaat aanvoeren.

Het addisin.

Eenige jaren geleden deelden Morris en medewerkers (195) mede, dat wanneer groote hoeveelheden normaal maagsap in vacuo bij 40° geconcentreerd werden, het maagsap na deze behandeling sterk werkzaam was tegen de pernicieuze anaemie.

Eén enkele intramusculaire injectie van op deze wijze geconcentreerd maagsap was in staat, naast een sterke reticulocytose, een belangrijke verbetering der anaemia tot stand te brengen. De werkzame stof in het maagsap werd „addisin” genoemd.

In tegenstelling met de opvatting van Castle, meent Morris, dat de haemopoiëtische maagfactor als zoodanig werkzaam is en het niet noodzakelijk is de vorming van antipernicieus principe uit een extrinsic en intrinsic factor aan te nemen.

Volgens Morris is het werkzame maagbestanddeel een hormoon; door koken gedurende 5 minuten gaat de werking verloren.

Door enkele schrijvers werden deze proeven bevestigd (Conner 45; Fouts, Helmer en Zervas 80; Tochowicz 257).

Franke (82) en Vlados, Bagdasarov, Dulcin en Bondarenko (270) zagen geen of slechts een voorbijgaand effect, terwijl Wilkinson (295) geen werking waarnam, wanneer het maagsap voor de concentratie in vacuo op pH 7.5 werd gebracht. Zoo geheel vast staat de vondst van Morris dus nog niet, temeer daar de bevestigende proeven slechts zeer gering in aantal zijn.

Men heeft op verschillende wijze getracht de werking van het addisin te verklaren.

Een eenigszins gezochte oplossing is, dat de intrinsic factor van het ingespoten maagsap, na de injectie, op de spier waarin geïnjecteerd werd, inwerkt; dit spierweefsel zou dan als extrinsic factor fungeeren. Door deze inwerking wordt dus ter plaatse van de injectie als het

ware een depot van antipernicieuus werkzaam principe gevormd. Gelijk men ziet is ook de werking van het addisin in overeenstemming met de theorie van Castle uit te leggen.

Deze verklaring is, gelijk Hymans van den Bergh (137) terecht opmerkt, gewrongen.

Minot en Castle (153) meenen de werking van het ingespoten maagsap op één lijn te mogen stellen met de niet specifieke beenmergprikkelende werking van proteïnehoudende praeparaten. Dergelijke praeparaten, die bij orale toediening onwerkzaam zijn, kunnen bij intramusculaire injectie een reticulocytenvermeerdering veroorzaken. Deze reticulocytose heeft echter niet het typische verloop zooals na levertoediening wordt gezien, doch is wisselvallig en gaat niet of nauwelijks met een verbetering der anaemie gepaard.

Deze veronderstelling van Minot en Castle zou zeker gerechtvaardigd zijn, indien de werking van het geconcentreerde maagsap uitsluitend beoordeeld was naar het optreden van een reticulocytenvermeerdering, temeer, daar de reticulocytose na de injectie van het maagsap niet in den vorm van een z.g. stoof optrad.

Op de inspuiting volgde echter, gelijk Morris beschrijft, een klinische vooruitgang en een sterke verbetering der anaemie.

Volgens T o c h o w i c z keerde zelfs de papillenteekening op de tong terug, de verschijnselen van haemolyse verdwenen, terwijl bij onderzoek van het beenmerg de megaloblastische bloedvorming plaats bleek te hebben gemaakt voor een normoblastische.

De waarneming van T o c h o w i c z pleit er dus eerder voor, dat deze „addisin” behandeling op één lijn met de maag-levertherapie te stellen is.

W i l k i n s o n (295) meent, dat het geconcentreerde maagsap zijn werkzaamheid ontleent aan de inwerking van de intrinsic factor op bestanddeelen als slijm, eiwitstoffen en eventueel in het maagsap aanwezige digestieproducten, welke als extrinsic factor zouden werken; een opvatting welke door F o u t s, H e l m e r e n Z e r f a s (80) gedeeld wordt.

Zij namen o.a. de volgende proeven:

Maagsap werd geconcentreerd door ultrafiltratie; zoowel het concentraat als het ultrafiltraat bleek onwerkzaam te zijn. Werd nu het concentraat eerst opgelost in 0.3 % HCl en daarna geconcentreerd in vacuo, dan was dit wel werkzaam bij intramusculaire toediening. Hieruit mocht dus worden besloten, dat, gedurende de concentratie in

vacuo, een verandering plaats grijpt waardoor het maagsap werkzaam wordt.

Welke processen bij deze veranderingen plaats hebben is geheel onbekend. Men kan, evenals *Wilkinson*, zich hierbij voorstellen, dat de antipernicieus werkzame stof uit de samenwerking van intrinsic factor en extrinsic factor ontstaat.

Een groot bezwaar van de zooeven vermelde proeven van *Fouts* is, dat bij verreweg de meesten de werking beoordeeld werd naar het optreden van een reticulocytenvermeerdering, terwijl van een toename van haemoglobine en erythrocyten veelal nauwelijks iets te zien is. De verkregen uitkomsten verliezen hierdoor grootendeels hun waarde.

In een later onderzoek (120) werd de werking van het geconcentreerde maagsap met behulp van kleine hoeveelheden leverextract nagegaan. Reeds eerder was gebleken, dat een hoeveelheid leverextract No. 343 Lilly, verkregen uit 100 gram rauwe lever, geen aantoonbare werking heeft. Wordt deze hoeveelheid extract met 100 cc normaal maagsap geïncubeerd, dan treedt een duidelijke werking op (120, 81). Wanneer echter het maagsap eerst geconcentreerd wordt in vacuo en vervolgens geïncubeerd met leverextract, dan is het product onwerkzaam. Ook de proeven uit deze reeks wijzen er dus op, dat het maagsap door de concentratie in vacuo een verandering ondergaat. Deze verandering heeft niet plaats, indien het maagsap op andere wijze geconcentreerd wordt, b.v. door ultrafiltratie.

Het concentraat, door ultrafiltratie verkregen, was evenals normaal maagsap in staat de werking van het leverextract te potentieeren. De uitkomsten dezer laatste experimenten zijn niet aan twijfel onderhevig; er volgde op de orale toediening der verschillende producten een duidelijke verbetering der anaemie.

Ook al is hiermede waarschijnlijk gemaakt, dat door de concentratie in vacuo het maagsap verandert, zoo staat het nog onvoldoende vast, dat tijdens deze bewerking antipernicieus werkzaam principe ontstaat. Eerst verder onderzoek zal moeten uitmaken, of dit laatste het geval is en of de vondst van *Morris* juist is.

HOOFDSTUK IV.

BESCHOUWINGEN OVER DE WIJZE, WAAROP EEN PERNICIEUZE ANAEMIE KAN ONTSTAAN.

In de kliniek zijn verschillende ziekten bekend, waarbij min of meer volledig een beeld werd waargenomen, overeenkomende met dat der pernicieuze anaemie. Zoo men wil, zou hier van een symptomatische pernicieuze anaemie gesproken kunnen worden.

Vóór de onderzoekingen van Castle was het verband dezer anaemien met de cryptogenetische pernicieuze anaemie niet recht duidelijk; thans is over hun onderling verband meer klaarheid gekomen.

Minot wees er op, dat de genezende werking van een bepaald leverbestanddeel op de pernicieuze anaemie het waarschijnlijk maakt, dat het lichaam bij deze ziekte een tekort aan werkzame leverstof heeft. Primair zou dit tekort volgens Castle veroorzaakt worden door een onvoldoende vorming dezer leverstof in het maag-darmkanaal. Theoretisch kan men zich voorstellen, dat een deficiëntie van het werkzame leverbestanddeel zal ontstaan door:

1. Een tekort of ontbreken van den intrinsic factor.
2. Een onvoldoende opname van extrinsic factor.
3. Een resorptiestoornis of een destructie van het reeds gevormde antipernicieus werkzame principe in het maag-darmkanaal.
4. Een onvoldoende opstapeling van werkzame stof in het lichaam.
5. Een stoornis in het gebruik van de werkzame stof.

Door Minot (192), Wilkinson (298), Goudsmit (96), Groen (99) e.a. werd een dergelijk schema opgesteld.

Of alle bovengenoemde stoornissen in werkelijkheid aanleiding geven tot het ontstaan van pernicieuze anaemie, is aan twijfel onderhevig; zeker staat dit minder vast dan sommige onderzoekers wel meenen.

Een groote steun voor de opvattingen van Castle ware het, indien vooral van de eerstvermelde stoornissen voorbeelden in de menschelijke pathologie waren aan te toonen.

Voor de onder punt 1 genoemde stoornis, een tekort of ontbreken van den intrinsic factor, is dit wel zeker.

1. Pernicieuze anaemie door een tekort of ontbreken van den intrinsic factor.

Gelijk wij in het vorige hoofdstuk zagen is dit in den regel voor de cryptogenetische pernicieuze anaemie het geval.

Naast de door Castle vermelde¹ proeven zijn hier echter nog slechts weinig onderzoekingen over verricht.

Een tekort of ontbreken van den intrinsic factor zal men voorts bij verschillende maagafwijkingen kunnen verwachten.

Inderdaad blijkt pernicieuze anaemie bij verschillende maagaandoeningen herhaaldelijk te zijn waargenomen. Opgemerkt moet echter worden, dat in verscheidene publicaties van een pernicieuze anaemie wordt gesproken, zonder dat deze diagnose voldoende vaststaat.

In de eerste plaats werd pernicieuze anaemie niet zoo heel zelden gezien bij patiënten met maagcarcinoom (Zadek 312; Brandes 17; Waterfield 274; Conner 47; Simpson 234 e. a.). Vooral in die gevallen, waar het carcinoom zich over een groot gedeelte der maag uitbreidt kan men zich denken dat de vorming van den intrinsic factor zal hebben opgehouden.

Voorts is pernicieuze anaemie bij maagpolypen waargenomen (Beutel 15; Haring 109; Ungley 263; Groen 99 e. a.).

Verreweg de meesten dezer polypen waren in de pars pylorica gezeteld en gingen steeds vergezeld van een achloorhydrie of achylie.

Haring en Christoffersen (37) zagen de pernicieuze anaemie genezen na verwijdering der polyp; in andere gevallen kan een dergelijke anaemie geheel typisch op lever of maagpraeparaten reageeren. Zeer begrijpelijk is, dat pernicieuze anaemie na maagetsing tot ontwikkeling zal komen. Bij den patiënt van Fleischer-Hanssen (76) bleek de geheele maag aangetast te zijn.

Herhaaldelijk heeft men pernicieuze anaemie zich in aansluiting aan maagoperaties zien ontwikkelen.

Deganello (58) deelde voor het eerst haematologische gegevens mede over een patiënte, bij wie totale gastrectomie wegens carcinoom werd verricht; bij deze patiënte ontstond, zonder dat bloedverlies hiervoor verantwoordelijk was, een hypochrome anaemie.

In 1911 deelt Moynihan (197) een ziektegeval mede, waar ongeveer drie jaar na een complete gastrectomie een ernstige anaemie werd waargenomen. Nadere haematologische gegevens worden niet vermeld. De anaemie had een ernstig karakter en voerde na ongeveer een jaar tot den dood.

Ook bij den door *Hartmann* (111) beschreven patiënt was een totale gastrectomie verricht; aan het geresecteerde praeparaat konden bij microscopisch onderzoek de overgangen van oesophagus-maag en maag-duodenum worden vastgesteld. Ongeveer twee jaar na deze ingrijpende operatie deden zich verschijnselen van bloedarmoede voor. De anaemie was hyperchrom, verliep met remissies, terwijl atrophie der tong-papillen werd waargenomen.

Aanwezigheid van megaloblasten in het perifere bloed wordt echter niet vermeld, zoodat enkele haematologen waarschijnlijk de diagnose pernicioze anaemie niet als geheel zeker zouden aanvaarden. Wanneer men de beschrijving van dit ziektegeval nauwkeurig leest, schijnt deze diagnose toch wel gerechtvaardigd.

Vooraf in de laatste jaren is een vrij uitgebreide literatuur over anaemien na maag-operaties ontstaan (*Lublin* 170; *Vaughan* 267; *Lottrup en Roholm* 169; *Holst Larssen* 129 e.a.).

Door *Morawitz* (194) werden deze anaemien, agastrische anaemien genoemd. Verreweg de meesten zijn hypochroom en van betrekkelijk lichten graad, doch hiernaast is typische pernicioze anaemie herhaaldelijk gezien. (*Dennig* 59; *Hochrein* 128; *Breitenbach-Lobenhoffer* 19; 168; *Berger* 14; *Scheidel* 224; *Hurst* 134; *Westra* 282 e.a.).

In verscheidene publicaties wordt het voorkomen van megaloblasten, tongveranderingen en zelfs van neurologische verschijnselen vermeld, terwijl deze anaemien ook op geheel typische wijze op lever reageeren.

Dergelijke gevallen zijn te vaak beschreven, om een verband tusschen zulke operaties en de daarna tot ontwikkeling gekomen pernicioze anaemie te loochenen. Zoo vermelden de beide chirurgen *Fasiani* en *Chiatellino* (73) in een voortreffelijk overzicht, dat op 29 gevallen van gastrectomie 12 maal, verscheidene jaren na deze operatie, een pernicioze anaemie met voldoende zekerheid kon worden gediagnostiseerd.

Ook na gastroenterostomie werd het optreden van pernicioze anaemie gezien (*Campbell en Conybeare* 25; *Davidson* 53; *Glanvill en Hurst* 88; *Lublin* 170; *Hurst* 134; *Holst Larssen* 129 e.a.). Wanneer men echter de publicaties, die hierop betrekking hebben, doorleest, dan rijst ernstige twijfel of deze anaemien wel alle als pernicioze anaemie mogen worden opgevat; het aantal gevallen, waar het volledige beeld van pernicioze anaemie bestond, is hier, in tegenstelling tot hetgeen na totale gastrectomie ge-

zien werd, buitengewoon zeldzaam. Op welke wijze het na een kleine maagresectie of zelfs na een gastroenterostomie toch tot de ontwikkeling eener pernicieuze anaemie kan komen, is niet geheel duidelijk; ter verklaring wordt wel aangenomen, dat een na de operatie ontstane gastritis de functie van het overgebleven maagslijmvlies doet te loor gaan, of wel dat de versnelde darmassage, die het gevolg dezer operaties is, een stoornis in de resorbtie van werkzame bestanddeelen te weeg brengt, waardoor op den duur in het lichaam een te kort aan antipernicieus werkzame bestanddeelen kan ontstaan.

Vaker schijnt na een partieele resectie, minder dikwijls ook na gastroenterostomie, een niet op bloedverlies berustende hypochrome anaemie voor te komen. Deze hypochrome agastrische anaemien, waarbij ook nageldeformiteiten en het syndroom van Plummer-Vinson werd waargenomen, komen meer bij vrouwen op rijperen leeftijd voor en reageeren, evenals de chlorosis tarda, goed op ijzer (170; 267; 169; 129).

Waarom echter in het eene geval na een gedeeltelijke maagresectie een hypochrome anaemie optreedt, in andere gevallen hyperchrome of zelfs pernicieuze anaemie, is niet duidelijk.

Beide anaemien kunnen blijkbaar bij een gestoorde maagfunctie tot ontwikkeling komen, waarop ook de bij beiden voorkomende achylie wijst, al is deze achylie voor de chlorosis tarda zeker niet een zoo constant voorkomend verschijnsel.

Naast deze en andere punten van overeenkomst, wijst ook het voorkomen van beide vormen van bloedarmoede bij verschillende leden eener familie (Patek 206; Bartlett 9; Gram 97; Witts 308; Heath 113 e.a.) op een verband. Anderen zagen hypochrome anaemien, die later in hyperchrome of zelfs pernicieuze anaemien overgingen (Hurst 132; Gram 97; Ungley 263 en anderen).

Dit laatste is ook wel na maagresectie waargenomen (Hochrein 128; Planteydt 209).

De kans, dat na partieele gastrectomie een pernicieuze anaemie optreedt, moet, blijkens het beperkte aantal in de literatuur beschreven gevallen, gering geacht worden; alleen bij totale maagresectie is deze grooter, vooral naarmate de patiënten dezen ingreep langer overleven.

Dat na een gedeeltelijke maagresectie niet steeds een pernicieuze anaemie behoeft te ontstaan, is begrijpelijk, zoo men bedenkt dat ook andere deelen der maag, speciaal de cardia, in staat is antipernicieus werkzame producten af te scheiden (Henning en Stieger 122;

Meulengracht 182, 184). Bij de totale gastrectomie zouden in deze gedachtengang andere deelen van het darmkanaal, b.v. het duodenum, voor een voldoende vorming dezer stoffen en dus voor het uitblijven der pernicieuze anaemie verantwoordelijk kunnen worden gesteld.

Opmerkelijk is, dat de pernicieuze anaemie, die zich na een maagoperatie ontwikkelt, eerst geruimen tijd na deze ingreep gevonden werd, in den regel zelfs eerst na vele jaren. Toch behoeft deze waarneming geenszins tegen een verband te pleiten, gelijk *Lobenhoffer* (168) meent. Zoo kan men zich denken, dat elders in het maagdarmkanaal werkzame stoffen worden afgescheiden, welke gedurende langen tijd in staat zijn het ontstaan der anaemie te verhinderen. Wie zegt verder hoe lang dergelijke patiënten reeds een anaemie hebben, zonder dat zich ernstige klachten voordoen?

Is het niet algemeen bekend, dat lijdens aan hyperchrome anaemien zich eerst bij ver voortgeschreden bloedarmoede tot hun geneesheer wenden?

Tenslotte kan men zich voorstellen, dat het lichaam, althans den eersten tijd na de operatie, nog over een belangrijke voorraad aan antipernicieus werkzame stoffen beschikt. Voor de meening, dat depotvorming van werkzaam materiaal plaats heeft, is een belangrijke waarneming aan te voeren: wanneer bij een genezen lijder aan pernicieuze anaemie de levertherapie gestaakt wordt, duurt het veelal meerdere maanden alear zich opnieuw verschijnselen van anaemie gaan voordoen. Het feit, dat bij de parenterale leverbehandeling 1 of 2 groote doses extract het zelfde resultaat geven als dagelijksche injecties van kleine hoeveelheden lever, wijst eveneens hierop. De lever is hierbij wel als het voornaamste depotorgaan te beschouwen; dit werd reeds door het onderzoek van *Richter, Ivy en Kim* (216 en 144) waarschijnlijk gemaakt en later nog eens door *Wilkinson en Klein* (297) en *Goldhamer, Sturgis en Isaacs* (90) aangetoond.

Zij maakten, op de gebruikelijke wijze, extracten van menselijke levers. Terwijl extracten uit levers van patiënten zonder pernicieuze anaemie zeer goed werkzaam waren, bleken extracten uit levers van patiënten lijdende aan pernicieuze anaemie onwerkzaam. Dit laatste was niet het geval met extracten uit levers van patiënten met pernicieuze anaemie, die reeds met lever behandeld waren.

Een belangrijke steun voor de veronderstelling, dat de lever als

een depot voor het antipernicieuze principe is te beschouwen, vormt het onderzoek van Bence (12). Hij verrichtte bij varkens totale gastrectomie. Na eenigen tijd werden de dieren geslacht en de levers tot een extract verwerkt; werd het dier 6 maanden na de operatie gedood, dan was het extract niet werkzaam, zulks in tegenstelling met de lever-extracten van normale varkens, die een zeer goede werking hebben. Deze proeven werden kort geleden door Goodman, Geiger en Claiborn (93) bevestigd. Bij eenige dieren trad ongeveer 5 maanden na de operatie een lichte hypochrome anaemie op.

Zeer duidelijk toonen deze experimenten, dat de invloed der maag op de erythropoese primair is, terwijl de lever slechts als stapelorgaan is te beschouwen; zij vormen als het ware een tegenhanger van de agastrische anaemien bij den mensch.

Van verschillende zijden is getracht bij dieren door middel van operatieve ingrepen aan het maag-darmkanaal anaemie te verwekken.

Zulke experimenteële anaemien blijken vrijwel steeds hypochroom te zijn. (102; 143; 12; 208; 270).

Alleen Silberstein en Hauswirth (233) en Aron en Bauer (4) zagen bij honden na duodenectomie een hyperchrome anaemie optreden. Petri, Søeborg Ohlsen en Bøggild namen hetzelfde waar na resectie van de pylorus en een gedeelte van het duodenum.

Behoudens de hooge kleurindex hebben deze anaemien echter weinig overeenkomst met de pernicieuze anaemie. Een pernicieuze anaemie kon tot op heden langs experimenteelen weg bij dieren nimmer verkregen worden en komt spontaan ook niet bij dieren voor. Alleen bij paarden wordt wel eens een anaemie gezien, welke eenige oppervlakkige gelijkenis vertoont met de pernicieuze anaemie (Wester 281).

2. Pernicieuze anaemie door een onvoldoende opname van extrinsic factor.

Verschillende schrijvers meenen, dat door een gebrek aan extrinsic factor anaemie kan optreden; het bloedbeeld zou in dergelijke gevallen niet van dat der pernicieuze anaemie te onderscheiden zijn.

Lucy Wills (304) e.a. hebben hier de aandacht op gevestigd. Zij beschreef een aantal gevallen van hyperchrome macrocytaire tropenanaemie, zonder duidelijke haemolytische verschijnselen. Aanvankelijk waren het vooral gravidæ waarbij deze anaemien werden gevonden; later werden ze ook buiten de zwangerschap en bij mannen

aangetoond. Door het doen gebruiken van volwaardig voedsel, marmite of ijzer, waren zij gemakkelijk tot genezing te brengen. Ook door lever of leverextract werden zij gunstig beïnvloed. Wegens de gelijkenis dezer anaemien met de pernicieuze anaemie en vooral ook omdat door gemengd voedsel of door marmite genezing te bereiken was, werd de oorzaak dezer anaemien gezocht in een gebrek aan extrinsic factor. Vele schrijvers nemen dit voor vaststaand aan. De vraag doet zich echter voor, of deze macrocytaire anaemien inderdaad wel zoo volkomen op de pernicieuze anaemie gelijken.

Niet voor allen, die uit eigen ervaring hierover tot oordeelen bevoegd zijn, staat dit zoo vast, als Wills e.a. dit doen voorkomen.

De Langen (156) zag zulke macrocytaire anaemien in Ned.-Indië vrij veel, vooral onder bevolkingsgroepen, waar de voedingstoestand veel te wenschen overliet; evenals Wills, acht hij het waarschijnlijk, dat deze anaemien met de voeding in verband staan, waarbij soms een gelijktijdige infectie met malaria of mijnworm den graad der anaemie beïnvloedt. Langs experimenteelen weg konden Wills (306) de Langen e.a. een dergelijke macrocytaire anaemie opwekken.

Niet alleen het klinische beeld, doch ook de gegevens van het bloedonderzoek leeren, dat deze tropenanaemien weinig of geen overeenkomst hebben met de pernicieuze anaemie.

Tong- en ruggemergverschijnselen komen er niet bij voor; achylie ontbreekt. In het bloedbeeld is de kleurindex somwijlen 1, doch meestal kleiner dan 1; ook bij de door Wills beschreven gevallen was de kleurindex veelal niet grooter dan 1. Teekenen van haemolyse worden niet gevonden, terwijl megaloblasten nooit voorkomen.

Weliswaar beschrijft Wills het voorkomen van megaloblasten naast normoblasten, doch het mag betwijfeld worden, of dit inderdaad zoo is. Niet alleen Wills, doch ook andere, vooral Engelsche onderzoekers, zijn vrij kwistig met de diagnose megaloblast wanneer men echter dergelijke praeparaten te zien krijgt, blijken uitsluitend typische normoblasten aanwezig te zijn.

De macrocytose is vrijwel het eenige kenmerk, dat deze tropenanaemien met de pernicieuze anaemie gemeen hebben. Deze geringe overeenkomst veroorlooft m. i. niet, genoemde anaemien met de pernicieuze anaemie te vereenzelvigen; hetzelfde geldt waarschijnlijk voor vele gevallen van hyperchrome macrocytaire anaemie, welke bij de graviditeit en de spruw kunnen voorkomen. Deze komen nog nader op blz. 52 ter sprake.

Uit het bovenstaande volgt, dat de kliniek ons onvoldoende opheldering geeft omtrent de beteekenis van den extrinsic factor voor het tot stand komen eener pernicieuze anaemie.

3. Pernicieuze anaemie door een resorbtiestoornis of een destructie van het reeds gevormde antipernicieus werkzame principe in het maagdarmkanaal.

In de literatuur zijn tal van waarnemingen vastgelegd, waarbij aan een gestoorde resorbtie van antipernicieus werkzame stoffen, als oorzaak voor de pernicieuze anaemie gedacht moet worden. Hiertoe moet o.a. de door Castle (27) vermelde persoonlijke mededeeling van du Bois gerekend worden. Deze kreeg een meisje van 12 jaar met een typisch pernicieus anaemisch bloedbeeld in behandeling, welke op lever reageerde. Behalve de anaemie waren duidelijke teekenen van pylorusstenose aanwezig, die zooals bij de operatie bleek, veroorzaakt werd door druk van groote pakketten tuberculeuze klieren. Zij hadden den pylorus vrijwel geheel afgesloten, zoodat een verminderde of opgeheven resorbtie van stoffen van belang voor een normale bloedvorming zeer aannemelijk wordt.

Hetzelfde geldt voor lager gelegen stricturen in duodenum en dunne darm, gecombineerd met het aanwezig zijn eener pernicieuze anaemie. Door Faber (69) werd voor het eerst een dergelijk geval beschreven; nadien werden herhaaldelijk gelijke waarnemingen gedaan, zoodat een verband niet geloochend kan worden (Meulengracht 178, 179; Little, Zerfas en Trusler 167; Hurst 135; Schlesinger 226 e.a.). Het geval van Schlesinger, dat reeds op blz. 32 ter sprake kwam, werd op de aanwezigheid van den intrinsic factor onderzocht; deze kon in het maagsap worden aange-toond. Hoewel hier dus de vorming van de werkzame maagfactor ongestoord was, kwam het toch tot ontwikkeling eener pernicieuze anaemie. De voor de hand liggende verklaring kan niet anders zijn, dan dat hier een gestoorde opname, eventueel een destructie, van antipernicieus werkzame stoffen tot de anaemie heeft geleid. Het is echter weinig waarschijnlijk, dat de vernauwing als zoodanig de opname der werkzame bestanddeelen verhindert, daar veelal de strictuur in de onderste deelen van de dunne darm gezeteld bleek te zijn.

Hurst veronderstelt, dat een secundaire enteritis en de tengevolge hiervan verminderde resorbtie, of wel een vernietiging van antiper-

nicieus principe, in dergelijke gevallen de pernicieuze anaemie doet uitbreken.

Belangrijk is in dit verband, dat ook langs experimenteelen weg, door het aanleggen van stricturen, een anaemie is te verwekken.

Seyderhelm, Lehmann en Wichels (228) zagen na een dergelijken ingreep bij 2 van de 10 geopereerde honden een anaemie optreden, die eenige gelijkenis met de pernicieuze anaemie vertoonde.

Ook voor de veelvuldig bij de Indische spruw voorkomende hyperchrome anaemien wordt door velen de verklaring gezocht in een gestoorde resorbtie van haemopoiëtisch werkzame bestanddeelen.

Bekend is, dat bij deze aandoening bloedbeelden kunnen voorkomen, die niet van dat der pernicieuze anaemie te onderscheiden zijn. (Nolen 201; van der Scheer 233 e.a.). Hetzelfde is het geval voor de non-tropical sprue en de „coeliac disease” (Gee), ziektebeelden, welke zeer veel overeenkomst met de Indische spruw hebben (13; 147).

Begrijpelijk is, dat men in dergelijke gevallen het eerst aan een resorbtiestoornis van antipernicieus principe denkt, temeer daar ook voor andere voedselbestanddeelen een gelijke stoornis moet worden aangenomen; bovendien is in het maagsap in den regel vrij zoutzuur aanwezig en dit wettigt het vermoeden, dat de maagfunctie en dus ook de afscheiding van den intrinsic factor normaal zal zijn.

Hiernaast moet echter opgemerkt worden, dat toch ook bij de spruw achylia gastrica niet zoo zelden wordt gezien; volgens sommige schrijvers zelfs in 20—25 %. Wanneer men bedenkt, dat vooral bij langeren duur der ziekte en in ernstiger gevallen een meer pernicieus bloedbeeld gaat optreden en, volgens het onderzoek van Hess Thaysen (124), in deze stadia vooral ook achylie wordt gevonden, dan moet ook met de mogelijkheid van een ontbreken van den intrinsic factor als oorzaak dezer pernicieuze anaemie rekening worden gehouden.

Een derde veronderstelling is, dat een onvoldoende opname van extrinsic factor tot de ontwikkeling der pernicieuze anaemie voert.

Slechts door de al of niet aanwezigheid van den intrinsic factor na te gaan, zal kunnen uitgemaakt worden welke van de zoeven genoemde stoornissen hier de pernicieuze anaemie veroorzaakt.

Castle, Heath en Strauss (31) waren tot voor korten tijd de eenigen, die een dergelijk onderzoek bij een patiënt met tropische spruw verrichtten.

In het maagsap, waarin normale zuurwaarden gevonden werden, ontbrak de intrinsic factor.

Het geval van Barnett (6), waarbij wel intrinsic factor werd aangetoond, is m. i. van weinig waarde, daar de proefpersoon slechts gedurende twee dagen het maagsap van den spruwpatiënt toegediend kreeg; hierna werd maagsap (vrij zoutzuur bevattend!) van een patiënt met pernicieuze anaemie gegeven. De hierop volgende reactie mag dus niet zonder meer worden toegeschreven aan den intrinsic factor in het maagsap van den spruwlijder.

Eenigen tijd geleden was ik in de gelegenheid het maagsap van een patiënt, lijdende aan coeliac disease (Gee), te onderzoeken op den intrinsic factor.

Gelijk bekend heeft dit ziektebeeld een groote overeenkomst met de Indische en inheemsche spruw.

Hess Thaysen (124) neemt dan ook voor deze aandoeningen een zeer nauw verband aan en vat ze samen onder den naam van idiopathische steatorrhoe.

Het bloedbeeld van onzen patiënt had alle kenmerken van dat eener pernicieuze anaemie.

Het bilirubinegehalte van het bloedserum was echter niet verhoogd, in tegenstelling met hetgeen men gewoonlijk bij de pernicieuze anaemie waarneemt.

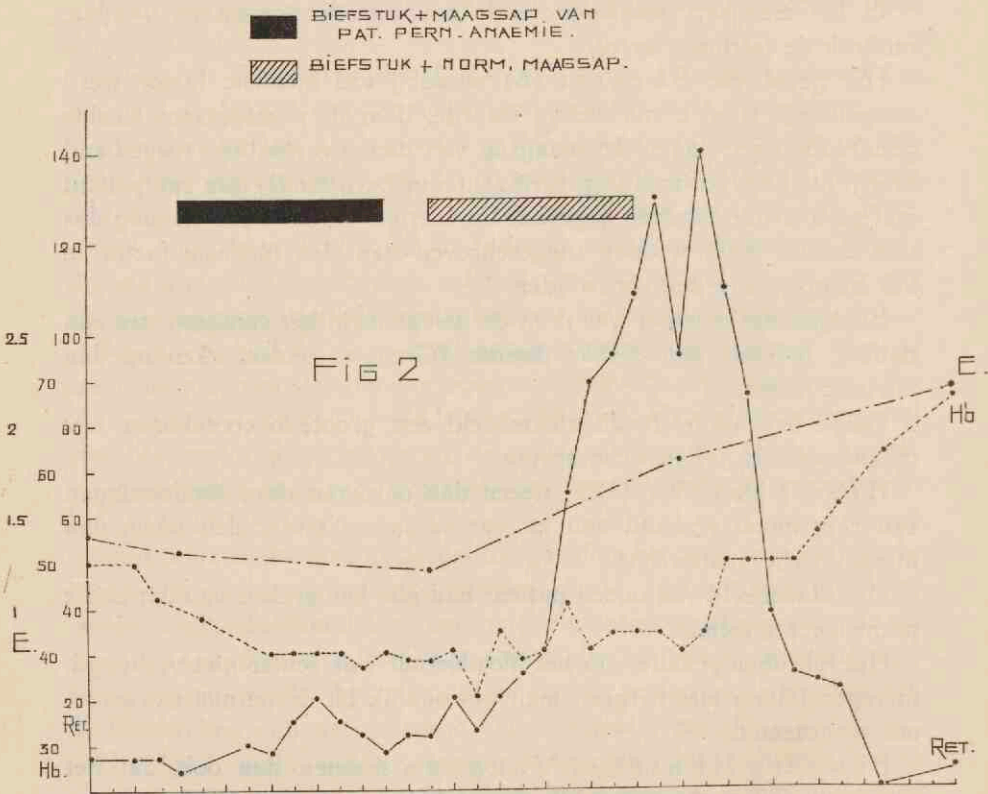
Bennett, Hunter en Vaughan meenen dan ook, dat het niet verhoogd zijn van het bilirubinegehalte, voor wat de bloedveranderingen betreft, een kenmerkend verschil is tusschen de pernicieuze anaemie bij de vetdiarrhoen en de cryptogenetische pernicieuze anaemie.

Overigens waren echter geen verschillen aan te wijzen, en het later door van der Merwe onderzochte sternum punctaat bleek niet te onderscheiden van dat der pernicieuze anaemie.

In het maagsap werd een histamine refractaire achylie gevonden, terwijl de intrinsic factor ontbrak. Bij het onderzoek op den intrinsic factor werd de oorspronkelijke methode van Castle gevolgd.

In figuur 2 is de reactie van het bloedbeeld der proefpersoon op het mengsel van biefstuk en het maagsap van den patiënt afgebeeld.

Gedurende 10 dagen werd dit product aan een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie toegediend, zonder dat eenige klinische verbetering intrad; het haemoglobinegehalte ging niet vooruit, terwijl het aantal reticulocyten en erythrocyten onveranderd bleef.



Hierna werd gedurende een gelijk aantal dagen het mengsel van normaal maagsap en biefstuk gegeven, waarop de proefpersoon met een flinke reticulocytenstoot en een vermeerdering van haemoglobinegehalte en erythrocytenaantal reageerde. Het maximum der reticulocytenvermeerdering werd op den 13den dag na de eerste gift van het normale maagsap waargenomen en bedroeg 140 $\%$, terwijl het haemoglobinegehalte, dat vóór deze therapie 40 $\%$ bedroeg tot 68 $\%$ steeg; het aantal erythrocyten vermeerderde van 1.200000 tot 2.200000.

Bovenal was een duidelijke verbetering in den algemeenen toestand waar te nemen.

Uit deze proef mocht dus besloten worden, dat bij onzen patiënt de productie van den intrinsic factor zeer verminderd, zoo niet opgeheven was en dat het mechanisme, dat tot het ontstaan van het pernicieuze bloedbeeld had aanleiding gegeven, als identiek met dat der cryptogenetische pernicieuze anaemie beschouwd moest worden.

Ook Castle, Heath en Strauss kwamen bij hun patiënt met spruw tot dezelfde conclusie.

Men moet zich dus voorstellen, dat in deze gevallen de functiestoornis van den dunnen darm, welke bij de spruw en de ideopathische steatorrhoe in het algemeen mag worden aangenomen, niet alleen tot den darm beperkt was, doch zich ook tot de maag had uitgebreid.

Wat nu de beide andere stoornissen, een bemoeilijkte resorptie van werkzaam materiaal of een onvoldoende toevoer van extrinsic factor betreft, is het zeer de vraag of deze als oorzaken voor het pernicious anaemische bloedbeeld bij de spruw in aanmerking komen. Volgens de algemeene opvatting zou dit wel het geval zijn (36; 239; 99). Men kan hier lang en breed over redeneeren; zoolang geen gegevens zijn verzameld, komt men niet veel verder dan schrijftafel-hypothesen.

Het komt mij voor, dat alleen dan met eenige zekerheid van een resorptiestoornis van werkzame bestanddeelen gesproken mag worden, indien de intrinsic factor in het maagsap kan worden aangetoond.

In den regel zal deze wel aanwezig zijn, temeer daar in de meeste gevallen ook een normale afscheiding van zoutzuur, pepsine en leb wordt gevonden; doch het bloedbeeld gelijkt dan ook niet veel op dat der pernicieuze anaemie. Hoogstens wordt een macrocytose of een iets verhoogde kleurindex gevonden.

Bij een dergelijken patiënt heb ik het maagsap op de aanwezigheid van den intrinsic factor kunnen onderzoeken.

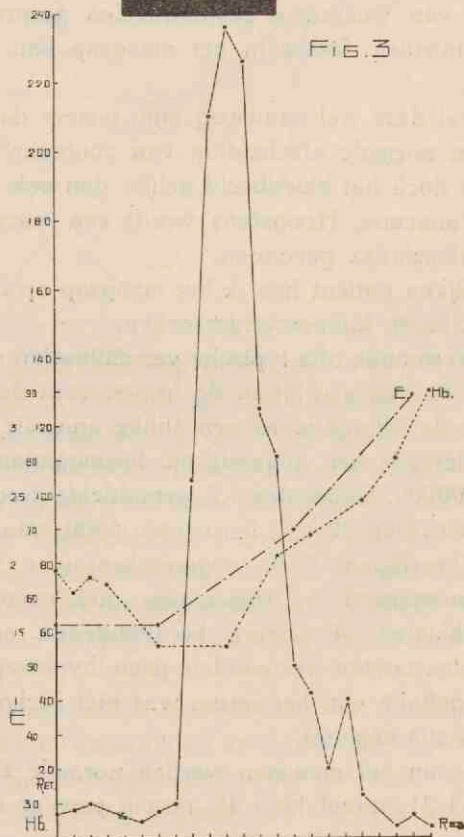
Deze patiënt vertoonde alle typische verschijnselen van spruw, welke eerst 24 jaar na zijn verblijf in de tropen voor den dag kwamen. Bij opneming in de kliniek werd een flinke anaemie gevonden. Het bloedonderzoek leverde het volgende op: haemoglobinegehalte 40 %, erythrocyten 1.500000, kleurindex 1.3, gemiddelde grootte der erythrocyten 9.6μ , reticulocyten 20 $\frac{0}{100}$, leucocyten 6300, waarvan eosinophielen 1 %, staafkeeringen 5 %, segmentkeernigen 59 %, lymphocyten 31 %, monocyten 3 %. Anisocytose, poikilocytose, geen megalocyten, megaloblasten of andere kernhoudende erythrocyten; de segmentkernige leucocyten vertoonden geen hypersegmentatie.

Het bilirubinegehalte van het serum was niet verhoogd en bedroeg 0.8 E, directe reactie negatief.

Bij onderzoek van het maagsap werden normale zuurwaarden gevonden: vrij HCl 21; totaal HCl 45, terwijl pepsine en leb aanwezig waren.

De aanwezigheid van den intrinsic factor werd nagegaan met behulp van de methode van Reimann. Deze methode, welke nader in hoofdstuk VI ter sprake zal komen en belangrijk eenvoudiger is dan de oorspronkelijke Castle-proef schijnt mij goede uitkomsten te leveren. Hierbij worden kleine hoeveelheden lever, in plaats van biefstuk, met het te onderzoeken maagsap verwerkt. Naar uit figuur 3 is te zien, reageerde de proefpersoon zeer sterk op de dagelijksche toediening van dit product.

■ DAGELIJKE DOSE LEVER +
MAAGSAP VAN PAT. MET
SPRUW.



De vorming van den intrinsic factor was dus bij onzen patiënt waarschijnlijk ongestoord.

In den regel wordt ook voor dergelijke gevallen, ter verklaring van het hyperchrome bloedbeeld, een resorbtiestoornis van antipernicieus werkzame bestanddeelen aangenomen, mede op grond van de gunstige reactie dezer anaemien, welke na levertoediening wordt waargenomen. Evenwel kan deze, voor wat de lever werking betreft, zeker niet op één lijn gesteld worden met de bij de pernicieuze anaemie bereikte resultaten. Toch vraagt men zich af of deze verklaring, hoe verleidelijk zij ook moge schijnen, wel de eenig juiste is en of hier niet nog andere factoren tot het ontstaan dezer anaemien mede werken. Zeker is, dat deze in den regel niet veel meer dan een oppervlakkige gelijkenis met de pernicieuze anaemie hebben, zich uitend in een iets verhoogden kleurindex of een vergrooting der erythrocyten; dit rechtvaardigt m. i. nog niet, tot een resorbtie stoornis van het werkzame principe als de oorzaak hiervan te besluiten.

Ook het onderzoek van het beenmergpunctaat uit het sternum levert bij deze vorm van anaemie geen enkele steun voor de onderstelling eener pernicieus anaemische bloedvorming (van der Merwe).

Alleen dan zal men, gelijk reeds werd opgemerkt, tot een resorbtiestoornis van het antipernicieus werkzame principe mogen besluiten, indien het bloedbeeld werkelijk groote overeenkomst met dat van de pernicieuze anaemie heeft en tevens de intrinsic factor kan worden aangetoond. Dat in deze gevallen echter een ontbreken van den intrinsic factor werd gevonden (31; 147) wijst er eerder op dat ook hier, evenals bij de cryptogenetische pernicieuze anaemie, de maagfunctie gestoord is. Eerst nader onderzoek zal ons kunnen leeren of deze stoornis bij de idiopathische steatorrhoe van blijvenden aard is en of bovendien bemoeijlikte resorbtie een factor van beteekenis is voor het tot ontwikkeling komen van het pernicieus anaemische bloedbeeld. Een stoornis in de resorbtie van werkzaam materiaal wordt eveneens aangenomen ter verklaring van gevallen van pernicieuze anaemie, waarbij de afscheiding van den intrinsic factor behouden bleef (Castle 31); door Barnett (6) en Varadi (265) werden dergelijke patiënten beschreven. Aan verloren gaan van antipernicieus principe kan men tenslotte denken in gevallen van maag-colonfistel (Fairley en Kilner 72 e.a.). Behoudens een wat verhoogde kleurindex en een matige vergrooting der erythrocyten heeft ook hier het bloedbeeld weinig overeenkomst met dat der pernicieuze anaemie.

Wanneer dit wel zoo is, dient men eerst na te gaan of de intrinsic factor wel aanwezig is. Bij de door *Castle* beschreven patiënt met multiple darmanastomosen, waar men een dergelijke stoornis a priori zou kunnen verwachten, bleek de intrinsic factor afwezig te zijn! (31).

4. Een onvoldoende opstapeling van werkzame stof in het lichaam.

Aangezien de lever als het belangrijkste depot voor de werkzame stof moet worden opgevat, ligt het voor de hand te veronderstellen, dat bij sommige afwijkingen van dit orgaan ook een stoornis in deze stapelfunctie zal kunnen optreden. Verschillende publicaties, waarin het samengaan van diffuse parenchymaandoeningen der lever met verschijnselen van pernicieuze anaemie werd medegedeeld, wijzen op een zoodanig verband.

Deze anaemien werden vooral bij levercirrhosen gezien en kunnen zelfs op lever reageeren (voor literatuuropgaven zij verwezen naar *Hymans van den Berg* en *Kamerling* 139 en *Groen* 99). De patiënt, dien wij voor eenige jaren in de Utrechtsche kliniek konden waarnemen, was een eenigszins hiermede verwant geval.

Deze patiënt, die lijdende was aan een atrophische levercirrhose, had een ernstige anaemie. Merkwaardig was hier de zeer sterke haematinaemie, welke, gelijk bekend, zeer dikwijls bij de pernicieuze anaemie, zij het in geringe mate, wordt aangetroffen. (*Schumm* 227; *Hymans van den Berg* en *Snapper* 138).

Bij levercirrhose werd haematinaemie tot dusverre niet waargenomen.

In hoeverre uit de haematinaemie bij onzen patiënt besloten mag worden tot een verwantschap tusschen het wezen zijner anaemie en die van de pernicieuze anaemie, is niet met zekerheid te zeggen.

In het licht der tegenwoordige opvattingen over het ontstaan der pernicieuze anaemie, kan men zich, naast de zooeven genoemde veronderstelling, ook denken, dat de intrinsic factor ontbreekt, of dat de haematopoiëtische stof bij levercirrhose onvoldoende wordt geresorbeerd tengevolge van bestaande circulatie-stuwung.

In ons geval gelukte het niet voldoende maagsap voor het aantoonen van den intrinsic factor te verkrijgen.

Het onderzoek van *Goldhamer*, *Isaacs* en *Sturgis* (90) schijnt eerder voor een stoornis in de stapelfunctie der lever te pleiten. Zij vonden, dat extract, uit een cirrhotische lever bereid, niet werkzaam

was tegen de pernicieuze anaemie, in tegenstelling met extracten uit normale menschelijke levers (297).

Vermeldenswaard in dit verband zijn de waarnemingen van Czornitzer en Molnár (50) en Heath (114). Zij beschreven gevallen van pernicieuze anaemie, waarbij zich een tijdelijke diffuse parenchymaandoening der lever voordeed; door deze schrijvers werd gedurende de leverziekte een spontane verbetering der anaemie gezien. Heath veronderstelt, dat tengevolge van verlies van leverparenchym bij dergelijke ernstige vormen van catarrhale icterus, werkzame stoffen vrijkomen, die op de bloedvorming bij de pernicieuze anaemie een soortgelijke, mogelijk zelfs een zelfden invloed uitoefenen als toevoer van lever. De patiënt zou zich dus als het ware tijdelijk met zijn eigen lever behandelen, waarbij aangenomen moet worden, dat de lever b.v. tengevolge van een vroegere behandeling, nog hoeveelheden werkzame stof in depot had.

Veelvuldig kan men bij levercirrhosen een, zij het dan ook matige, vergrooting der erythrocyten waarnemen; deze kan ook zonder verschijnselen van anaemie aanwezig zijn. Vooral in het laatste geval heeft de verklaring, als zou een stoornis in de depotfunctie der lever voor antipernicieuze stof hiervoor verantwoordelijk zijn, weinig grond.

5. Stoornis in het gebruik van de werkzame stof.

Tenslotte kan men zich voorstellen, dat het proces van vorming der antipernicieus werkzame stof normaal verloopt en dat ook het lichaam over voldoende hoeveelheden werkzaam materiaal beschikt, doch dat het niet in staat is dit te gebruiken of uit de depots vrij te maken.

Wilkinson (298) duidt deze toestanden aan met den naam „achrestic anaemias”. Bij zulke patiënten, die eenigszins het beeld der pernicieuze anaemie vertoonden, had de levertherapie geen effect; het maagsap bevatte normale zuurwaarden.

Gelijk wij in het eerste hoofdstuk reeds zagen, werden, vooral vóór de invoering der inspuibare extracten, meer malen z.g. leverresistente gevallen van pernicieuze anaemie beschreven; doch ook al schakelt men deze, welke veelal op een onvoldoende doseering der lever of wel op foutieve diagnose berusten, uit, dan blijven toch, volgens Wilkinson, zeer zeldzaam gevallen over, die niet op lever reageeren doordat het werkzame principe niet benut wordt. Voor deze veron-

derstelling pleit, dat een extract uit de lever van een dergelijken patiënt, aan een intercurrente ziekte overleden, bij een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie werkzaam was. Alhoewel hier dus voldoende antipernicieus werkzaam principe ter beschikking stond, trad geen verbetering der anaemie op.

Hier moge voorts nog gewezen worden op de pernicieuze anaemie, welke, hoewel zelden, tijdens of in aansluiting aan de zwangerschap kan optreden, waarbij o.a. ook aan een onttrekking aan het moederlijk organisme van materiaal, dat voor de normale bloedvorming noodzakelijk is, gedacht moet worden. Naast dezen factor zijn, volgens Strauss en Castle (247), ook nog andere factoren van invloed op het tot ontwikkeling komen dezer anaemie, zooals een gebrek in het voedsel aan noodzakelijke bestanddeelen, een onvoldoende productie van den intrinsic factor of wel een combinatie hiervan.

HOOFDSTUK V.

HET AANTOONEN VAN DEN INTRINSIC FACTOR.

Wil men van een bepaald maagsap nagaan of dit intrinsic factor bevat, dan kan men hiertoe de oorspronkelijke methode van *Castle* toepassen. Hierbij wordt 100-150 cc van het te onderzoeken maagsap, na histamineinjectie verkregen, met 200 gram fijngemalen biefstuk op pH 2.5 gedurende eenige uren op 37° geïncubeerd; vervolgens wordt het mengsel geneutraliseerd tot pH 6—6.5 en dagelijks, gedurende 9—10 dagen, aan een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie toegediend. De werkzaamheid van het product wordt, evenals die der lever, beoordeeld naar het optreden van een reticulocytenstoot, gepaard gaande met een vermeerdering van het haemoglobinegehalte en van het aantal erythrocyten, terwijl dan tevens een vooruitgang in den algemeenen toestand is waar te nemen. Reageert de proefpersoon niet op de toediening van het maagsap-biefstuk mengsel, dan bevat het onderzochte maagsap waarschijnlijk geen intrinsic factor. Ten einde dit met zekerheid aan te toonen is het echter gewenscht, gelijk wij op blz. 34 reeds zeiden, hierna de reactie op het mengsel van biefstuk en normaal maagsap na te gaan.

Later vond *Castle*, dat ook met 75 cc normaal maagsap reeds een reactie te verkrijgen is, terwijl het niet noodzakelijk bleek het maagsapbiefstukmengsel in zuur milieu te incuberen. Aan deze „*Castle*-proef” zijn echter meerdere bezwaren verbonden, welke een uitvoering op ruimer schaal in den weg staan. Een groot nadeel is, dat men aan een onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie als proefpersoon is gebonden, waardoor het nemen van een proef op ieder gewenscht tijdstip uitgesloten is. Het aantal geschikte proefpersonen, dat de laatste jaren dank zij de levertherapie schaars is, wordt voorts nog beperkt, doordat niet iedere lijder aan pernicieuze anaemie voor deze experimenten geschikt is (292).

Wil een proef slagen, dan moet de patiënt aan de volgende voorwaarden voldoen:

1. Het aantal erythrocyten moet vóór het begin der proef kleiner

dan 2.500000 zijn, daar anders van een reticulocytenvermeerdering nauwelijks iets te zien zal zijn. Beter is het echter als proefpersoon patiënten te nemen, met sterker uitgesproken anaemie, b.v. met een erythrocytenaantal tusschen 1.000000 en 1.500000.

2. De patiënt moet gedurende geruimen tijd niet met lever of maagpraeparaten behandeld zijn. Is nog kort te voren een dergelijke therapie toegepast, dan is geen reticulocytenvermeerdering na toediening van een maagsap-biefstukmengsel te verwachten, terwijl een waargenomen vermeerdering van het haemoglobinegehalte en erythrocytenaantal zeer wel het gevolg van de te voren toegepaste behandeling zou kunnen zijn. Jongere personen zijn voor deze proeven geschikter dan patiënten op leeftijd, daar de ervaring leert, dat deze laatsten, vooral bij orale toediening van een praeparaat, minder snel reageren (10).

3. Complicaties, zooals pneumonie, cystitis, angina, moeten uitgesloten worden, terwijl ook belangrijke arteriosclerose den proefpersoon ongeschikt voor deze experimenten maakt. Het aanwezig zijn van verschijnselen van strengdegeneratie is echter van geen invloed. Teneinde spontane remissies uit te sluiten, is het verder gewenscht gedurende verscheidene dagen het haemoglobine, de erythrocyten en reticulocyten te vervolgen. Hooge reticulocytenwaarden manen in dit opzicht tot voorzichtigheid. Treedt reeds binnen 2 dagen, nadat met de toediening van het praeparaat is begonnen, een reticulocytose op, dan moet men met de beoordeeling der werkzaamheid van het praeparaat eveneens voorzichtig zijn en bestaat de mogelijkheid van een spontane remissie. Een groot bezwaar is de lange duur dezer proeven; met één experiment zijn eenige weken gemoeid, terwijl tenslotte het verkrijgen van de benodigde hoeveelheid maagsap op groote moeilijkheden kan stuiten. Het zou een belangrijken vooruitgang betekenen, indien het gelukte, onafhankelijk van een proefpersoon, den intrinsic factor aan te toonen.

Ook de methode van Reimann en Weil (213), waarbij kleine hoeveelheden lever, inplaats van biefstuk, als extrinsic factor gegeven worden, heeft nog het nadeel, dat men aan een proefpersoon gebonden is; ofschoon het een voordeel is, dat het uithevelen der maag tot 3 à 4 maal beperkt kan worden en dat men bovendien slechts 60 cc maagsap behoeft te verzamelen. Deze proef wordt als volgt uitgevoerd:

60 Gram fijngemalen lever wordt met 60 cc van het te onderzoeken

maagsap vermengd en daarna op pH 2.5-3.5 gedurende 2 uur geïncubeerd op 37 °; het mengsel wordt vervolgens gebracht op pH 5.5-6 en in drie gelijke porties verdeeld. Dagelijks wordt één portie, dus het mengsel van 20 gram lever en 20 cc maagsap, gedurende 12—14 dagen per os toegediend. Treedt nu een reticulocytenstoot op, gepaard gaande met een stijging van het haemoglobinegehalte en het aantal erythrocyten, dan bevat het onderzochte maagsap den intrinsic factor.

Van groot belang is voorts, dat men het product van lever en maagsap, door het tot poeder te drogen, verscheidene maanden op lage temperatuur kan bewaren, zonder dat de werkzaamheid belangrijk vermindert. Hierdoor wordt het mogelijk zich eenigszins onafhankelijk van den proefpersoon te maken. In het zesde hoofdstuk zal deze methode nog nader ter sprake komen.

Eenigen tijd geleden deelde Singer (237, 239) mede, dat men op eenvoudige wijze den intrinsic factor in het maagsap kan aantonen, door 1—3 cc maagsap subcutaan bij een rat in te spuiten. Reeds 24 uur, in den regel echter 2 dagen, na de injectie van normaal maagsap treedt een vermeerdering der reticulocyten op. Maagsap van patiënten met pernicieuze anaemie en maagsap van normale personen, gedurende 5—10 minuten gekookt, gaf deze reactie niet te zien. Behalve met normaal maagsap werd een reticulocytose eveneens met het maagsap van patiënten met achylische chloroanaemien en andere anaemien verkregen.

De uitkomsten dezer rattenproeven kwamen zeer fraai overeen met die van Castle, verkregen met maagsap-biefstukmengsels bij patiënten met pernicieuze anaemie; deze proeven van Singer beloofden dus een belangrijke vereenvoudiging in de methodiek tot het aantonen van den intrinsic factor te zullen worden. Toch rijst al aanstonds eenige twijfel omtrent de specificiteit dezer proeven, daar ook andere stoffen, zooals tryptophaan en histidine, in staat zijn een dergelijke reticulocytenvermeerdering te geven (78, 87).

Reeds Gebhardt en Cario (87) gebruikten deze rattenproef als test op den antianaemischen leverfactor. Zoowel na inspuiting van campolon als na inspuiting van normaal maagsap zagen zij een reticulocytenvermeerdering optreden. Het bleek hun echter, dat ook niet werkzame leverpraeparaten na injectie een reticulocytose konden geven. Waaraan de reactie na de inspuiting van het maagsap moest worden toegeschreven, werd door deze schrijvers niet verder onderzocht.

Naar aanleiding van de publicatie van Singer heb ik een aantal proeven op ratten genomen, teneinde de waarde dezer test voor het aantoonen van den intrinsic factor na te gaan (148).

Als proefdier werd de volwassen albino-rat gebruikt. Het bloed werd onder de gebruikelijke voorzorgen van steriliteit door een prik in de staartvena verkregen; de eerste tevoorschijn komende bloeddruppel werd steeds verwijderd en de tweede of derde voor de telling der reticulocyten gebruikt. Het praeparaat werd gekleurd met een 1 % oplossing van brillantcresylblauw, opgelost in alcohol 96 %. Bij ieder proefdier werden gedurende minstens één week de reticulocyten geteld. Was het aantal reticulocyten in deze controleperiode duidelijk verhoogd, dan werd het proefdier verder uitgeschakeld. Gemiddeld werden bij normale ratten 19 reticulocyten per duizend erythrocyten gevonden.

Volgens Engberding (66) zou reeds het herhaald afnemen van bloed, tengevolge waarvan een anaemie ontstaat, tot een vermeerdering der reticulocyten leiden.

Gelijk in tabel II is te zien, bleef bij onze proefdieren het aantal reticulocyten gedurende de controleperiode tamelijk constant, zoodat besloten mag worden, dat het ontnemen van bloed niet tot een vermeerdering dezer cellen aanleiding geeft.

De verschillende uitkomsten, verkregen eenerzijds door Engberding, anderzijds door Singer en mij, zijn waarschijnlijk toe te schrijven aan de wijze waarop het bloed werd afgenomen. Door Engberding werd, teneinde de benodigde hoeveelheid bloed voor de telling te verkrijgen, dagelijks een deel der staart afgeknipt; vanzelfsprekend is hierbij het bloedverlies grooter dan bij de door Singer gebruikte techniek en het is begrijpelijk, dat een gevoelig proefdier als de rat is, hierop reeds met een reticulocytenvermeerdering reageeren zal.

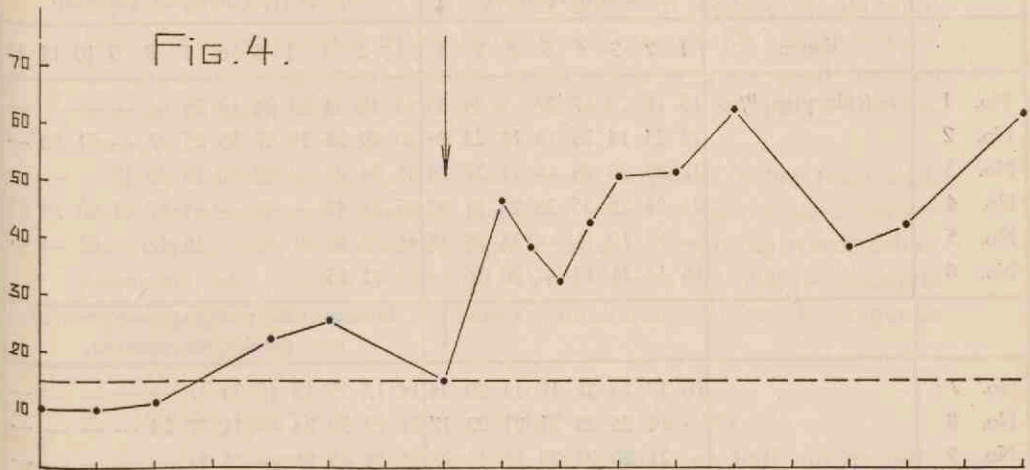
Door mij werden de volgende proeven genomen (tabel II).

1. Injectie van 3 cc normaal maagsap.

Bij 6 ratten werd 3 cc normaal maagsap ingespoten. 5 dieren reageerden 24—48 uur na de injectie met een vermeerdering der reticulocyten.

Gelijk figuur 4 laat zien, is de vorm der reticulocyten-curve evenwel niet gelijk aan die, welke men bij de pernicioze anaemie na leverttoediening gewoon is waar te nemen. Er is geen z.g. reticulocyten-

stoot te zien, doch het getal der reticulocyten blijft soms nog tamelijk langen tijd verhoogd.

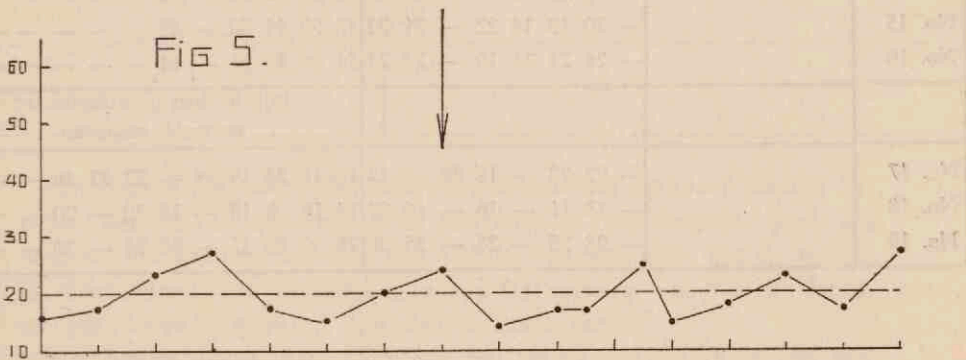


Slechts bij rat No. 6 werd na de injectie geen reticulocytenvermeerdering waargenomen; dit dier maakte op den tweeden dag na de inspuiting een zieken indruk en stierf eenige dagen later. Bij de sectie werd, behoudens een klein necrotisch plekje op de injectieplaats, geen afwijking gevonden.

Rat No. 4 vertoonde 10 dagen na de inspuiting een absces op de injectieplaats.

2. Injectie van maagsap van patiënten met pernicieuze anaemie.

Bij 4 ratten werd 3 cc van dit maagsap ingespoten; het reticulocytenaantal bleef hierna onveranderd. (figuur 5).



TABEL II.

		Controleperiode ↓								Injectie van normaal maagsap											
	dagen	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
No. 1	reticulocyten ‰	15	18	23	17	27	—	34	33	48	48	34	55	28	19	29	—	—	—	—	—
No. 2		22	24	14	25	19	18	22	24	30	50	56	38	47	35	25	37	—	51	50	—
No. 3		22	23	20	24	—	11	27	24	38	54	28	—	17	20	19	30	19	—	—	—
No. 4		21	28	26	25	28	28	31	32	65	58	42	—	48	—	44	67	67	98	79	71
No. 5		—	10	10	11	—	22	25	16	46	32	50	51	62	—	38	42	—	61	—	—
No. 6		18	17	21	19	—	20	16	13	22	23	13									
No. 7		16	17	23	27	17	15	20	24	14	17	25	15	18	23	17	—	—	—	—	—
No. 8		—	14	26	23	21	21	22	17	21	23	20	24	—	11	27	24	—	—	—	—
No. 9		—	21	20	23	20	15	24	28	26	25	23	21	—	28	21	—	—	—	—	—
No. 10		—	19	8	14	14	16	14	17	18	17	21	19	—	20	16	12	—	—	—	—
No. 11		17	10	17	—	11	23	—	19	26	24	21	—	19	22	20	—	—	—	—	—
No. 12		19	14	17	—	20	—	19	18	22	36	43	41	49	45	51	57	—	68	39	—
No. 13		17	24	19	24	—	22	22	16	32	39	38	39	42	37	49	23	65	45	—	—
No. 14		—	20	19	14	18	—	24	25	50	38	56	54	—	42	—	—	—	—	—	—
No. 15		—	20	19	18	22	—	21	23	47	50	44	60	—	32	—	—	—	—	—	—
No. 16		—	24	25	23	19	—	22	22	34	46	40	51	—	44	—	—	—	—	—	—
No. 17		—	22	22	—	18	20	—	13	15	17	24	19	24	—	22	22	16	—	—	—
No. 18		—	18	11	—	16	—	16	22	14	16	8	18	—	18	20	—	20	—	—	—
No. 19		—	28	35	—	28	—	35	30	28	39	80	37	—	60	28	—	30	—	—	—

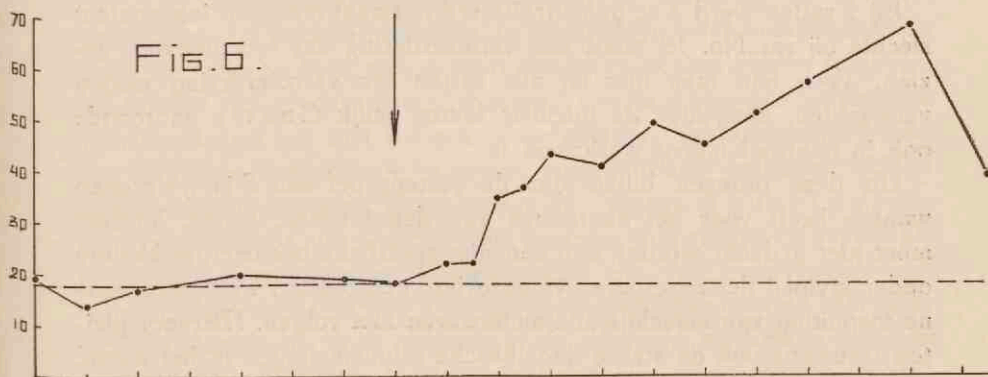
3. Injectie van verhit normaal maagsap.

Normaal maagsap werd gedurende een half uur op 80° verhit. Bij één rat werd 3 cc van dit verhitte maagsap ingespoten. Er werd hierna geen retilocytenvermeerdering waargenomen. De uitkomsten der bovengenoemde proeven komen, gelijk wij zien, zeer goed overeen met de proeven van Castle en schenen die van Singer te bevestigen.

Door de verhitting op 80° wordt de intrinsic factor vernietigd; van een aldus voorbehandeld maagsap mocht geen reticulocytenvermeerdering meer verwacht worden. Door deze verhitting wordt echter eveneens het pepsine vernietigd. Teneinde een beenmergprikkelende werking van het pepsine te kunnen uitsluiten werden de volgende proeven verricht:

4. Injectie van verhit normaal maagsap + pepsine.

Aan 30 cc normaal maagsap, dat gedurende een half uur op 80° verhit was, werd 300 mgr. pepsine (Witte) toegevoegd. Van deze vloeistof werd 3 cc subcutaan bij een rat ingespoten; 48 uur na deze injectie ontstond een vermeerdering der reticulocyten, welke na eenige dagen nog toenam. (figuur 6).



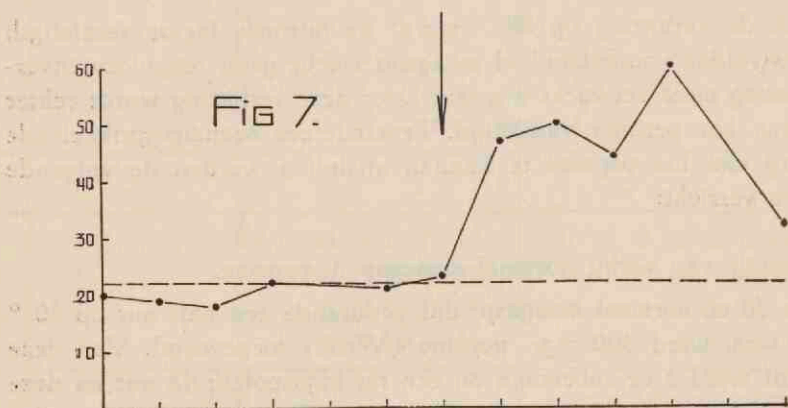
Uit deze proef volgt, dat ook pepsinehoudend maagsap zonder intrinsic factor, een minstens even aanzienlijke reticulocytose geeft als normaal maagsap en het was dus weinig waarschijnlijk, dat de reticulocytentoename van normaal maagsap het gevolg was van de beenmergprikkelende werking van den intrinsic factor.

Het bewijs dat de reticulocytose niet op de aanwezigheid van den

intrinsic factor in het maagsap berust, werd door de volgende proeven geleverd.

5. Injectie van een zoutzuur-pepsineoplossing.

Na injectie van 3 cc van een zoutzuur-pepsineoplossing (3 cc HCl 1/10 n, 7 cc H₂O en 200 mgr. pepsine Witte), werd bij 4 ratten een toename der reticulocyten waargenomen. (figuur 7).



6. Injectie van geneutraliseerd maagsap.

Bij 3 ratten werd 3 cc geneutraliseerd normaal maagsap ingespoten; slechts bij rat No. 19 werd een vermeerdering der reticulocyten gezien. Toch had men hier bij alle ratten een vermeerdering mogen verwachten, aangezien de intrinsic factor gelijk Castle aantoonde ook in neutraal milieu werkzaam is.

Uit deze proeven blijkt, dat de rattenproef van Singer geen waarde heeft voor het aantoonen van den intrinsic factor. Veeleer moet hier gedacht worden aan een niet specifieke beenmergprikkeling onder invloed der ingespoten vloeistoffen, een reactie, welke eveneens na inspuiting van verschillende aminozuren kan volgen. Hiervoor pleiten trouwens ook de sterke dagelijksche schommelingen in het aantal reticulocyten, welke na deze inspuitingen worden opgemerkt. L e i n e r (164) zag een dergelijke reticulocytose eveneens na injecties van urine. Hij besluit hieruit, dat ook de urine intrinsic factor bevat, een conclusie, die wel wat al te ver gaat.

Ook F l e i s c h h a c k e r en S c h l e s i n g e r (77) vonden na inspuiting van zoutzuur-pepsineoplossing een reticulocytose en meenen op grond hiervan, dat de rattenproef van Singer geen ge-

schikte test op den intrinsic factor is. Voorts werd in hun proeven herhaaldelijk, ook met maagsap van patiënten met pernicieuze anaemie, een positieve reactie verkregen, terwijl omgekeerd het maagsap van een patiënt met polycythaemie geen effect had.

Ondanks het feit, dat zoutzuur-pepsineoplossingen een zelfde reactie geven als normaal maagsap, meent *Singer* (241), dat zijn ratenproef van waarde is voor het aantoonen van den intrinsic factor. Werd uit pepsineoplossingen met behulp van caseïne het pepsine neergeslagen, dan kon met het filtraat nog een positieve reticulocytenreactie worden verkregen. De werking van het filtraat in deze omstandigheden, wordt door hem toegeschreven aan sporen intrinsic factor, welke in de pepsinepreparaten aanwezig zouden zijn. Ook al mocht het waar zijn, dat deze filtraten van pepsineoplossingen tot een reticulocytenvermeerdering aanleiding geven, dan is hierdoor nog geenszins aangetoond, dat dit door den intrinsic factor wordt veroorzaakt.

In onze proeven werd met geneutraliseerd normaal maagsap 2 maal geen reactie waargenomen, terwijl *Rauschenberger* (210) met normaal maagsap meerdere malen geen positieve reactie konden verkrijgen. Duidelijk blijkt hieruit, dat de reticulocytose niet mag worden toegeschreven aan de werking van den intrinsic factor. *Rauschenberger* concentreerde normaal maagsap in vacuo bij 40 °; in tegenstelling met normaal maagsap, is het op deze wijze voorbehandelde maagsap, volgens hem, wèl in staat een reticulocytenreactie te geven. Na injectie van geconcentreerd maagsap van patiënten met pernicieuze anaemie, kwam het niet tot een reticulocytose. Verondersteld wordt, dat door deze concentratie in vacuo, antipernicieus werkzame stoffen in het maagsap ontstaan. Deze zouden nu, volgens *Rauschenberger*, wèl in staat zijn een positieve reticulocytenreactie te geven. De uitkomsten dezer proeven moeten echter met veel reserve aanvaard worden, daar reeds eerder door anderen werd aangetoond, dat deze reticulocytenreactie geen waarde heeft voor het aantoonen van het werkzame leverprincipe. Veeleer moet ook hier weer gedacht worden aan een niet specifieke beenmergprikkelende werking van de ingespoten vloeistof.

Uit het voorafgaand moet worden besloten, dat men voor het aantoonen van den intrinsic factor, vooralsnog uitsluitend en alleen aangewezen is op den onbehandelden lijder aan pernicieuze anaemie als proefpersoon; proeven om dit langs experimenteelen weg te bereiken hebben tot heden gefaald.

HOOFDSTUK VI.

OVER DE POTENTIEERING VAN LEVER DOOR MAAGSAP.

Reimann (211) deelde in 1931 mede, dat de werkzaamheid van lever bij de behandeling der pernicieuze anaemie ongeveer 15—30 maal versterkt wordt, wanneer men normaal menschelijk maagsap op lever laat inwerken op een wijze gelijk aan die, welke door Castle en medewerkers beschreven werd, voor de inwerking van maagsap op biefstuk. Ongeveer gelijktijdig vonden Walden en Clowes (272), dat varkensmaag in staat is de werking van lever of leverextract 3—4 maal te versterken.

Deze potentieerende werking van normaal menschelijk maagsap, resp. varkensmaag, werd door verschillende schrijvers bevestigd.

(Brugsch 20; Helmer, Fouts en Zerfas 119, 79, 81; Franke 82; Meyer, Richter en Legere 186).

Alleen Barnett en Thebaut (8) zagen geen duidelijke vermeerderde werking van met maagsap voorbehandelde lever en meenen, dat hier hoogstens sprake kan zijn van een addeering der in lever en in maagweefsel aanwezige antipernicieus werkzame principes. In een latere mededeeling kon Reimann zijn vondst bevestigen (212). Het onderzoek van Reimann en medewerkers is niet alleen van practisch belang, doch ook nog om een andere reden verdient het de aandacht. Zij vonden n.l., dat het maagsap van lijdens aan pernicieuze anaemie niet in staat is de leverwerking te versterken, in tegenstelling met normaal maagsap, maagsap van patiënten met achylie en van patiënten met chloroanaemien; terwijl voorts bleek, dat door verhitting van normaal maagsap gedurende een half uur op 60° de potentieerende werking verloren gaat (213). Op grond van deze gegevens meenen zij, dat de factor, welke de leverwerking versterkt, gelijk is aan den door Castle beschreven intrinsic factor. De lever zou dus, naast een antipernicieus werkzaam principe, bestanddeelen bevatten, die als extrinsic factor werken; met dezen extrinsic factor vormt het toegevoegde maagsap nieuwe actieve stof, waardoor een potentieering der leverwerking ontstaat. Indien deze waarneming juist

is, veroorloofd zij, gelijk reeds op blz. 62 werd uiteengezet een belangrijke vereenvoudiging der proef van Castle tot het aantonen van den intrinsic factor.

Bij de methode van Reimann en Weil wordt dagelijks het product van 20 gram lever en 20 cc van het te onderzoeken maagsap toegediend en de reactie van den proefpersoon hierop ook weer bepaald aan het optreden van een reticulocytenstoot en een stijging van het haemoglobinegehalte en het aantal der erythrocyten. Blijft deze reactie uit, dan wordt tot onbreken van den intrinsic factor in het onderzochte maagsap besloten.

Wil deze conclusie gerechtvaardigd zijn, dan dient men allereerst de zekerheid te hebben, dat 20 gram lever, dagelijks per os toegediend, geen werking heeft. Volgens Reimann heeft 20—30 gram lever per dag geen aantoonbare werking.

Ik heb nu eenige proeven genomen teneinde de bruikbaarheid dezer methode, waarvan de uitvoering reeds op blz. 62 werd besproken, te controleeren. Alle proeven werden verricht met typische gevallen van pernicieuze anaemie als proefpersonen. Wegens het beperkte aantal geschikte patiënten werden indien mogelijk 2 proeven op één persoon genomen, waarbij dan eerst een product werd gegeven waarvan geen effect werd verwacht en indien deze verwachting juist bleek, daarna een werkzaam mengsel. Eenerzijds echter wegens den langen duur der proeven, anderzijds omdat de toestand van den patiënt zulks niet gedoogde, was het niet mogelijk dit steeds bij alle proefpersonen door te voeren. De uitkomsten van alle proeven zijn vereenigd in de tabellen III en IV.

Proef No. 1.

De proefpersoon kreeg gedurende 12 dagen een mengsel van 20 gram lever en 20 cc maagsap van een lijder aan pernicieuze anaemie, zonder dat eenig effect werd waargenomen:

Vóór de behandeling: erythrocyten 2.000000; haemoglobine 50 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 47 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 10 $\frac{0}{100}$ en 18 $\frac{0}{100}$.

Het product van 20 gram lever en 20 cc normaal maagsap, dat eveneens 12 dagen gegeven werd, gaf hierna een duidelijke werking te zien. (figuur 8).

TABEL III.

		dagelijks 20 gram lever + 20 c c maagsap van patiënt met pernicieuze anaemie.											
dagen	1. 2. 3. 4. 5.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ‰	8. 8. — 10. —	10 8 — 12 12 — 11 18 10 15 12 6											
haemoglobine %	50. — — — —	50 — — — 50 — — — — 52 — —											
mill. erythrocyten	2. — — — —	1.9 — — — 1.9 — — — — 1.9 — —											
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c maagsap van patiënt met spruw.											
dagen	1. 2. 3. 4. 5. 6.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9.											
reticulocyten ‰	— — 7 8 10 8	6 5 8 11 104 211 236 226 125											
haemoglobine %	64 — 64 61 63 62	— — 53 — — — 53 — —											
mill. erythrocyten	1.5 — — — —	— — 1.5 — — — — —											
		dagelijks 20 gram lever + zoutzuur-pepsine											
dagen	1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ‰	27 34	13 — 22 — 29 28 30 24 30 18 — 30											
haemoglobine %	60 —	55 — 60 — — — 58 — — — — 60											
mill. erythrocyten	2 —	— — 1.8 — — — — — 1.8 — —											
dagen	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ‰	5 — — —	12 14 11 14 18 14 19 24 18 15 16 20											
haemoglobine %	50 — — 45	45 45 44 40 45 45 44 44 44 44 45 48											
mill. erythrocyten	1.8 — — —	1.8 — — — — 1.7 — 1.5 — 1.4 — 1.8											
dagen	1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.											
reticulocyten ‰	20 —	15 20 14 17 — 15 15 20											
haemoglobine %	40 —	40 40 40 44 — — 34 —											
mill. erythrocyten	1.22 —	1.3 1.1 1.2 1.4 — 1.2 1.1 —											
dagen	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13.											
reticulocyten ‰	10 — — 3	— — 12 12 — 12 6 — 6 8 16 — 14											
haemoglobine %	55 — 53 54	— — 58 — — — 60 — — — 60 — —											
mill. erythrocyten	2.2 — 1.9 2.24	— — 2.1 — — — 2.1 — — — 1.8 — —											

TABEL III.

		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.											
—	16 16 16 10 22 96 101 83 92 110 140 —	52 — 56 — 47 — 21											
—	47 — 47 — 52 — — — — 57 — —	67 — 66 — 79 — 78											
—	1.8 — 1.8 — — — — — — 1.9 — —	— — — — 2.7 — 3											
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1. 2. 3.	4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.	1. 2. 3.											
111	50 41	20 38 12 — 3 7 —											
66	— 69	75 — 75 — 80 — 90											
—	2.3 —	— — — — — 3.2 —											
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3.											
—	30 32 32 — 24 — 43 86 84 50 32 —	41 — 12											
—	— 60 60 — 65 — — 64 — 76 76 —	— — 83											
—	1.8 2.2 2 — — — — — — 2.7 — —	— — 3.1											
1. 2. 3.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.											
18 — —	16 15 15 16 13 12 14 15 26 56 36 23	12 11 12 16 — 20 18											
48 — —	48 49 54 — 53 55 55 55 55 55 54	54 55 55 55 — 55 —											
— — —	— 1.8 1.6 — 1.5 1.4 — 1.5 1.5 1.5 1.5 —	— — — 1.7 — — 1.7											
1. 2. 3.													
16 — 20													
38 — 40													
1.17 — 1.17													
1.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3.											
—	8 — 10 — 26 41 39 25 26 18 — 24	— — —											
—	55 — 60 — 63 60 — — — 77 — —	75 — 85											
—	1.85 — 2 — — 1.9 — — — 2.1 — —	2.5 — 3											

TABEL III.

		dagelijks 20 gram lever + 20 c c maagsap van patiënt met pernicieuze anaemie.											
dagen	1. 2. 3. 4. 5.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	8. 8. — 10. —	10 8 — 12 12 — 11 18 10 15 12 6											
haemoglobine %	50. — — — —	50 — — — 50 — — — — 52 — —											
mill. erythrocyten	2. — — — —	1.9 — — — 1.9 — — — — 1.9 — —											
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c maagsap van patiënt met spruw.											
dagen	1. 2. 3. 4. 5. 6.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	— — 7 8 10 8	6 5 8 11 104 211 236 226 125											
haemoglobine %	64 — 64 61 63 62	— — 53 — — — 53 — —											
mill. erythrocyten	1.5 — — — —	— — 1.5 — — — — —											
		dagelijks 20 gram lever + zoutzuur-pepsine											
dagen	1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	27 34	13 — 22 — 29 28 30 24 30 18 — 30											
haemoglobine %	60 —	55 — 60 — — — 58 — — — — 60											
mill. erythrocyten	2 —	— — 1.8 — — — — — 1.8 — —											
dagen	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	5 — — —	12 14 11 14 18 14 19 24 18 15 16 20											
haemoglobine %	50 — — 45	45 45 44 40 45 45 44 44 44 44 45 48											
mill. erythrocyten	1.8 — — —	1.8 — — — — 1.7 — 1.5 — 1.4 — 1.8											
dagen	1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	20 —	15 20 14 17 — 15 15 20											
haemoglobine %	40 —	40 40 40 44 — — 34 —											
mill. erythrocyten	1.22 —	1.3 1.1 1.2 1.4 — 1.2 1.1 —											
dagen	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13.											
reticulocyten ⁰ / ₁₀₀	10 — — 3	— — 12 12 — 12 6 — 6 8 16 — 14											
haemoglobine %	55 — 53 54	— — 58 — — — 60 — — — 60 — —											
mill. erythrocyten	2.2 — 1.9 2.24	— — 2.1 — — — 2.1 — — — 1.8 — —											

TABEL III.

		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1. 2.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.											
— —	16 16 16 10 22 96 101 83 92 110 140 —	52 — 56 — 47 — 21											
— —	47 — 47 — 52 — — — — 57 — —	67 — 66 — 79 — 78											
— —	1.8 — 1.8 — — — — — — 1.9 — —	— — — — 2.7 — 3											
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1. 2. 3.	4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.												
111 50 41	20 38 12 — 3 7 —												
66 — 69	75 — 75 — 80 — 90												
— 2.3 —	— — — — — 3.2 —												
		dagelijks 20 gram lever + 20 c c normaal maagsap.											
1.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3.											
—	30 32 32 — 24 — 43 86 84 50 32 —	41 — 12											
—	— 60 60 — 65 — — 64 — 76 76 —	— — 83											
—	1.8 2.2 2 — — — — — — 2.7 — —	— — 3.1											
1. 2. 3.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7.											
18 — —	16 15 15 16 13 12 14 15 26 56 36 23	12 11 12 16 — 20 18											
48 — —	48 49 54 — 53 55 55 55 55 55 54	54 55 55 55 — 55 —											
— — —	— 1.8 1.6 — 1.5 1.4 — 1.5 1.5 1.5 1.5 —	— — — 1.7 — — 1.7											
1. 2. 3.													
16 — 20													
38 — 40													
1.17 — 1.17													
1.	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12.	1. 2. 3.											
—	8 — 10 — 26 41 39 25 26 18 — 24	— — —											
—	55 — 60 — 63 60 — — — 77 — —	75 — 85											
—	1.85 — 2 — — 1.9 — — — 2.1 — —	2.5 — 3											

Vóór de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 47 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 3.000000; haemoglobine 78 %; reticulocytenstoot op den zesden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 140 0/00.



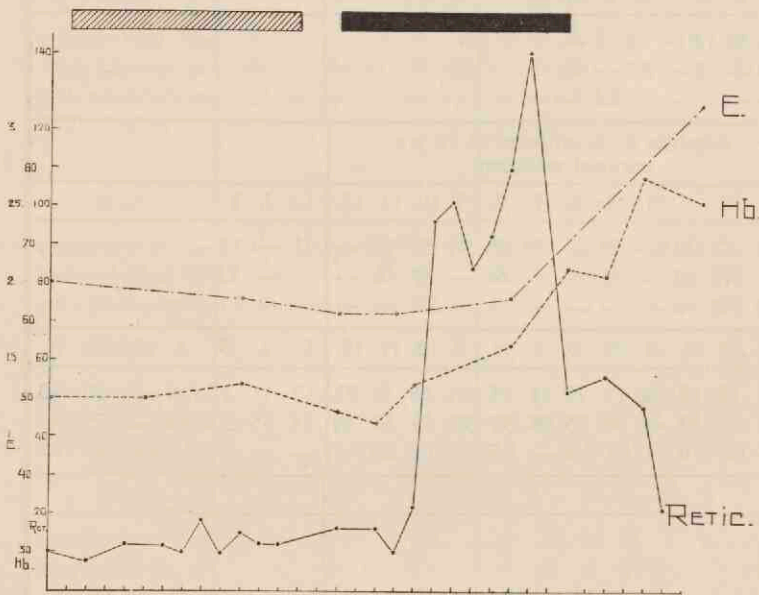
 DAGELYKS 20 GR. LEVER +
 MAAGSAP P.A.
 DAGELYKS 20 GR. LEVER +
 NORMAAL MAAGSAP.

FIG. 8.



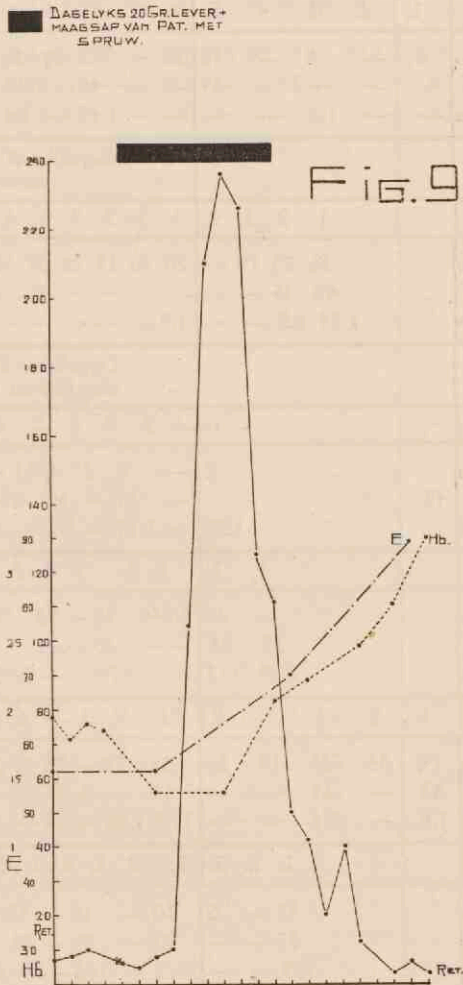
Uit deze proef valt dus op te maken, dat 20 gram lever niet werkzaam is en dat het maagsap van een lijder aan pernicieuze anaemie, in tegenstelling met normaal maagsap, niet in staat is de leverwerking te potentieeren.

Proef No. 2.

Deze proef kwam reeds op blz. 56 ter sprake.

Gedurende slechts 9 dagen werd hier het product van 20 gram lever en 20 cc maagsap van een patiënt met Indische spruw gegeven. Een treffend therapeutisch succes werd hier bereikt. Het maagsap van

dezen spruwpatiënt werkte als normaal maagsap, zoo niet sterker.
(figuur 9).



Vóór de behandeling; erythrocyten 1.500000; haemoglobine 62 %.

Nà de behandeling; erythrocyten 3.200000; haemoglobine 90 %;
reticulocytenstoot op den vijfden dag beginnend; maximum aantal
reticulocyten 236 0/00.

TABEL IV.

dagen	dagelijks 20 gram lever + 20—40 cc verhit normaal maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.			
reticulocyten ‰	8	—	8	—	10	32	—	15	14	16	14	10	—	30	23	24	18			
haemoglobine %	—	—	—	—	49	—	—	45	—	43	—	47	—	—	42	—	46			
mill. erythrocyten	—	—	1.5	—	—	—	—	1.44	—	1.4	—	1.48	—	—	1.5	—	1.59			
dagen	dagelijks 20 gram lever + 20—60 cc verhit normaal maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.				
reticulocyten ‰		38	23	19	—	20	26	19	24	32	38	51	90	—	48	50	22			
haemoglobine %		46	45	—	—	—	—	—	—	40	—	—	—	—	42	—	—			
mill. erythrocyten		1.54	1.5	—	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.						
reticulocyten ‰					2	—	6	7	8	11	—	18	18	106	90	108	96	—	52	
haemoglobine %	45					—	45	—	44	—	—	49	—	—	50	56	—	—	58	
mill. erythrocyten					1.25	—	1.25	—	1.2	—	—	1.3	—	—	1.98	1.7	—	—	1.9	
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.						
reticulocyten ‰				46	50	46	58	—	53	70	73	80	125	105	114	105	180	145	—	
haemoglobine %				25	24	—	20	—	21	—	23	—	20	—	—	25	—	—	31	
mill. erythrocyten				0.89	0.75	—	0.75	—	0.95	—	0.86	—	—	—	0.93	—	—	—	1.1	
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	
reticulocyten ‰	19	34	20	19	36	31	22	—	26	21	22	19	16	39	39	—	86	80	106	118
haemoglobine %	43	—	44	—	—	45	—	—	45	—	—	48	—	—	46	—	—	—	55	—
mill. erythrocyten	1.6	—	1.4	—	—	1.35	1.36	—	—	—	—	1.35	—	—	1.2	—	—	—	1.8	—
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																			
	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	
reticulocyten ‰			12	—	6	10	—	10	—	10	8	13	—	13	10	15	15	16	16	—
haemoglobine %			23	—	—	22	—	21	—	21	—	—	—	21	—	—	20	—	18	—
mill. erythrocyten			0.9	—	—	0.72	—	0.66	—	—	0.67	—	—	—	0.65	—	—	—	—	0.65

TABEL IV

dagen	dagelijks 20 gram lever + 20—40 cc normaal maagsap.											1.	2.					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	1.	2.	3.	4.	5.			6.	7.	8.	9.	10.
reticulocyten ‰	24	14	—	14	15	20	11.10.8.	—	58	—	130	240	90	82	—	110	38	66
haemoglobine %	—	43	—	—	45	—	40	—	37	—	—	40	—	—	55	—	65	68
mill. erythrocyten	—	1.45	—	—	1.67	—	1.3	—	1.3	—	—	1.4	—	—	2.1	—	2.2	—
dagen	dagelijks 20 gram lever + 20—60 cc verhit normaal maagsap				1.	2.	3.	4.										
	1.	2.	3.	4.														
reticulocyten ‰	—	—	8	—	—	—	—	—										
haemoglobine %	52	—	66	67	—	—	—	—										
mill. erythrocyten	—	—	2.5	—	—	—	—	—										
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.										
reticulocyten ‰	—	6	—	6	5	—	6	—										
haemoglobine %	—	58	58	—	58	—	—	60										
mill. erythrocyten	—	—	2.2	—	2.6	—	—	2.7										
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.												
reticulocyten ‰	164	170	—	38	—	32												
haemoglobine %	32	34	—	36	—	40												
mill. erythrocyten	—	1.2	—	1.35	—	1.45												
dagen	Dagelijks 20 gram lever + verhit ultrafiltraat van 60—120 cc maagsap																	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
reticulocyten ‰	82	60	71	46	24	—	9	—	4	—	6	—	—	—	—	—	2	
haemoglobine %	55	—	58	—	—	62	—	—	—	—	70	—	—	—	—	—	70	
mill. erythrocyten	—	—	2	—	—	—	2.2	—	—	—	2.2	—	—	—	—	—	2.52	

Proef No. 3.

Door Reiman en Weil werd niet nader onderzocht in hoeverre 20 gram lever, met zoutzuur-pepsine verwerkt, reeds therapeutisch effect zou blijken te hebben. Teneinde dit na te gaan, werd aan een viertal patiënten dagelijks een mengsel toegediend van 20 gram lever en 20 cc eener zoutzuur-pepsineoplossing (pepsine 1.5 gram, HCl 1/10 n 90 cc, aq. ad 300), hetwelk tevoren gedurende 2 uur bij pH 2.5—3 geïncubeerd was op 37 ° en vervolgens geneutraliseerd tot pH 6.5.

Eén patiënt kreeg dit mengsel gedurende 8 dagen, 2 patiënten gedurende 12 dagen en één patiënt gedurende 13 dagen. Bij geen der vier patiënten was eenige reactie te zien.

No. 1. Vóór de behandeling: erythrocyten 2.000000; haemoglobine 60 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 60 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 20 ‰ en 31 ‰ (figuur 10).

No. 2. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 45 %;

Nà de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 48 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 11 ‰ en 24 ‰.

No. 3. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.220000; haemoglobine 40 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 1.170000; haemoglobine 40 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 14 ‰ en 20 ‰.

No. 4. Vóór de behandeling: erythrocyten 2.240000; haemoglobine 54 %;

Nà de behandeling: erythrocyten 1.850000; haemoglobine 55 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 3 ‰ en 16 ‰.

Uit deze proeven volgt, dat pepsine-zoutzuur geen versterking der leverwerking geeft; tevens maken zij het zeer waarschijnlijk, dat 20 gram lever per dag zonder meer onwerkzaam is.

Vervolgens kreeg één dezer patiënten (No. 3) 5 cc pernaemon dagelijks intramusculair, waarop hij normaal reageerde, terwijl de overige drie patiënten gedurende 12 dagen het product van 20 gram lever en 20—40 cc normaal maagsap kregen. De uitkomsten waren als volgt:

No. 1. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 60 %.

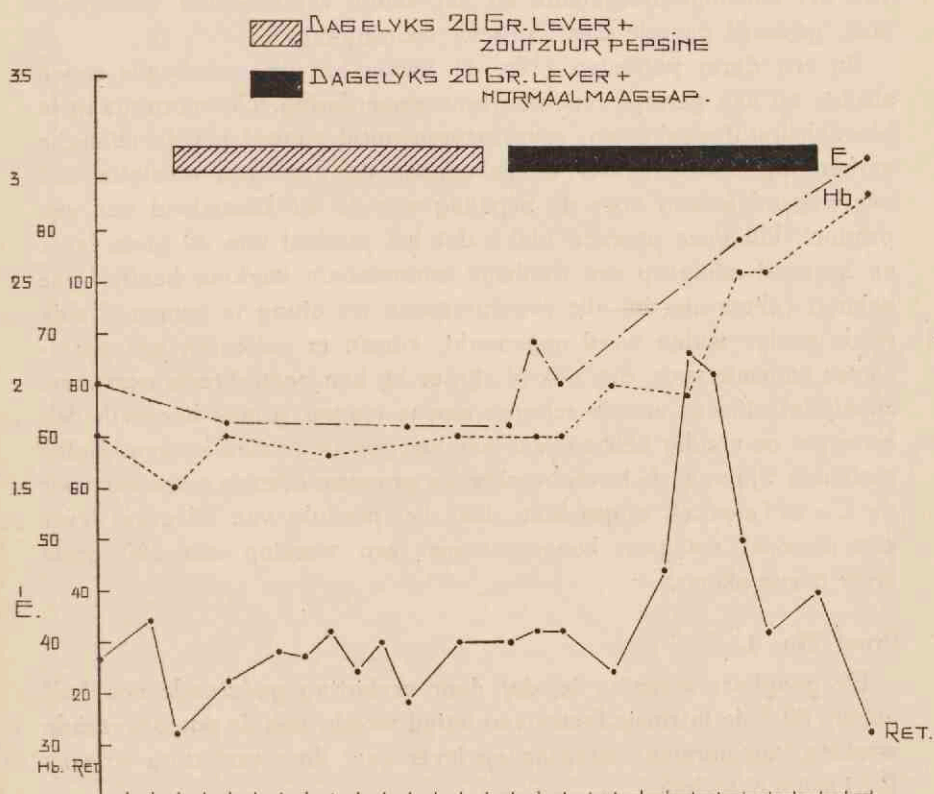
Nà de behandeling: erythrocyten 3.110000; haemoglobine 83 %; reticulocytenstoot op den zevenden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 86 ‰ (figuur 10).

No. 2. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.800000; haemoglobine 48 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 1.700000; haemoglobine 55 %; geen reticulocytenstoot? maximum aantal reticulocyten 56 ‰, op den tienden dag; reticulocyten vóór de behandeling 16 ‰.

No. 4. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.850000; haemoglobine 55 %.

FIG. 10.



Nà de behandeling: erythrocyten 3.000000; haemoglobine 85 %; geen reticulocytenstoot? maximum aantal reticulocyten 41 0/00 op den zesden dag; reticulocyten vóór de behandeling 8 0/00.

Eén dezer patiënten (No. 2) heeft dus niet op het product van normaal maagsap en lever gereageerd. Hij kreeg echter tijdens deze periode een pneumonie; het is bekend, dat deze ziekte evenals andere infecties de therapeutische werkzaamheid der leverpreparaten in sterke mate in ongunstigen zin kunnen beïnvloeden.

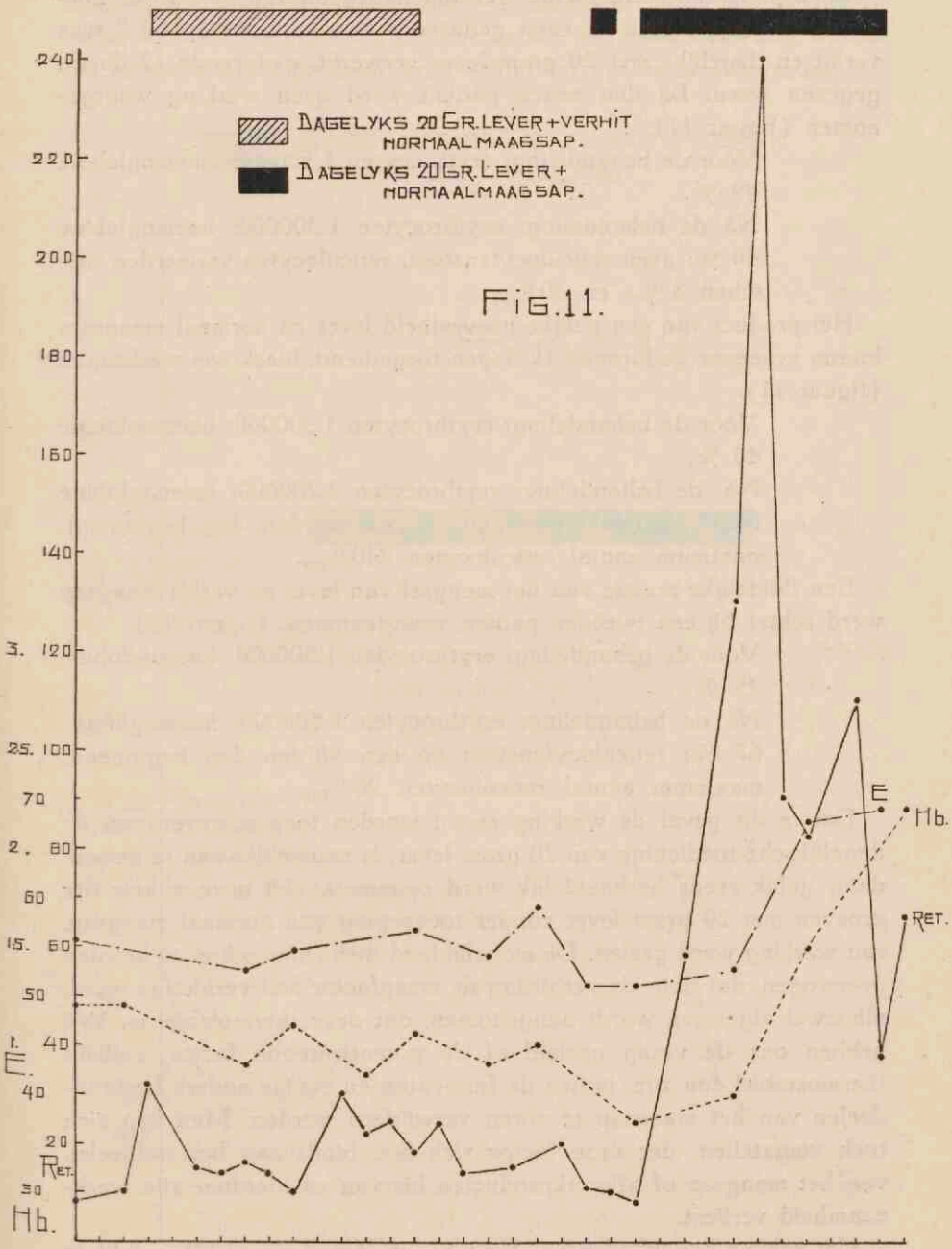
Dit was trouwens ook zeer goed te zien, toen de behandeling werd voortgezet met 5 cc pernaemon intramusculair. Het haemoglobinegehalte steeg bij deze therapie in 28 dagen slechts van 55 % tot 66 %, het aantal erythrocyten van 1.800000 tot 2.170000.

Bij de twee andere patiënten (No. 1 en No. 4) werd onder invloed van het mengsel van normaal maagsap en lever een flinke stijging van het haemoglobinegehalte en het aantal erythrocyten waargenomen, gepaard gaande met klinische vooruitgang.

Bij één dezer patiënten (No. 4) kwam het om onbekende reden slechts tot een geringe reticulocytenvermeerdering. De vooruitgang in bloedkleurstofgehalte en erythrocytenaantal zoowel als de klinische verbetering waren echter onmiskenbaar en deze zijn tenslotte van overwegend belang voor de bepaling van de werkzaamheid van een product. Uit deze proeven blijkt, dat het product van 20 gram lever en normaal maagsap een duidelijk aantoonbare werking heeft. Deze behoeft echter niet bij alle proefpersonen tot uiting te komen. Gelijk reeds eenige malen werd opgemerkt, komen er patiënten met pernicious anaemie voor, die, ook al zijn er bij hen geen directe oorzaken, zooals infecties of arterio-sclerose aan te toonen, groote hoeveelheden lever per os noodig hebben, wil men een reactie te zien krijgen. Zulke patiënten zijn voor de bovenbeschreven proeven, evenals trouwens voor de *C a s t l e*-proef, ongeschikt, daar het produkt van 20 gram lever en normaal maagsap hoogstens met een werking van 200 gram lever overeenkomt.

Proef No. 4.

De gangbare meening is, dat door verhitting gedurende een half uur op 60 ° de intrinsic factor vernietigd wordt; ook de potentieerende werking van normaal maagsap op lever gaat door verhitting volgens *R e i m a n n* te loor.



Bij 2 patiënten werd nu de werking nagegaan van 20—40 cc normaal maagsap, nadat dit eerst gedurende een half uur op 60 ° was verhit en dagelijks met 20 gram lever verwerkt, gedurende 12 dagen gegeven werd. Bij den eenen patiënt werd geen werking waargenomen (figuur 11).

Vóór de behandeling: erythrocyten 1.500000; haemoglobine 49 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 1.300000; haemoglobine 40 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tusschen 8 ‰ en 30 ‰.

Het product van een gelijke hoeveelheid lever en normaal maagsap, hierna eveneens gedurende 12 dagen toegediend, bleek wel werkzaam: (figuur 11).

Vóór de behandeling: erythrocyten 1.300000; haemoglobine 40 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 2.200000; haemoglobine 68 %; reticulocytenstoot op den vijfden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 240 ‰.

Een duidelijke reactie van het mengsel van lever en verhit maagsap werd echter bij een tweeden patiënt waargenomen: (figuur 12).

Vóór de behandeling: erythrocyten 1.500000; haemoglobine 45 %.

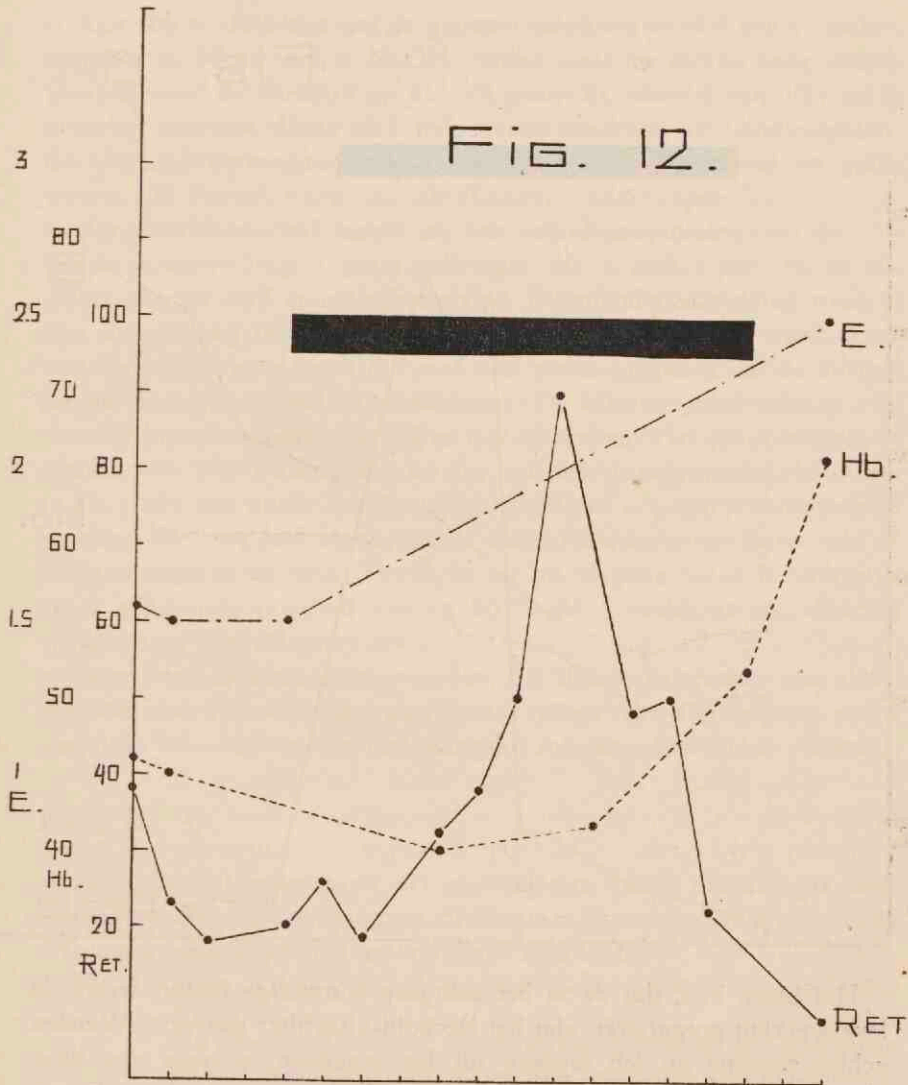
Nà de behandeling: erythrocyten 2.500000; haemoglobine 67 %; reticulocytenstoot op den vijfden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 90 ‰.

Dat in dit geval de werking moest worden toegeschreven aan de dagelijksche toediening van 20 gram lever, is nauwelijks aan te nemen, daar, gelijk reeds herhaaldelijk werd opgemerkt, bij geen enkele der proeven met 20 gram lever zonder toevoeging van normaal maagsap, een werking werd gezien. De mogelijkheid dient hier echter te worden overwogen, dat door de verhitting de maagfactor niet vernietigd werd, alhoewel algemeen wordt aangenomen, dat deze thermolabiel is. Wij hebben ons de vraag gesteld of de potentieerende factor wellicht thermostabiel zou zijn, indien de fermenten en eenige andere bestanddeelen van het maagsap te voren verwijderd werden. Men kan zich toch voorstellen, dat deze factor zich b.v. bindt aan bestanddeelen van het maagsap of afbraakproducten hiervan en hierdoor zijn werkzaamheid verliest.

Het schijnt aan Helmer, Fouts en Zervas (120) gelukt te

zijn, uit het maagsap een vloeistof te bereiden, welke nog wel deze factor bevatte, doch waarin pepsine en leb niet meer aanwezig waren. De juistheid dezer proeven werd echter tot nu toe niet bevestigd.

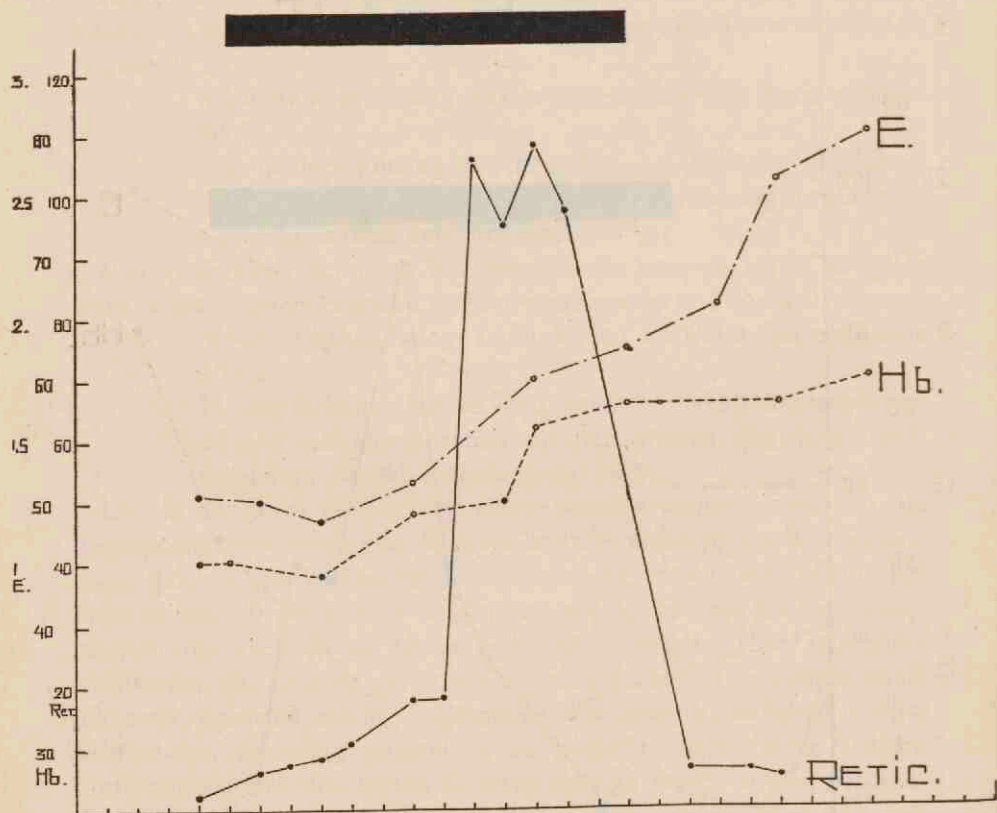
■ DAGELYKS 20 GR. LEVER + VERHIT
NORMAAL MAAGSAP.



De genoemde onderzoekers kwamen bij hun proeven, welke reeds eerder naar aanleiding van het „addisin” van Morris ter sprake kwamen, tot eenige belangrijke vondsten.

DAGELYKS 20 GR. LEVER +
VERHIT ULTRAFILTRAAT VAN
NORMAAL MAAGSAP.

FIG. 13.



Het bleek hun, dat de in het maagsap aanwezige factor, welke de leverwerking potentieert, niet het Bechold-ultrafilter passeert. Werden echter pepsine en leb tevoren uit het maagsap, volgens een door Hammersten (107) aangegeven methode, verwijderd en daarna

ultrafiltratie toegepast, dan bleef deze maagfactor deels achter, deels passeerde hij het ultrafilter.

Teneinde de thermostabiliteit van den maagfactor nader te toetsen heb ik een dergelijke werkwijze gevolgd. Het maagsap werd uitgeheveld na subcutante injectie van een halve milligram histamine. Vervolgens werden pepsine en leb door middel van caseïnepraecipitatie verwijderd.

Aan 100 cc door een gaasje gegoten maagsap werd 4 gram caseïne, opgelost in 50 cc 0.5 n NaOH, onder gestadig roeren toegevoegd. Daarna werd de vloeistof op pH 3.5 gebracht, waarbij een dikvlokkig neerslag ontstond. Door acentrifugeeren werd een licht opalesceerende vloeistof verkregen. Deze werd met wat talk geschud en gefiltreerd. Dit filtraat werd aan ultrafiltratie onderworpen.

Het ultrafilter werd bereid uit een collodiumoplossing van de volgende samenstelling: 7 gram collodium, 60 cc aether pur., 40 cc absolute alcohol en 5 cc aethyleenglycol. De collodiumoplossing werd in een dunne laag in een schoone petrischaal gegoten. Na verdampen van de aether werd het filter met veel water gespoeld om de alcohol en het aethyleenglycol te verwijderen. De filtratie geschiedde in een daartoe bestemd porcelein filter met filterplaat. Het aldus verkregen ultrafiltraat was waterhelder en vrij van leb, pepsine en eiwitstoffen.

De vraag was nu, in hoeverre dit ultrafiltraat nog een potentieerende werking op lever had en zoo ja, of deze potentieerende factor min of meer thermostabiel was. Teneinde dit na te gaan werd het ultrafiltraat gedurende een half uur op 80 °—90 ° verhit en na afkoelen geïncubeerd met 20 gram lever.

Daar verondersteld mocht worden, dat tijdens het proces van ultrafiltratie een deel van den maagfactor teloor zou zijn gegaan, werd dagelijks 60—120 cc normaal maagsap tot een ultrafiltraat verwerkt.

Proef No. 5.

Aan vier patiënten werd het product van verhit ultrafiltraat, verkregen uit 60—120 cc maagsap en 20 gram lever, dagelijks gedurende 14 dagen toegediend met het volgende resultaat:

No. 1. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.250000; haemoglobine 45 %.

Nà de behandeling: erythrocyten 2.700000; haemoglobine 60 %; reticulocytenstoot op den negenden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 108 0/00. (figuur 13).

- No. 2. Vóór de behandeling: erythrocyten 750000; haemoglobine 24 %.
 Nà de behandeling: erythrocyten 1.450000; haemoglobine 40 %; reticulocytenstoot op den zevenden dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 180 ‰.
- No. 3. Vóór de behandeling: erythrocyten 1.350000; haemoglobine 45 %.
 Nà de behandeling: erythrocyten 2.520000; haemoglobine 70 %; reticulocytenstoot op den achtsten dag beginnend; maximum aantal reticulocyten 118 ‰.
- No. 4. Vóór de behandeling: erythrocyten 720000; haemoglobine 22 %.
 Nà de behandeling: erythrocyten 650000; haemoglobine 18 %; geen reticulocytenstoot; reticulocyten varieerden tus-
 schen 8 ‰ en 15 ‰.

Gelijk wij zien, werd bij 3 patiënten een reticulocytose met stijging van erythrocytenaantal en haemoglobinegehalte waargenomen, waarbij tevens een duidelijke klinische verbetering was op te merken.

Eén patiënt reageerde niet. Waaraan dit negatieve resultaat moet worden toegeschreven is niet met zekerheid te zeggen. Daar hij in zeer slechte conditie was, hielden wij het niet voor verantwoord de proeven voort te zetten, teneinde de werking van 20 gram lever en normaal maagsap na te gaan. In ieder geval moet de mogelijkheid open gelaten worden, dat de patiënt hier niet op gereageerd zou hebben en dus geen geschikte proefpersoon was. Thans waren wij genoopt dezen patiënt met hooge doses lever parenteraal te behandelen, waarna een zeer sterke reticulocytencrisis optrad (438 ‰). Aanvankelijk stegen gedurende de eerste 14 dagen het haemoglobinegehalte en erythrocytenaantal flink; hierna was echter eenigen tijd slechts geringe vooruitgang te bespeuren. Doch ook al zou een snelle verbetering bij deze parenterale therapie ingetreden zijn, zoo zegt dit weinig omtrent de reactiemogelijkheid bij orale levertoevoeding.

Uit de bovenbeschreven proeven volgt, dat de eigenschappen van den factor, die de leverwerking versterkt en die in normaal maagsap aanwezig is, zeer waarschijnlijk overeenkomen met die van den intrinsic factor. Deze was niet in een maagsap van een patiënt met pernicioze anaemie aan te toonen, doch wel in het normale maagsap en is niet identiek met zoutzuur pepsine of leb. Tot zoover komen onze proeven goed overeen met die van Reimann en medewerkers; deze vonden verder nog, dat de potentieerende factor eveneens bij achylie zonder pernicioze anaemie in het maagsap aanwezig was en dat

deze door verhitting vernietigd werd. Uit onze laatste serie proeven blijkt echter, dat, wanneer te voren pepsine en leb werden verwijderd, deze potentieerende factor niet alleen ultrafiltrabel, doch tevens thermostabiel is (zuur milieu). Met het oog hierop kan dus deze potentieerende factor zeker geen enzyme zijn gelijk Reimann aanneemt. Merkwaardiger wijze is nu de in de lever aanwezige tegen de pernicieuze anaemie werkzame stof eveneens thermostabiel in zuur milieu en waarschijnlijk evenens ultrafiltrabel (Richter 215; Fouts, Helmer en Zervas 80). De vraag rijst dus, zijn het actieve maagprincipe en de werkzame leverstof identiek? Eenige zekerheid hieromtrent is niet te geven, zoolang nog vrijwel niets omtrent de eigenschappen der leverstof bekend is.

Voor korten tijd verscheen een belangrijke mededeeling van Greenspon (98), waarin deze onderzoeker tot de conclusie komt, dat inderdaad het normale maagsap een direct werkzamen factor bevat en het niet noodzakelijk is te onderstellen, dat een werkzaam principe eerst gevormd wordt uit de inwerking van een extrinsic en intrinsic factor.

Volgens Greenspon werkt pepsine antagonistisch ten opzichte van den antipernicieuzen maagfactor en wel op grond van de volgende proeven:

1. Wanneer ventriculin, een praeparaat gelijk aan het hier te lande gebruikte ventraemon, geïncubeerd wordt met pepsine en zoutzuur verliest het zijn werking.

2. Versche maagmucosa, waaruit pepsine werd verwijderd door acetonbehandeling bij het iso-electrische punt, was werkzaam; hetzelfde was het geval, wanneer deze maagmucosa werd geïncubeerd. Werd echter aan dit praeparaat, alvorens te incuberen, pepsine toegevoegd, dan ging de werkzaamheid verloren.

3. Terwijl normaal maagsap bij orale toediening tegen de pernicieuze anaemie niet werkzaam is, blijkt dit wel het geval te zijn, indien het zoodanig wordt opgevangen, dat pepsine-werking zooveel mogelijk wordt uitgeschakeld. Hiertoe werd, alvorens tot uithevelen werd overgegaan, 4 gram calciumcarbonaat per os gegeven teneinde het maagsap zooveel mogelijk te neutraliseeren; vervolgens werd het maagsap in een bekerglas met ijs opgevangen en hierna aan den proefpersoon toegediend. Uit de bovengenoemde proeven zou mogen volgen, dat de pepsine den intrinsic factor onwerkzaam maakt. Het therapeutisch effect van biefstuk, geïncubeerd met normaal maagsap,

zou nu zóó verklaard moeten worden, dat de pepsine op de biefstuk inwerkende den intrinsic factor in werkzamen toestand doet blijven; de toegevoegde biefstuk zou dus als het ware den intrinsic factor tegen de inwerking van de pepsine beschermen, dank zij de grootere affiniteit van de pepsine tot proteïnehoudend materiaal. De positieve uitkomsten der proeven met lever en normaal maagsap kunnen op gelijke wijze verklaard worden; zij pleiten echter, evenals die met het verhitte ultrafiltraat, noch vóór, noch tegen de opvatting van Green spon. In hoeverre de resultaten van dezen schrijver juist zijn, zal moeten worden afgewacht; het aantal door hem verrichte proeven is nog zeer gering, terwijl niet in alle proeven de verkregen uitkomsten volkomen overtuigend zijn. De werking van het maagsap werd b.v. alleen beoordeeld naar het ontstaan van een reticulocyten-vermeerdering, terwijl van een toename van haemoglobine en erythrocyten niets vermeld wordt.

Niettegenstaande deze bezwaren, is het toch zeer wel mogelijk, dat deze onderzoekingen een verklaring kunnen geven voor verscheidene bijzonderheden, waarvoor de theorie van Castle ons geen voldoende opheldering verschaft.

Wij zagen reeds in hoofdstuk III dat o.a. de werkzaamheid der maagpraeparaten in de beschouwingen van Castle geen verklaring vinden. Zoo wordt b.v. het therapeutisch effect van maagmucosa op verschillende wijze verklaard; deze werking wordt door sommigen toegeschreven aan het voorkomen van andere stoffen in de maagmucosa, die als extrinsic factor zouden fungeeren.

Ook al zou men deze verklaring voor de positieve resultaten kunnen doen gelden, hetgeen zeer de vraag is (zie blz. 36), dan is het nog niet duidelijk waarom andere schrijvers geen effect van deze praeparaten zagen.

Green spon schrijft dit verschil toe aan de wijze waarop de mucosa-paeparaten vervaardigd worden; alleen die praeparaten, welke, na uit het lichaam genomen te zijn, snel en bij lage temperatuur verwerkt worden en waarbij dus de pepsine en wellicht ook andere stoffen, geen gelegenheid hebben de maagfactor onwerkzaam te maken, laten volgens hem een therapeutisch effect zien.

Zoo vond Castle (26) aanvankelijk, dat maagmucosa met biefstuk geïncubeerd, niet werkzaam was; later werd echter wél een duidelijk resultaat verkregen (29). Nu blijkt, dat bij deze laatste proeven de mucosa versch uit de maag werd gehaald en op 0° werd bewaard

totdat zij verder bewerkt werd, terwijl in de eerste experimenten de mucosa met HCl geautolyseerd werd alvorens zij met de biefstuk samen werd gebracht. Door deze bewerking echter, zou de intrinsic factor, volgens de opvattingen van Greenspon, vernietigd worden.

Ook Wilkinson (294) vond reeds, dat de werking van maagpraeparaten door autolyse, vooral in tegenwoordigheid van vrij HCl of door digestie met pepsine en HCl, verloren ging.

Volgens Greenspon is dus in de maag en het maagsap een direct werkende stof aanwezig, welke echter vrij gemakkelijk onder invloed van fermenten (en mogelijk nog andere factoren?) onwerkzaam wordt. Ook andere schrijvers kwamen reeds eerder tot de conclusie, dat het actieve maagbestanddeel een direct werkzame stof is en dat het niet noodzakelijk is de vorming hiervan als een product van extrinsic en intrinsic factor aan te nemen. Henning en Stieger 122; Morris 195; Bence 12).

Hun meening werd echter niet of nauwelijks gesteund door overtuigende proeven. Voor deze opvatting pleit de waarneming van Kühnau (153); deze schrijver zag bij twee patiënten met pernicieuze anaemie een opmerkelijke verbetering na toediening van duodenumsap optreden.

Baràth en Fülöp (5) konden een algeheele genezing bereiken met maagsap van een patiënt, lijdende aan polycythaemie.

Vóór de uitheveling van het maagsap werd 300 gram rundvleesch toegediend; hier zou men dus de werking van het maagsap nog kunnen verklaren door aan te nemen, dat zich antipernicieus principe uit extrinsic en intrinsic factor gevormd heeft, al ligt de verklaring van Greenspon meer voor de hand.

Hetzelfde kan gezegd worden van het haemopoiëtine van Wilkinson en de door hem bereide maagextracten.

Mochten de onderzoeken van Greenspon bevestigd worden, dan heeft het weinig zin meer van een extrinsic factor te spreken. In hoeverre de in het normale maagsap aanwezige factor een direct genezende werking heeft, zal zeker in de naaste toekomst blijken.

SAMENVATTING.

Na een kort literatuuroverzicht betreffende de levertherapie werden de veranderingen besproken, welke bij den lijder aan pernicieuze anaemie na toediening van lever kunnen worden waargenomen.

Bij meerdere patiënten werd in aansluiting aan de behandeling met lever een sterke daling van het bilirubinegehalte van het bloedserum vastgesteld; tenslotte kan na eenige weken behandeling het bilirubine niet meer in het serum aan te toonen zijn.

In den laatsten tijd werden van verschillende zijden nadeelige reacties na de inspuiting van leverpraeparaten beschreven. Dergelijke bijwerkingen zijn echter uitermate zeldzaam vooral wanneer men bedenkt hoe veelvuldig de levertherapie wordt toegepast.

In de Utrechtsche kliniek zagen wij voor eenige jaren slechts één maal een nadeelige reactie na parenterale toediening van een leverextract.

Vervolgens werd de theorie van Castle besproken. Wanneer men de literatuur nagaat, dan blijken de proeven, waarop deze theorie gegrond is, slechts fragmentarisch te zijn nagewerkt. Door de meeste schrijvers worden slechts één of enkele proeven vermeld, waarvan de uitkomsten lang niet eensluidend zijn. Voor een groot deel moet dit worden toegeschreven aan de vele technische moeilijkheden, welke een uitvoering dezer experimenten in den weg staan.

De zoeven genoemde tegenstrijdige resultaten kunnen veelal op meer of minder ongedwongen wijze verklaard worden, zonder dat hierom de theorie van Castle behoeft te worden verworpen.

In andere gevallen, o.a. ter verklaring van het negatief uitvallen der Castle proef bij patiënten met achylie zonder pernicieuze anaemie, is men echter genoodzaakt hulp-hypothesen aan te voeren.

Hetzelfde moet gezegd worden over de werking van maagpraeparaten, terwijl het evenmin duidelijk is waarom het bij den vegetarisch levenden mensch niet tot de ontwikkeling van een pernicieuze anaemie komt.

Ondanks deze leemten worden de opvattingen van Castle vrij algemeen aanvaard, vooral ook omdat zij voor verschillende vormen van syptomatische pernicieuze anaemie een verklaring geven.

In hoofdstuk IV werden verschillende afwijkingen nagegaan, waarbij zich pernicieuze anaemie kan ontwikkelen. Niet steeds behoeft bij deze toestanden het gebrek aan werkzaam leverbestanddeel op gelijke wijze te ontstaan. Men kan zich het optreden van een dergelijk te kort schematisch en in overeenstemming met de theorie van Castle op minstens 5 wijzen voorstellen.

Het valt echter te betwijfelen of al deze mogelijkheden in werkelijkheid tot het ontstaan eener pernicieuze anaemie aanleiding geven. Zoo wordt voor de bij de ideopatische steatorrhoe voorkomende pernicieuze anaemie, door velen de verklaring gezocht in een gestoorde resorbtie van haemopoietisch werkzame bestanddeelen.

Het komt mij voor, dat alleen dan met eenige zekerheid van een resorbtiestoornis van werkzame bestanddeelen gesproken mag worden, indien de intrinsic factor in het maagsap kan worden aangetoond. Een dergelijke proef werd door Castle verricht bij een patiënt met spruw.

Zelf waren wij in de gelegenheid het maagsap van een patiënt met „coeliac disease” te onderzoeken. In beide gevallen bleek de intrinsic factor afwezig te zijn en mag het waarschijnlijk geacht worden, dat de functie-stoornis van den dunnen darm niet alleen tot de darm beperkt was, doch zich ook tot de maag had uitgebreid.

De waarneming van Barnett, die wel intrinsic factor in het maagsap vond, is van weinig waarde, daar de proefpersoon slechts gedurende twee dagen het maagsap van den spruwpatiënt toegediend kreeg; hierna werd maagsap (vrij zoutzuur bevattend!) van een patiënt met pernicieuze anaemie gegeven. De hierop volgende reactie mag dus niet zonder meer worden toegeschreven aan den intrinsic factor in het maagsap van den spruwlijder.

De anaemie van pernicious type, die in sommige gevallen van ideopatische steatorrhoe wordt gevonden, moet dus, gelijk de zoeven vermelde proeven aantonen, aan een stoornis in de vorming van den intrinsic factor worden toegeschreven. De mogelijkheid van een verminderde resorbtie van werkzame producten, ofschoon theoretisch niet te verwerpen, werd nog niet door eenige proef waarschijnlijk gemaakt. In den regel zal de intrinsic factor in het maagsap van den spruwlijder wel aanwezig zijn, doch het bloedbeeld lijkt dan ook niet veel op dat der pernicieuze anaemie. Hoogstens wordt een macrocytose of een iets verhoogde kleurindex gevonden.

Bij een dergelijken patiënt bleek de vorming van den intrinsic

factor waarschijnlijk ongestoord te zijn; het maagsap werd onderzocht met behulp van de methode van Reimann.

Voor het aantoonen van den intrinsic factor, zijn behalve de oorspronkelijke Castle proef, twee andere methodes aangegeven.

Singer spuit het te onderzoeken maagsap subcutaan bij een rat in. Wordt nu een reticulocytose waargenomen, dan zou dit volgens hem wijzen op de aanwezigheid van intrinsic factor in het maagsap. Deze reticulocytose bleek evenwel geen geschikte test op den intrinsic factor te zijn. Ook zoutzuur-pepsineoplossingen kunnen een gelijke reticulocytose te voorschijn roepen, terwijl na neutraliseeren van normaal maagsap de vermeerdering der reticulocyten kan uitblijven.

Bovendien vonden Fleischhacker en Schlesinger, dat ook met het maagsap van patiënten met pernicieuze anaemie herhaaldelijk een positieve reactie kon worden verkregen, terwijl omgekeerd het maagsap van een patiënt met polycythaemie geen effect had.

In de proef van Reimann wordt de biefstuk vervangen door kleine hoeveelheden lever (10—30 gram), welke opzichzelf onwerkzaam zijn. Terwijl nu normaal maagsap in staat is de leverwerking te versterken, is dit niet het geval met het maagsap van lijdens aan pernicieuze anaemie; voorts wordt de potentieerende werking van normaal maagsap vernietigd door het maagsap te verhitten. Op grond van deze gegevens meenen Reimann en medewerkers, dat de factor in het maagsap, welke de leverwerking versterkt, gelijk is aan den door Castle beschreven intrinsic factor.

Een aantal proeven werden genomen, teneinde de bruikbaarheid dezer methode te controleeren. Van het mengsel van lever en maagsap van een patiënt met pernicieuze anaemie werd geen werking gezien. Evenmin was dit het geval met dat van lever en zoutzuur-pepsineoplossingen, waarvan de reactie bij vier patiënten werd nagegaan.

Het product van normaal maagsap en lever gaf bij 4 patiënten een duidelijke verbetering, terwijl bij één patiënt geen reactie kon worden waargenomen.

Deze laatste patiënt kreeg echter tijdens deze periode een pneumonie; het is bekend, dat deze ziekte evenals andere infecties de therapeutische werkzaamheid der leverpraeparaten in sterke mate in ongunstigen zin kunnen beïnvloeden, zoodat hierin wellicht een reden kan worden gevonden voor het niet reageeren van dezen patiënt.

Het maagsap van een patiënt met Indische spruw gaf, na met lever te zijn verwerkt een zeer goede werking te zien.

Uit deze proeven bleek, dat 20 gram lever geen aantoonbare werking heeft, terwijl 20 gram lever met normaal maagsap geïncubeerd, in staat is de leverwerking te potentieeren.

Deze potentieerende factor in normaal maagsap is niet identiek met zoutzuur-pepsine.

Volgens Reimann zou de factor, welke de leverwerking versterkt door verhitting vernietigd worden.

Normaal maagsap werd gedurende een half uur op 60° verhit en vervolgens met lever geïncubeerd; bij één patiënt werd geenerlei werking waargenomen, de tweede patiënt vertoonde een verbetering.

Dat in dit laatste geval de werking moest worden toegeschreven aan de dagelijksche toediening van 20 gram lever, is nauwelijks aan te nemen, daar bij geen enkele der proeven met 20 gram lever zonder toevoeging van normaal maagsap een werking werd gezien.

Teneinde de thermostabiliteit van den maagfactor na te gaan werd uit het maagsap pepsine en leb verwijderd, waarna ultrafiltratie werd toegepast. Het ultrafiltraat werd gedurende een half uur op $80-90^{\circ}$ verhit en vervolgens geïncubeerd met 20 gram lever. Aan vier patiënten werd het product van verhit ultrafiltraat en lever gedurende 14 dagen gegeven. Eén patiënt reageerde niet; daarentegen werd bij drie patiënten een duidelijke verbetering waargenomen. Uit deze proeven volgt, dat de factor, die de leverwerking versterkt en die in normaal maagsap aanwezig is, tegen een verhitting van minstens 80° bestand is, indien te voren pepsine, leb en eitwitstoffen verwijderd worden.

ZUSAMMENFASSUNG.

Nach einer kurzen Übersicht über das Schrifttum der Lebertherapie wurden einige Veränderungen, die bei Patienten mit perniziöser Anämie nach Verabreichung von Leber auftreten können, besprochen.

Bei einigen Patienten wurde als Folge der Leberbehandlung ein Absinken des Bilirubingehaltes im Blutserum beobachtet.

Nach wochenlanger Behandlung ist schliesslich der Nachweis von Bilirubin im Serum nicht mehr möglich.

In der jüngsten Zeit wurden von verschiedenen Seiten nachteilige Reaktionen nach Einspritzung von Leberpräparaten beschrieben. Solche Nebenwirkungen sind jedoch äusserst selten, wenn man vor allem bedenkt, wie vielfach die Lebertherapie angewendet wird.

In der hiesigen Klinik sahen wir nur einmal vor einigen Jahren eine nachteilige Reaktion nach parenteraler Darreichung von Leberextrakt. Weiterhin wurde die *Castle'sche* Theorie besprochen. Wenn man das Schrifttum verfolgt, so sieht man, dass die Untersuchungen, auf die sich diese Theorie stützt, in nur sehr spärlichem Masse nachgeprüft wurden. Von den meisten Autoren werden nur einige Untersuchungen mitgeteilt, deren Resultate bei weitem nicht gleichlautend sind. Zum grossen Teile muss man diese Ergebnisse den Schwierigkeiten zuschreiben, denen man bei der Ausführung der Experimente begegnet.

Für die soeben erwähnten, einander widersprechenden Resultate kann man meistens auf verschiedene Weise eine Erklärung finden, ohne dass man die *Castle'sche* Theorie verwerfen muss.

Will man in anderen Fällen, z. B. bei Patienten mit Achylie ohne perniziöse Anämie, das negative Resultat bei der *Castle*-Probe zu erklären versuchen, so ist man genötigt, Hülfsypothesen heranzuziehen.

Gleichen Schwierigkeiten begegnet man, wenn man versucht, die Wirkungsweise von Magenpräparaten zu erklären.

Trotz dieser Lücken werden die Auffassungen *Castle's* ziemlich allgemein als richtig angenommen; vor allem, weil sie für verschie-

dene Formen symptomatischer perniziöser Anämie eine Erklärung zulassen.

In Abschnitt IV wurden Abweichungen besprochen, bei denen sich eine perniziöse Anämie entwickeln kann.

Bei diesen Zuständen braucht der Leberstoffmangel nicht immer auf dieselbe Ursache zurückzugehen.

Man kann den Leberstoffmangel in Übereinstimmung mit der Theorie *Castle's* auf 5 verschiedene Weisen schematisch erklären.

Es ist jedoch sehr zweifelhaft, ob diese Möglichkeiten wirklich alle zu einer perniziösen Anämie führen. So wird z.B. bei der idiopathischen Steatorrhoe begleitenden perniziösen Anämie die Erklärung gegeben, dass sie durch gestörte Resorption der haemopoietisch wirksamen Stoffe entstanden sein soll.

Es erscheint mir richtig, nur dann von einer Resorptionsstörung zu sprechen, wenn man den „intrinsic factor“ im Magensaft nachweisen kann. Eine solche Untersuchung führte *Castle* bei einem Patienten mit Sprue durch.

Wir hatten selbst Gelegenheit, den Magensaft eines Patienten mit „coeliac disease“ zu untersuchen. Bei beiden Fällen war kein „intrinsic factor“ im Magensaft nachzuweisen und es ist sehr wahrscheinlich, dass sich die Funktionsstörung nicht nur auf den Darm, sondern auch auf den Magen erstreckt.

Die Beobachtung *Barnetts*, welcher „intrinsic factor“ im Magensaft eines Sprue-Patienten nachgewiesen zu haben glaubte, ist wertlos, da *Barnett* seiner Versuchsperson nur während zweier Tage Magensaft des Sprue-Patienten verabreichte; danach gab er derselben Versuchsperson Magensaft eines Patienten mit perniziöser Anämie (der Magensaft enthielt freie Salzsäure!). Die hier beschriebene positive Reaktion darf man daher nicht ohne weiteres dem „intrinsic factor“ im Magensaft des Sprue-Patienten zuschreiben.

Die perniziöse Anämie, die bei Fällen von idiopathischer Steatorrhoe gefunden wird, muss nach den eben erwähnten Untersuchungen als Folge einer Störung in der Bildung des „intrinsic factor“ aufgefasst werden. Die Möglichkeit verminderter Resorption des wirksamen Stoffes, die theoretisch nicht von der Hand zu weisen ist, wurde bisher durch praktische Untersuchungen noch nicht wahrscheinlich gemacht.

Im Allgemeinen wird der „intrinsic factor“ im Magensaft eines Patienten mit Sprue anwesend sein; dann ähnelt das Blutbild jedoch

auch nicht sehr dem der perniziösen Anämie. Höchstens wird man eine Makrozytose oder einen etwas erhöhten Färbeindex finden. Wir konnten feststellen, dass bei einem solchen Patienten die Bildung des „intrinsic factor“ wahrscheinlich nicht gestört war. Der Magensaft wurde nach der Methode *Reimann's* untersucht.

Zum Nachweis des „intrinsic factor“ wurden ausser der Methode Castles zwei weitere angegeben.

Singer spritzt den zu untersuchenden Magensaft einer Ratte subkutan ein. Positive Retikulozytose soll nach der Ansicht Singers auf die Anwesenheit des „intrinsic factors“ deuten.

Eigene Untersuchung ergab, dass die Retikulozytose nicht spezifisch ist, da z.B. auch eine HCl-Pepsin-Lösung dieselbe Reaktion gibt; neutralisierter Magensaft zeigt dahingegen in einigen Fällen keinen Effekt.

Fleischhacker und Schlesinger konnten ausserdem zeigen, dass ausser Salzsäure-Pepsin der Magensaft von Patienten mit perniziöser Anämie des öfteren positiv reagierte, während andererseits der Magensaft eines Patienten mit Polyzythämie unwirksam war.

Nach der Methode Reimanns werden kleine Mengen Leber (10—30 gr) mit dem zu untersuchenden Magensaft inkubiert.

Leber allein zeigt, in diesen Mengen verabreicht, keinen Effekt. Während nun normaler Magensaft die Fähigkeit besitzt, die Leberwirkung zu erhöhen, vermisst man diese Eigenschaft bei dem Magensaft von Patienten mit perniziöser Anämie. Weiterhin geht die potenzierende Wirkung von normalem Magensaft bei Erhitzen verloren. Auf Grund dieser Tatsachen vertritt Reimann die Ansicht, dass der Faktor im Magensaft, welcher die Leberwirkung erhöht, mit dem von Castle beschriebenen „intrinsic factor“ identisch ist.

Wir führten mehrere Untersuchungen, um die Brauchbarkeit dieser Methode beurteilen zu können, durch.

Leber mit Magensaft eines Patienten mit perniziöser Anämie war ohne Wirkung. Ebenso wenig konnten wir bei vier Patienten mit perniziöser Anämie eine Wirkung nach Verabreichung von Leber-Salzsäure-Pepsin-Lösung wahrnehmen. Dagegen war Leber, mit normalem Magensaft inkubiert, bei vier Patienten deutlich wirksam, während eine Person nicht reagierte. Dieser Patient bekam in der fraglichen Periode eine Pneumonie. Es ist zur Genüge bekannt, dass

Pneumonie und andere Infektionskrankheiten die Lebertherapie ungünstig beeinflussen können.

Aus diesen Untersuchungen folgt, dass 20 gr Leber pro die unwirksam, dagegen 20 gr Leber, mit normalem Magensaft verarbeitet, gut wirksam ist. Der verstärkende Faktor in normalem Magensaft ist nicht mit Salzsäure-Pepsin identisch.

Nach Reimann sollte der Faktor, der die Leberwirkung erhöht, bei Erhitzen zerstört werden.

Normaler Magensaft wurde eine halbe Stunde auf 60° erhitzt, und dann mit Leber inkubiert. Bei einem Patienten wurde keinerlei Wirkung wahrgenommen, während ein zweiter Patient reagierte.

Dass in dem letztgenannten Falle die positive Reaktion der täglichen Verabreichung von 20 gr Leber zugeschrieben werden muss, ist kaum anzunehmen, da bei keinem aller Patienten, die 20 gr Leber erhielten, eine Reaktion festzustellen war.

Um die Themostabilität des Magenfaktors zu untersuchen, wurde Magensaft von Pepsin und Labferment befreit und ultrafiltriert. Das Ultrafiltrat wurde während einer halben Stunde auf $80-90^{\circ}$ erhitzt und dann mit 20 gr Leber verarbeitet. Vier Patienten wurde erhitztes Ultrafiltrat mit Leber während der Dauer von 14 Tagen gegeben.

Ein Patient reagierte nicht. Dagegen wurde bei den anderen drei Patienten deutliche Besserung festgestellt.

Aus diesen Untersuchungen folgt, dass der Faktor im normalen Magensaft, welcher die Leberwirkung erhöht, durch Erhitzen auf eine Temperatur von $80-90^{\circ}$ nicht zerstört wird, wenn man zuvor PepsinLabferment und Eiweiss entfernt hat und ultrafiltrabel ist.

SUMMARY.

After a concise review of the literature concerning livertherapeutics, we next discussed the alterations of the pernicious anaemia patient due to the administration of liver.

In a number of patients treated with liver, a considerable lowering of the bilirubine standard of the bloodserum was observed. After a treatment of a few weeks bilirubine may be undetectable in the serum.

Recently certain disadvantages of injections with liver-preparations have been communicated; undesirable reactions are however very rare, as is realised, when one considers how frequently livertherapeutics are applied.

In the Utrecht medical clinic we only once observed an unfavourable reaction, owing to a parenthetic application of a liverextract.

After this we discussed Castle's theory. When examining the literature, we observe that the experiments, on which this theory is based, have been worked out incompletely. Most authors only mention one or two experiments, the results of which are by no means the same. To a large extent this is to be ascribed to the manifold technical difficulties, which have to be overcome.

Most of the contradictory results just mentioned, can be explained in a rather unstrained way, without rejecting Castle's theory.

In some cases however, one is compelled to introduce auxiliary hypotheses. This concerns the effect of stomach-preparations as well. No more is it clear, why in vegetarians pernicious anaemia never develops. In spite of its deficiencies, Castle's theory is generally accepted, especially because this theory explains several kinds of symptomatic pernicious anaemia.

In chapter IVth we surveyed several of the pathological conditions, in which a pernicious anaemia may develop. In these different conditions the lack of the active liver-element may be caused in various ways.

It is doubtful however, whether all these possibilities really cause

a pernicious anaemia. Many try to explain the pernicious anaemia connected with ideopathic steatorrhoe, as being caused by a disturbed resorbence of haemopoitic active parts.

It seems to me, that we are only allowed to speak of a disturbance of resorption of active parts, when it is certain, that the intrinsic factor is present in gastric-juice. A test of this kind has been made by Castle on a sprue patient.

We ourselves have been able to examine the gastric-juice of a patient with coeliac disease. In both these cases the intrinsic factor was missing and evidently the disturbance of the small intestine had been extended to the stomach.

The observations of Barnett, who indeed found the intrinsic factor in the gastric-juice, is of little value, because the subject experimented upon, had been given the gastric-juice of a sprue patient only for two days; after that a gastric-juice of a pernicious anaemia patient (containing muriatic acid) was administered and thus the reaction, which followed, is not merely to be ascribed to the intrinsic factor in the gastric-juice of the sprue patient.

The anaemia of pernicious type, which is found in some cases of ideopathic steatorrhoe, is to be ascribed to a disturbance in the formation of the intrinsic factor according to the experiments just mentioned. The theoretical possibility of a reduced resorbtion of active compounds, has not yet been proved experimentally. In the gastric-juice of the sprue patient the intrinsic factor generally will be present, but the type of blood is then not very much equal to one of pernicious anaemia. At most a macrocytosis or just a little higher colour-index will be found. In a patient of this kind, the formation of the intrinsic factor proved not to have been disturbed; the gastric-juice was in this case examined according to Reiman's method.

As to the detection of the intrinsic factor two more methods besides Castle's have been mentioned.

Singer injects the gastric-juice subcutaneously in a rat. If then a reticulocytose is observed this would indicate the existance of the intrinsic factor in the gastric-juice. This reticulocytose did not however prove to be an efficient test. Solutions of muriatic acid-pepsine bring about a similar reticulocytose; after the injection of a neutralized normal gastric-juice the increase of the reticulocytes may fail to occur.

Moreover Fleischhacker and Schlesinger discovered,

that a positive reaction is often obtained by the administration of gastric-juice of pernicious anaemia patients, whereas reversely the gastric-juice of a polycythaemia patient had no effect.

Reimann in his test replaces the beefsteak by small quantities of liver (10—30 gr) which are themselves ineffectual. Normal gastric juice will however potentialize the activity of the liver, while gastric-juice of pernicious anaemia patients does not.

Moreover the potentializing power of normal gastric-juice is destroyed by heating. By reason of these particulars Reimann and his co-workers suppose, that the potentializing factor in the gastric-juice is identical with as Castle's intrinsic factor.

A few experiments were made in order to verify the usefulness of this method. A mixture of liver and gastric-juice of a pernicious anaemia patient did not betray any effect; neither did liver incubated with solutions of muriatic-acid-pepsine (four patients). The reaction of normal gastric-juice and liver was traced in five patients; in four this brought about a distinct improvement, whereas one patient, who got a pneumonia during this period, did not react. It is well known, that this disease may just as other infections, have influence on the therapeutical action of the liver-preparations in the unfavourable sense and this possibly explains, why the patient did not react.

The gastric-juice of a sprue patient incubated with liver, manifested a very good action. These experiments proved, that 20 grams of liver have no noticeable activity, whereas 20 grams of liver incubated with normal gastric-juice are able to potentialize the activity of the liver. The potentiating factor in normal gastric-juice is not identical to muriatic-acid-pepsine.

According to Reimann the factor, which potentiates the liver activity, is destroyed by heating. We heated normal gastric-juice to 60 degrees during half an hour and then incubated it with liver; one patient did not respond to the treatment, while an other showed an improvement.

It is hardly acceptable in the latter case to ascribe the action to the daily administration of liver (20 grams), because none of the experiments with 20 grams of liver showed a reaction, unless normal gastric-juice had been added.

In order to trace the thermostability of the stomach-factor, pepsine and rennet were extracted; then ultrafiltration was performed. The ultrafiltration was then heated to 80—90 degrees during half an

hour and after that incubated with 20 grams of liver. Four patients took the product of heated ultrafiltrate and liver during a fortnight. One patient did not react, whereas three patients showed a considerable improvement. These experiments prove, that the potentiating factor of the liver-activity, which is found in normal gastric-juice, is able to resist a heating of a least 80 degrees, if pepsine rennet and albumen are extracted beforehand.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR.

1. Adlersberg en Gottsegen *Nauyn-Schmiedeberg Arch.* 1929, Bd. 142, p. 323.
2. Agren en Casperson *Brit. Journ. of Exp. Pathol.* 1936, Vol. 17, p. 88.
3. Alsted *Act. med. Scand.* 1934, Vol. 82, p. 289.
4. Aron en Bauer *Comptes Rendus d. Séances d. 1. Soc. d. Biol.* 1933,
5. Baràth en Fülöp *Klin. Wo.* 1935, No. 30, p. 1077.
Vol. 113, p. 1065.
6. Barnett *Am. Journ. Med. Sc.* 1931, Vol. 182, p. 170.
7. Barnett *Am. Journ. Med. Sc.* 1932, Vol. 184, p. 24.
8. Barnett en Thebaut *Journ. Am. Med. Assoc.* 1932, Vol. 99, p. 556.
9. Bartlett *Journ. Am. Med. Assoc.* 1913, Vol. 60, p. 176.
10. Beebe en Lewis *Am. Journ. Med. Sc.* 1931, Vol. 181, p. 796.
11. Beebe en Lewis *Arch. of int. Med.* 1933, No. 51, p. 630.
12. Bence *Zeitschr. f. Klin. Med.* 1934, Bd. 126, p. 127.
13. Bennett, Hunter en Vaughan *Quart. Journ. of Med.* 1932, N.S. Vol. 1, p. 603.
14. Berger *Med. Klin.* 1931, No. 5, p. 171.
15. Beutel *Röntgen-praxis* 1929, Vol. 1, p. 735.
16. Bondarenko en Dulcin *Fol. haem.* 1931, Bd. 45, p. 342.
17. Brandes *Med. Klin.* 1921, No. 7, p. 189.
18. Braun *Fol. haem.* 1934, Bd. 53, p. 27.
19. Breitenbach *Münch. Med. Wo.* 1929, No. 46, p. 1920.
20. Brugsch *Ther. d. Gegenw.* 1932, Vol. 73, p. 166.
21. Brugsch en Naegelsbach *Münch. Med. Wo.* 1934, No. 30, p. 1125.
22. Burgess en Morgan *Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med.* 1931, Vol. 28, p. 371.
23. Büttner *Klin. Wo.* 1932, No. 29, p. 1218.
24. Cahn en von Mehring *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.* 1886, Bd. 39, p. 233.
25. Campbell en Conybeare *Guy's Hosp. Rep.* 1922, Vol. 72, p. 184.
- *26. Castle en Locke *Journ. Clin. Investig.* 1928, Vol. 6, p. 2.
27. Castle *Am. Journ. Med. Sc.* 1929, Vol. 178, p. 748.
28. Castle en Townsend *Am. Journ. Med. Sc.* 1929, Vol. 178, p. 764.
29. Castle, Townsend en Heath, *Am. Journ. Med. Sc.* 1930, Vol. 180, p. 305.
30. Castle, Townsend en Heath *Lancet* 1930, I, p. 1062.
31. Castle, Heath en Strauss *Am. Journ. Med. Sc.* 1931, Vol. 182, p. 741.
32. Castle en Taylor *Journ. Am. Med. Assoc.* 1931, Vol. 96, p. 1198.
33. Castle, Heath, Strauss en Townsend *Journ. Am. Med. Assoc.* 1931, Vol. 97, p. 904.
- *34. Castle *Ann. of int. Med.* 1933, Vol. 7, p. 2 geciteerd door Ungley *Quart. Journ. of Med.* 1934, Vol. 27, N.S. Vol. 3, p. 523.
35. Castle en Strauss *Journ. Am. Med. Assoc.* 1935, Vol. 104, p. 798.

36. Castle, Rhoads, Lawson en Payne Arch. Int. Med. 1935, Vol. 56, p. 627.
37. Christoffersen (Acta. Med. Scand. 1934, Suppl. 59, p. 163.
38. Coggeshall Proc. Soc. f. Exp. Biol. a Med. 1929—1930, Vol. 27, p. 1044.
39. Cohn, Minot, Fulton, Ulrichs, Sargent, Wheare en Murphey Journ. of Biol. Chem. 1927, Vol. 74, Proc. p. 69.
40. Cohn, Minot, Alles en Salter Journ. of Biol. Chem. 1928, Vol. 77, p. 325.
41. Cohn, Mc. Meekin en Minot Am. Journ. of Physiol. 1929, Vol. 90, p. 316.
42. Cohn, Mc. Meekin en Minot Journ. of Biol. Chem. 1930, Vol. 87, p. 49.
43. Conner Journ. Am. Med. Assoc. 1930, Vol. 94, p. 388.
44. Conner Journ. Am. Med. Assoc. 1931, Vol. 96, p. 500.
- *45. Conner Proc. Mayo clinic 1932, Vol. 7, p. 213.
46. Conner Journ. Am. Med. Assoc. 1932, Vol. 99, p. 614.
- *47. Conner Ann. Intern. Med. 1933, Vol. 7, p. 89.
48. Connery Am. Journ. Med. Sc. 1930, Vol. 180, p. 603.
49. Connery en Joliffe Am. Journ. Med. Sc. 1931, Vol. 181, p. 830.
50. Czoniczer en Molnár Zeitsch. f. Exp. Med. 1930, Vol. 72, p. 539.
51. Dakin en West Journ. of Biol. Chem. 1935, Vol. 109, p. 489.
52. Dakin, West en Howe Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1930, Vol. 28, p. 2.
53. Davidson Brit. Med. Journ. 1928, II, p. 1123.
54. Davidson Lancet 1931, II, p. 1395.
55. Davidson Brit. Med. Journ. 1932, II, p. 347.
56. Davidson Lancet 1932, II, p. 919.
57. Decastello Med. Klin. 1935, No. 12, p. 377.
58. Deganello Arch. Italien. de Biol. 1900, Bd. 33, p. 118.
59. Dennig Münch. Med. Wo. 1929, No. 15, p. 633.
60. Diehl en Kühnau Deutsch. Arch. f. Klin. Med. 1933, Bd. 176, p. 149.
61. Duesberg en Koll Naunyn Schmiedeberg Arch. 1931, Bd. 162, p. 296.
62. Edmunds en Brückner, Journ. of Pharmac. a. Exp. Ther. 1932, Vol. 45, p. 258.
63. Elders Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1917, II, p. 1253; 1919, IV, p. 1683; 1920, IV, p. 2189.
64. Elders Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1922, IV, p. 2267.
65. Elders Lancet 1925, I, p. 75; Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1927, III, p. 341.
66. Engberding Monatschr. f. Kinderheilk. 1934, Bd. 59, p. 332.
67. Erdős Biochem. Zeitsch. 1935, Bd. 277, p. 337.
68. Erdős Biochem. Zeitschr. 1935, Bd. 277, p. 342.
69. Faber Berl. Klin. Wo. 1897, Bd. 34, p. 643.
70. Faber en Bloch Zeitschr. f. Klin. Med. 1900, Bd. 40, p. 98.
71. Faber en Gram Arch. Int. Med. 1924, Vol. 34, p. 658.
72. Fairley en Kilner Lancet 1931, II, p. 1335.
73. Fasiani en Chiatellino Presse Méd. 1934, No. 103, p. 2080.
74. Fenwick Lancet 1877, II, p. 1.
75. Fenyès Wien. Arch. f. Inn. Med. 1930, Bd. XX, p. 287.
- *76. Fleischer — Hansen Hospit. tid. 1932, Vol. 75, p. 855.
77. Fleischhacker en Schlesinger Med. Klin. 1935, No. 6, p. 183.
78. Fontès en Thivolle Le Sang 1930, Vol. 4, p. 658.
79. Fouts en Zerfas Journ. Am. Med. Assoc. 1933, Vol. 101, p. 188.

80. Fouts, Helmer en Zerfas *Am. Journ. Med. Sc.* 1934, Vol. 187, p. 37.
81. Fouts, Helmer en Zerfas *Ann. of Int. Med.* 1935, Vol. 8, p. 790.
82. Franke *Klin. Wo.* 1934, No. 4, p. 127.
83. Friedemann en Deicher *Deutsch. Med. Wo.* 1930, I, p. 512.
84. Friedländer en Steinitz *Deutsch. Med. Wo.* 1933, No. 4, p. 135.
85. Gänsslen *Klin. Wo.* 1930, No. 45, p. 2099.
86. Gänsslen *Deutsch. Med. Wo.* 1931, No. 36, p. 1926.
87. Gebhardt en Cario *Deutsch. Med. Wo.* 1932, No. 19, p. 726.
88. Glanvill en Hurst *Guy's Hosp. Rep.* 1930, Vol. 80, p. 411.
89. Goldhamer, Isaacs en Sturgis *Am. Journ. Med. Sc.* 1933, Vol. 186, p. 84.
90. Goldhamer, Isaacs en Sturgis *Am. Journ. Med. Sc.* 1934, Vol. 188, p. 193.
91. Goldstein *Wien. Klin. Wo.* 1935, No. 16, p. 496.
92. Goodall *Lancet* 1932, II, p. 781.
93. Goodman, Geiger en Claiborn, *Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med.* 1935, Vol. 32, p. 810.
94. Gordon — Sears *Lancet* 1933, I, p. 24.
95. Gottsegen *Wien. Klin. Wo.* 1934, No. 15, p. 462.
96. Goudsmit *Geneeskundige bladen* 1935, 32ste reeks, XI, p. 317.
97. Gram *Fol. haem.* 1930, Bd. 39, p. 461.
98. Greenspon *Journ. Am. Med. Assoc.* 1936, Vol. 106, p. 266.
99. Groen *Academisch Proefschrift Amsterdam* 1935.
100. Groen *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1935, No. 12, p. 1346.
101. Grün *Wien. Klin. Wo.* 1934, No. 24, p. 751.
102. Gutzeit, *Klin. Wo.* 1932, No. 9, p. 376.
103. Gutzeit en Herrmann *Münch. Med. Wo.* 1931, No. 7, p. 266.
104. György *Zeitschr. f. Kinderheilk.* 1934, Bd. 56, p. 1.
105. Haase *Monatschr. f. Kinderheilk.* 1934, Bd. 60, p. 241.
- *106. Haendel en Hagen geciteerd door Neumann *Klin. Wo.* 1930, No. 39, p. 1814.
107. Hammersten *Zeitschr. f. physiol. Chemie* 1908, Bd. 56, p. 118 en 1911, Bd. 74, p. 142.
108. Hansen, Stub en Forbech, *Acta. Med. Scand.* 1931, Vol. 76, p. 26.
109. Haring, *Fortschr. a. d. Geb. d. Röntgenstr.* 1932, Bd. 45, p. 521.
110. Hartfall en Witts, *Guy's Hosp. Rep.* 1933, Vol. 84, p. 24.
111. Hartmann, *Am. Journ. Med. Sc.* 1921, Vol. 162, p. 201.
112. Heath, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1928, Vol. 91, p. 928.
113. Heath, *Am. Journ. Med. Sc.* 1933, Vol. 185, p. 365.
114. Heath, *Fol. Haem.* 1934, Bd. 51, p. 391.
115. Heeres, *Ned. Tijdschrift v. Geneesk.* 1927, III, p. 899.
116. Heeres, *Ned. Tijdschrift v. Geneesk.* 1928, II, p. 2372.
117. Heimann, Connery en Goldwater, *Am. Journ. Med. Sc.* 1934, Vol. 188, p. 343.
118. Held en Goldboom, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1931, Vol. 96, p. 1361.
119. Helmer, Fouts en Zerfas, *Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med.* 1933, Vol. 30, p. 775.
120. Helmer, Fouts en Zerfas, *Am. Journ. Med. Sc.* 1934, Vol. 188, p. 184.
121. Henning, *Fol. Haem.* 1930, Bd. 42, p. 99.
122. Henning en Stieger, *Klin. Wo.* 1930, No. 46, p. 2145.
123. Henning en Brugsch *Deutsch. Med. Wo.* 1931, No. 18, p. 757.

124. Hess-Thaysen, Non Tropical Sprue London 1932.
125. Hirschberg, Handbuch der Augenheilkunde Graefe-Saemisch.
126. Hitzemberger, Wien. Klin. Wo. 1931, No. 18, p. 591.
127. Hitzemberger, Klin. Wo. 1934, No. 38, p. 1345.
128. Hochrein, Münch. Med. Wo. 1929, No. 32, p. 1327.
129. Holst-Larsen, Acta Med. Scand. 1934, Vol. 83, p. 111.
130. Hoogenboom, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1927, IV, p. 2470.
131. Hurst, Lancet 1923, I, p. 111; Brit. Med. Journ. 1924, I, p. 93; Brain 1925, Bd. 48, p. 218 en Hurst en Bell Brain 1922, Bd. 45, p. 266.
132. Hurst, Guy's Hosp. Rep. 1926, Vol. 76, p. 287.
133. Hurst, Guy's Hosp. Rep. 1930, Vol. 80, p. 407.
134. Hurst, Quart. Journ. of Med. 1932, Vol. 25, N.S. Vol. 1, p. 157.
135. Hurst, Guy's Hosp. Rep. 1933, Vol. 83, p. 47.
136. Huth, Wien Klin. Wo. 1929, No. 22, p. 739.
137. Hymans van den Bergh, Aanwinsten op Diagnostisch en Therapeutisch Gebied, zesde Bundel, p. 92.
138. Hymans van den Bergh en Snapper, Berl. Klin. Wo. 1915, No. 42, p. 1081.
139. Hymans van den Bergh en Kamerling, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1934, No. 39, p. 4432; Ann. de Med. 1935, Bd. 38, p. 309.
140. Hymans van den Bergh, Voordracht gehouden te Spa. Le Scalpel 1935.
141. Isaacs, Sturgis, Goldhamer en Bethell, Journ. Am. Med. Assoc. 1933, Vol. 100, p. 629.
142. Isaacs en Goldhamer, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1934, Vol. 31, p. 706.
143. Ivy, Morgan en Farrell, Surg. Gyn. a. Obst. 1931, Vol. 53, p. 611.
144. Ivy, Richter en Kim, Am. Journ. Physiol. 1932, Vol. 101, Proc. p. 59.
145. Jacobson, Journ. of Clin. Investigation 1935, Vol. 14, p. 665.
146. Jastrowitz en Neidhard, Zeitschr. f. Exp. Med. 1931, Bd. 75, p. 526.
147. Kamerling, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1935, II, p. 3404.
148. Kamerling, Wien. Klin. Wo. 1935, No. 37, p. 1140.
149. Kessler, Wien. Klin. Wo. 1930, No. 25, p. 781.
150. Klein en Wilkinson, Biochem. Journ. 1933, Vol. 27, p. 600.
151. Klinkert, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1935, IV, p. 5751.
152. Kloster, Acta. Med. Scand. 1933, Vol. 79, p. 475.
153. Kühnau, Münch. Med. Wo. 1933, No. 45, p. 1772.
154. Kuipers, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1935, II, p. 2771.
155. Lambin en Steenhoudt, Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hop. de Paris 1930, p. 986.
156. de Langen, Feestbundel geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië 1936, p. 427.
157. de Langen, Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië 1936.
158. Laqueur en Münch, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1928, II, p. 1664.
159. Lasch, Med. Klin. 1935, No. 31, p. 1623.
160. Larsen, Acta. Med. Scand. 1934, Vol. 82, p. 588.
161. Lassen en Lassen, Am. Journ. Med. Sc. 1934, Vol. 188, p. 461.
162. Lauda, Klin. Wo. 1925, No. 33, p. 1587.
163. van Leeuwen, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1931, No. 35, p. 4425.
164. Leiner, Wien Klin. Wo. 1935, No. 18, p. 559.
165. Levine en Ladd, Bull. John's Hopk. Hosp. Rep. 1921, Vol. 32, p. 254.
166. Lindbom, Acta. Med. Scand. 1923, Suppl. VII, p. 339.
167. Little, Zerfas en Trusler, Journ. Am. Med. Assoc. 1929, Vol. 93, p. 1290.

168. Lobenhoffer, Münch. Med. Wo. 1934, No. 7, p. 241.
169. Lottrup en Roholm, Acta Med. Scand. 1933, Vol. 80, p. 243.
170. Lublin, Acta Med. Scand. 1931, Suppl. No. 41, p. 56.
171. Mach, Le Sang 1931, Vol. 5, p. 299.
172. Mayer, Arch. f. Schiff. u. Tropenhyg. 1921, Bd. 25, p. 150.
173. Mayer, Borchardt en Kikuth, Klin. Wo. 1926, No. 13, p. 559.
174. Mc. Cann, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1928, Vol. 25, p. 255.
175. Mc. Gowan, Arch. Int. Med. 1932, Vol. 49, p. 26.
- *176. Mc. Peack en Neighbor, Southern Med. Journ. 1927, Vol. 20, p. 926.
177. van der Merwe, Acad. Proefschr. Utrecht 1935.
178. Meulengracht, Acta Med. Scand. 1922, Vol. 56, p. 432.
179. Meulengracht, Acta Med. Scand. 1929, Vol. 72, p. 231.
180. Meulengracht, Am. Journ. Med. Sc. 1925, Vol. 169, p. 177.
181. Meulengracht en Hecht Johansen, Klin. Wo. 1930, No. 25, p. 1162.
182. Meulengracht, Acta Med. Scand. 1934, Vol. 82, p. 352.
183. Meulengracht en Søeborg-Ohlsen, Acta Med. Scand. 1934, Vol. 82, p. 384.
184. Meulengracht, Acta Med. Scand. 1935, Vol. 85, p. 50.
185. Meulengracht, Acta Med. Scand. 1935, Vol. 85, p. 79.
186. Meyer, Richter en Legere, Arch. Int. Med. 1934, Vol. 54, p. 281.
187. Middleton en Stiehm, Am. Journ. Med. Sc. 1930, Vol. 180, p. 809.
188. Minot en Murphy, Journ. Am. Med. Ass. 1926, Vol. 87, p. 470.
189. Minot en Murphy, Journ. Am. Med. Ass. 1927, Vol. 89, p. 759.
190. Minot, Murphy en Stetson, Am. Journ. Med. Sc. 1928, Vol. 175, p. 581.
191. Minot, Cohn, Murphy en Lawson, Am. Journ. Med. Sc. 1928, Vol. 175, p. 599.
192. Minot, Journ. Am. Med. Assoc. 1932, Vol. 99, p. 1906.
193. Minot en Castle, Lancet 1935 II, p. 319.
194. Morawitz, Arch. f. Verdauungs krh. 1930, Bd. 47, p. 305.
195. Morris, Schiff, Burger en Sherman, Journ. Am. Med. Assoc. 1932, Vol. 98, p. 1080; Am. Journ. Med. Sc. 1932, Vol. 184, p. 778.
Morris, Schiff, Foulger, Rich en Sherman, Münch. Med. Wo. 1932, No. 52, p. 2074.
196. Morris, Journ. Am. Med. Assoc. 1933, Vol. 101, p. 200.
197. Moynihan, Lancet 1911, II, p. 430.
198. Murphy, Am. Journ. Med. Sc. 1933, Vol. 186, p. 361; Journ. Am. Med. Assoc. 1932, Vol. 98, p. 1051.
199. Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik.
200. Neuman, Klin. Wo. 1929, No. 22, p. 1017; Klin. Wo. 1930, No. 39 p. 1814.
201. Nolen Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1918, IV, p. 1515.
202. Oerting en Briggs, Journ. Am. Med. Assoc. 1935, Vol. 104, p. 250.
203. Oliver en Wilkinson, Quart. Journ. of Med. 1933, Vol. 26, N.S. Vol. 2, p. 431.
204. Pal, Wien. Klin. Wo. 1928, No. 34, p. 1216; Deutsch. Med. Wo. 1928, No. 37, p. 1544; 1931, No. 15, p. 622.
205. Paschkis en Taylor, Klin. Wo. 1934, No. 43, p. 1538.
206. Patek, Journ. Am. Med. Assoc. 1911, Vol. 56, p. 1315.
207. Perrin, Arch. générales de Medicine 1908, Bd. 199, p. 435.
208. Petri, Søeborg—Ohlsen en Bøggild Acta Med. Scand. 1935,

- Vol. 87, p. 14; *Folia Haemat.* 1936, Bd. 54, p. 150.
209. Planteydt, *Tijdschr. v. Geneesk.* 1935, III, p. 4153.
210. Rauschenberger, *Klin. Wo.* 1935, No. 49, p. 1758.
211. Reimann, *Med. Klin.* 1931, No. 24, p. 880.
212. Reimann en Fritsch, *Zeitschr. f. Klin. Med.* 1934, Bd. 126, p. 469.
213. Reimann en Weil, *Zeitschr. f. Klin. Med.* 1934, Bd. 126, p. 568.
214. Reiter, *Deutsch. Med. Wo.* 1931, No. 39, p. 1660.
- *215. Richter *Ann. of Int. Med.* 1933, Vol. 7, p. 351.
216. Richter, Ivy en Kim, *Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med.* 1933, Vol. 31, p. 360.
217. Richter, Meyer en Ivy, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1932, Vol. 98, p. 1623.
218. Robscheit-Robbins en Whipple, *Am. Journ. of Physiol.* 1927, Vol. 79, p. 271.
219. Roovers, *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1935, II, p. 2771.
220. Rominger, Meyer en Bomskov, *Zeitschr. f. Exp. Med.* 1933, Bd. 89, p. 786, p. 804, p. 809, p. 818.
221. Rominger en Bomskov, *Klin. Wo.* 1935, No. 5, p. 148.
222. Ruzsnyák en v. Engel, *Deutsch. Med. Wo.* 1933, No. 4, p. 135.
223. v. d. Scheer, *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1924, III, p. 1468.
224. Scheidel, *Med. Klin.* 1930, No. 7, p. 247.
225. Schemensky, *Deutsch. Med. Wo.* 1935, No. 24, p. 961; *Zeitschr. f. Klin. Med.* 1935, Bd. 128, p. 428.
226. Schlesinger, *Klin. Wo.* 1933, No. 8, p. 298.
227. Schumm, *Münch. Med. Wo.* 1912, No. 53, p. 2933.
228. Seyderhelm, Lehmann en Wichels, *Klin. Wo.* 1924, No. 32, p. 1439.
229. Seyderhelm en Opitz, *Klin. Wo.* 1928, No. 5, p. 205.
230. Sharp, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1929, Vol. 93, p. 749.
- *231. Sharp, Mc. Kean en v. d. Heide, *Ann. of Int. Med.* 1931, Vol. 4, p. 1282.
232. Shaw, *Guy's Hosp. Rep.* 1926, Vol. 76, p. 294.
233. Silberstein en Hauswirth, *Schweiz. Med. Wo.* 1931, No. 37, p. 885.
234. Simpson, *Guy's Hosp. Rep.* 1931, Vol. 81, p. 392.
235. Singer, *Wien. Klin. Wo.* 1932, No. 35, p. 1063.
236. Singer, *Klin. Wo.* 1932, No. 35, p. 1459.
237. Singer, *Wien. Klin. Wo.* 1934, No. 21, p. 669.
238. Singer, *Ergebn. der Inn. Med. u. Kinderheilk.* 1934, Bd. 47, p. 421.
239. Singer, *Klin. Wo.* 1935, No. 6, p. 200.
240. Singer, *Klin. Wo.* 1935, No. 21, p. 751.
241. Singer, *Wien. Klin. Wo.* 1936, No. 7, p. 222.
242. Snapper en Dupreez, *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1931, I, p. 29.
243. Spence, *Lancet*, 1927, II, p. 1026.
244. Strandell, *Acta Med. Scand.* 1935, Suppl. 71.
245. Strauss, Taylor en Castle, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1931, Vol. 97, p. 313.
246. Strauss en Castle, *Lancet*, 1932, II, p. 111.
247. Strauss en Castle, *Am. Journ. Med. Sc.* 1932, Vol. 184, p. 663; 1933, Vol. 185, p. 539.
248. Strauss en Castle, *Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med.* 1933, Vol. 31, p. 360.
249. Strisower, *Wien. Med. Wo.* 1928, No. 43, p. 1371.
250. Sturgis en Isaacs, *Journ. Am. Med. Assoc.* 1929, Vol. 93, p. 747.

251. Sturgis en Isaacs, Journ. Am. Med. Assoc. 1930, Vol. 95, p. 585.
252. Sturgis en Isaacs, Am. Journ. Med. Sc. 1930, Vol. 180, p. 597.
253. Stursberg, Deutsch. Med. Wo. 1931, No. 42, p. 1780.
- *254. Susanna, Revue de Pharmacol. 1931, Vol. 2, p. 113.
255. Tallquist, Acta Med. Scand. 1923, suppl. VII, p. 339.
256. Tempka en Braun, Fol. Haem. 1932, Bd. 48, p. 355.
257. Tochowicz, Fol. Haem. 1934, Bd. 53, p. 16.
258. Tuchfeld, Med. Klin. 1931, No. 4, p. 130.
- *259. Ungley, New Castle, Med. Journ. 1929, Vol. 10, p. 14.
260. Ungley, Lancet 1931, II, p. 63.
261. Ungley, Quart. Journ. of Med. 1933, Vol. 24, N.S. Vol. 2, p. 381.
262. Ungley en James, Quart. Journ. of Med. 1934, Vol. 27, N.S. Vol. 3, p. 523.
263. Ungley, Proc. Roy. Soc. Med. 1935, Vol. 28, p. 869.
264. Ungley en Davidson, Lancet 1936, I, p. 349.
265. Váradi, Le Sang 1934, No. 1, p. 39.
266. Vaughan, Muller en Zetzel, Brit. Journ. of Exp. Pathol. 1930, Vol. 11, p. 456.
267. Vaughan, Lancet, 1932, II, p. 1264.
268. Vedder, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1928, III, p. 4411.
269. Vedder, Academisch Proefschrift, Amsterdam 1929.
270. Vlados, Bagdasarov, Dulcin en Bondarenko, Acta Med. Scand. 1936, Vol. 88, p. 293.
271. Wakerlin, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1935, Vol. 32, p. 1607.
272. Walden en Clowes, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1932, Vol. 29, p. 873.
273. Walter, Med. Klin. 1911, No. 19, p. 728.
274. Waterfield, Guy's Hosp. Rep. 1923, Vol. 73, p. 208.
275. Weil en Boic, Presse Méd. 1932, No. 43, p. 860.
276. Weinberg, Deutsch. Arch. f. Klin. Med. 1918, Bd. 126, p. 447.
277. West, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a. Med. 1927, Vol. 24, p. 665.
278. West en Nichols, Journ. Am. Med. Assoc. 1928, Vol. 91, p. 867.
279. West en Howe, Journ. of Biol. Chem. 1930, Vol. 88, p. 427.
280. West en Howe, Journ. of Biol. Chem. 1932, Vol. 94, p. 611.
281. Wester, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1922, IV, p. 1907.
282. Westra, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1934, II, p. 2379.
283. Whipple, Hooper en Robscheit, Am. Journ. of Physiol. 1920, Vol. 53, p. 151; p. 167; p. 206; p. 236.
284. Whipple en Robscheit-Robbins, Am. Journ. of Physiol. 1925, Vol. 72, p. 395; p. 408; p. 419; p. 431.
285. Whipple en Robscheit-Robbins, Am. Journ. of Physiol. 1927, Vol. 79, p. 260.
286. Whipple, Journ. Am. Med. Assoc. 1928, Vol. 91, p. 863.
287. Whipple, Journ. Am. Med. Assoc. 1935, Vol. 104, p. 791.
288. Wilbur en Ochsner, Ann. of Int. Med. 1935, Vol. 8, p. 1667.
289. Wilkinson, Brit. Med. Journ. 1930, I, p. 236; Klin. Wo. 1931, No. 17, p. 791.
290. Wilkinson, Brit. Med. Journ. 1931, I, p. 85.
291. Wilkinson en Brockbank, Quart. Journ. of Med. 1931, Vol. 24, p. 219.
292. Wilkinson, Brit. Med. Journ. 1932, I, p. 325.
293. Wilkinson, Quart. Journ. of Med. 1932, Vol. 25, N.S. Vol. 1, p. 361.

294. Wilkinson, Lancet 1932, I, p. 719.
295. Wilkinson, Brit. Med. Journ. 1932, II, p. 1163.
296. Wilkinson en Klein, Lancet 1933, II, p. 629.
297. Wilkinson en Klein, Quart. Journ. of Med. 1934, Vol. 27, N.S. Vol. 3, p. 341.
298. Wilkinson en Israels, Brit. Med. Journ. 1935, I, p. 139 en p. 194.
Wilkinson, Quart. Journ. of Med. 1936, Vol. 26, N.S. Vol. 5, p. 69.
299. Wilkinson en Klein, Klin. Wo. 1935, No. 26, p. 926.
300. Wilkinson, Lancet 1936, I, p. 354.
301. von Willebrand, Acta Med. Scand. 1922, Vol. 56, p. 419.
302. Williams en van der Veer, Proc. Soc. f. Exp. Biol. a Med. 1931, Vol. 29, p. 858.
303. Wills en Metha, Indian Journ. of Med. Research. 1930, Vol. 18, p. 663.
304. Wills en Metha, Indian Journ. of Med. Research. 1930, Vol. 17, p. 777.
Wills en Talpade, Indian Journ. of Med. Research. 1930, Vol. 18, p. 283.
305. Wills, Brit. Med. Journ. 1931, I, p. 1059.
306. Wills en Bilimoria, Indian Journ. of Med. Research. 1932, Vol. 20, p. 391.
307. Wills, Lancet 1933, I, p. 1283.
308. Witts, Guy's Hosp. Rep. 1930, Vol. 80, p. 253.
309. Wolff, Med. Klin. 1930, No. 21, p. 767.
310. Wolff en van Eekelen, Acta Brev. Neerl. 1935, Vol. 5, p. 64.
311. Wuite, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1933, IV, p. 687; 1934, I, p. 389.
312. Zadek, Berl. Klin. Wo. 1917, No. 53, p. 1253.
313. Zerfas, Arch. of Int. Med. 1931, Vol. 47, p. 135.

De artikelen waarvoor een sterretje staat werden alleen in referaat gelezen.

W. J. ... 101
 W. J. ... 102
 W. J. ... 103
 W. J. ... 104
 W. J. ... 105
 W. J. ... 106
 W. J. ... 107
 W. J. ... 108
 W. J. ... 109
 W. J. ... 110
 W. J. ... 111
 W. J. ... 112
 W. J. ... 113
 W. J. ... 114
 W. J. ... 115
 W. J. ... 116
 W. J. ... 117
 W. J. ... 118
 W. J. ... 119
 W. J. ... 120
 W. J. ... 121
 W. J. ... 122
 W. J. ... 123
 W. J. ... 124
 W. J. ... 125
 W. J. ... 126
 W. J. ... 127
 W. J. ... 128
 W. J. ... 129
 W. J. ... 130
 W. J. ... 131
 W. J. ... 132
 W. J. ... 133
 W. J. ... 134
 W. J. ... 135
 W. J. ... 136
 W. J. ... 137
 W. J. ... 138
 W. J. ... 139
 W. J. ... 140
 W. J. ... 141
 W. J. ... 142
 W. J. ... 143
 W. J. ... 144
 W. J. ... 145
 W. J. ... 146
 W. J. ... 147
 W. J. ... 148
 W. J. ... 149
 W. J. ... 150
 W. J. ... 151
 W. J. ... 152
 W. J. ... 153
 W. J. ... 154
 W. J. ... 155
 W. J. ... 156
 W. J. ... 157
 W. J. ... 158
 W. J. ... 159
 W. J. ... 160
 W. J. ... 161
 W. J. ... 162
 W. J. ... 163
 W. J. ... 164
 W. J. ... 165
 W. J. ... 166
 W. J. ... 167
 W. J. ... 168
 W. J. ... 169
 W. J. ... 170
 W. J. ... 171
 W. J. ... 172
 W. J. ... 173
 W. J. ... 174
 W. J. ... 175
 W. J. ... 176
 W. J. ... 177
 W. J. ... 178
 W. J. ... 179
 W. J. ... 180
 W. J. ... 181
 W. J. ... 182
 W. J. ... 183
 W. J. ... 184
 W. J. ... 185
 W. J. ... 186
 W. J. ... 187
 W. J. ... 188
 W. J. ... 189
 W. J. ... 190
 W. J. ... 191
 W. J. ... 192
 W. J. ... 193
 W. J. ... 194
 W. J. ... 195
 W. J. ... 196
 W. J. ... 197
 W. J. ... 198
 W. J. ... 199
 W. J. ... 200

INHOUD.

	Blz.
INLEIDING	1
HOOFDSTUK I — De Levertherapie	3
Het leverdieet	3
Het leverextract	7
Het aantoonen van het antipernicieus werkzame lever- principe	15
HOOFDSTUK II — De reactie van den lijder aan pernicieu- ze anaemie op levertoediening	19
HOOFDSTUK III — De theorie van Castle	27
De extrinsic factor	28
De intrinsic factor	31
De maagtherapie	35
Het haemopoiëtime	39
Het addisin	41
HOOFDSTUK IV — Beschouwingen over de wijze waarop een pernicieuze anaemie kan ontstaan	44
1. Pernicieuze anaemie door een te kort of ontbreken van den intrinsic factor	45
2. Pernicieuze anaemie door een onvoldoende opname van extrinsic factor	49
3. Pernicieuze anaemie door een resorbtiestoornis of een destructie van het reeds gevormde antipernicieus werk- zame principe in het maagdarmkanaal	51
4. Onvoldoende opstapeling van werkzame stof in het lichaam	58
5. Stoornis in het gebruik van de werkzame stof	59
HOOFDSTUK V — Het aantoonen van den intrinsic factor	61
HOOFDSTUK VI — Over de potentieering van lever door maagsap	70
SAMENVATTING —	90
ZUSAMMENFASSUNG —	94
SUMMARY —	98
LITERATUUR	102

STELLINGEN.

I.

De werking van uit de maag bereide praeparaten tegen de pernicieuze anaemie, wordt door de theorie van Castle niet verklaard.

II.

De arteriae coronariae cordis monden gedeeltelijk in de ventrikels uit.

III.

Bij het peritonsillaire absces incideere men niet, doch verichte men bij voorkeur tonsillectomie.

IV.

Het pancreas is niet de eenige plaats in het menschelijk organisme, waar insuline of als insuline werkende stoffen gevormd worden.

V.

De richting van de canales nutricii der pijpbeenderen wordt o.a. bepaald door ongelijke epiphysaire groei.

VI.

Eenzijdige salpingectomie verhoogt de kans op extra-uterine graviditeit.

VII.

Het door vele officieele en semi-officieele lichamen ingenomen standpunt, in gevolge waarvan wel gelden toegestaan

worden voor de operatieve behandeling van het ulcus ventriculi en ulcus duodeni, doch niet voor de geneeskundige behandeling, is onjuist en gevaarlijk.

VIII.

De lichen sclerosus Hallopeau dient opgevat te worden als een ziekte sui generis.

XI.

De behandeling der chronische osteomyelitis volgens Orr en Löhr heeft vele voordeelen.

X.

Indien zich in het verloop van een longafwijking, verdacht voor carcinoom, verschijnselen van mitraal stenose ontwikkelen, geeft dit een steun voor deze diagnose.



U
19