



Over herkomst en betekenis van het vitamine C in het oog

<https://hdl.handle.net/1874/346431>

A. g. m. 192, 1940

OVER HERKOMST EN BETEKENIS
VAN HET VITAMINE C IN HET OOG

J. H. B. M. HUYSMANS

OVER HERKOMST EN BETEKENIS
VAN HET VITAMINE C IN HET OOG

Diss. Utrecht, 1940

OVER HERKOMST EN BETEKENIS VAN HET VITAMINE C IN HET OOG

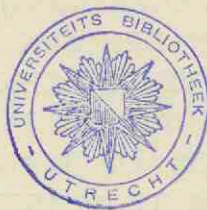
PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN
DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
Dr. F. H. QUIX, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE, VOL-
GENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER
UNIVERSITEIT TE VERDEDIGEN TEGEN
DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE OP D I N S D A G
2 JULI 1940 TE 16 UUR

DOOR

JOHANNES HENRICUS BERNARDINUS MARIA HUYSMANS
ARTS,
GEBOREN TE OUDENBOSCH.

N.V. DRUKKERIJ P. DEN BOER — UTRECHT.



AAN MIJN VROUW.

VOORWOORD.

Bij het verschijnen van dit proefschrift denk ik met dankbaarheid aan mijn Ouders, die mij in de gelegenheid stelden te studeeren. Het voorbeeld, dat mijn Vader als arts mij gaf, staat mij steeds voor oogen.

Hooggeleerde W e v e, hooggeachte Promotor, U ben ik grooten dank verschuldigd. Met groote welwillendheid hebt Gij mij in de gelegenheid gesteld, mij in uw kliniek in de oogheekunde te bekwamen. Uw rijke klinische ervaring, uw belangstelling in wetenschappelijke vraagstukken, uw groote operatieve vaardigheid tezamen met uw organisatorische gaven maken uw kliniek een uitgelezen oord voor oogheekundige opleiding. Dat ik onder uw leiding, medewerking en voortdurende belangstelling ook dit proefschrift heb mogen voltooien, zal voor mij steeds een reden tot dankbaarheid zijn.

Hooggeleerde N o y o n s, ook U ben ik dank verschuldigd voor uw raadgevingen en critiek.

Zeergeleerde F i s c h e r, op vriendschappelijke wijze stelt Gij steeds uw groote ervaring op het gebied van kliniek en laboratorium tot mijne beschikking. Het ontstaan en den groei van dit proefschrift hebt ook Gij van zeer nabij gevolgd; voor uw hulp en raad ben ik U zeer dankbaar.

Zeergeleerde v a n E e k e l e n, uit de gesprekken, die ik met U voerde over het vitamine C in het algemeen — een onderwerp, waarin Gij een autoriteit zijt — heb ik veel profijt getrokken. Hiervoor en voor uw hulp bij de chemische bepalingen, dank ik U zeer.

Oud-assistenten en assistenten, door de prettige sfeer, die tusschen ons bestaat en door uw medewerking, was het mij mogelijk dit proefschrift te voltooien.

De adjunct-directrice van het Ooglijdersgasthuis, Zr. D o n k e r, bedank ik voor de medewerking verleend bij het vervullen van mijn vaak niet geringe wenschen, en zuster

Hartenberg voor het verleen van haar onmisbaren steun bij de vele bloedbepalingen.

Mej. Henskens, mede door Uw hulp was ik in staat de bijwijlen tijdroovende proeven te verrichten. Voor de nauwgezette hulp betuig ik U en Mevrouw Fehrmann mijn hartelijken dank.

Waarde Schütz en van Berkel, U dank ik voor de nauwkeurige wijze, waarop de teekeningen vervaardigd werden en voor de technische hulp.

INLEIDING.

De groote vooruitgang, die de laatste vijftien jaren hebben gebracht, op het gebied der vitamineleer, heeft aan de oogheekunde een nieuw arbeidsveld geschonken.

Wij weten, dat de vitaminen A, B en C van groote beteekenis zijn voor de functie en het metabolisme van het oog.

Het beste zijn wij geörienteerd over het vitamine A, waarvan van meet af aan vaststond, dat het in het oog niet gemist kan worden en dat sinds de dagen van F u n k het anti-xerophthalmische vitamine genoemd wordt. Nadat bekend was geworden, dat gebrek aan vitamine A tot nachtblindheid leidt en wel omdat volgens W a l d het vitamine A een bestanddeel is van het staafjesrood en van groote beteekenis is bij de processen, die plaats grijpen bij belichting en bij donkeradaptatie, heeft K e n t g e n s een studie gewijd aan de beteekenis van het vitamine A voor de kliniek. Hiermee was een begin gemaakt met de uitvoering van het plan om in de Utrechtsche kliniek de beteekenis van de vitaminen voor de oogheekunde te onderzoeken. Mij werd de behandeling van het vitamine C toevertrouwd, een opdracht, die ik gaarne heb aanvaard, omdat de kansen op nieuwe vondsten op therapeutisch en theoretisch terrein gunstig schenen.

Bij het vitamine A was de richting van het onderzoek vanaf het begin vastgelegd; van het vitamine C echter was slechts bekend, dat het in een hooge concentratie in het oog aanwezig was en dat in bepaalde omstandigheden deze concentratie sterk vermindert. Reeds spoedig werd het mij duidelijk, dat de uitwerking van het geheele probleem meer tijd zou vergen, dan mij ten dienste stond. Ik was daarom

gedwongen mij te beperken en heb mij eerst bezig gehouden met den therapeutischen kant van het vraagstuk en daarna, met de resultaten van dit onderzoek voor oogen, heb ik getracht twee vragen te beantwoorden en wel: de beteekenis van het vitamine C in het metabolisme van de lens, en de herkomst van dit vitamine in de lens en het kamervocht.

HOOFDSTUK I.

HET VITAMINE C.

A. Physische en Chemische Eigenschappen.

De chemische formule van het vitamine C of linksdraaiend ascorbinezuur is $C_6H_8O_6$, het moleculairgewicht 176. Het lost gemakkelijk op in water en alcohol; in aether en benzol is het onoplosbaar. Het wordt door infusoriën geabsorbeerd, deze absorptie is afhankelijk van de p_H . Door loodacetaat wordt het neergeslagen. Het is niet bestand tegen drogen aan de lucht en wordt door verhitting vernield. Het smeltpunt ligt tusschen 190° en 192° C. In waterige oplossing heeft het een licht zure smaak en reageert als een éénbasisch zuur. Een waterige oplossing van het vitamine C heeft in het absorptiespectrum een maximum bij 260 tot 265 m μ , in een zure oplossing van een p_H beneden 3 bij 245 m μ .

Het ascorbinezuur is in een verdunde oplossing in water stabiel, wanneer de oplossing vrij is van de geringste sporen van zware metalen, vooral van koper. In bufferoplossingen, die geheel vrij zijn van sporen van zware metalen, is het vitamine C stabiel tot een p_H van 7.6; in oplossingen van een hogere p_H wordt het geoxydeerd door de zuurstof van de lucht.

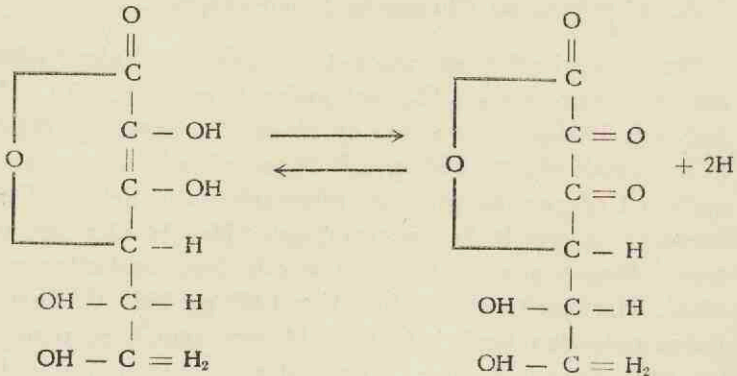
In een zonder bijzondere voorzorgen bereide oplossing van ascorbinezuur in water is het weinig stabiel, omdat een dusdanige oplossing steeds door sporen koper verontreinigd is; bij afsluiting van de buitenlucht echter is het ascorbinezuur ook in een dergelijke oplossing stabiel.

Het ascorbinezuur reduceert een oplossing volgens Fehling, van zilvernitraat en van permanganaat reeds in de koude. Het is zeer gevoelig voor waterstofsperoxyde en

andere oxydatiemiddelen. Door ultraviolet licht wordt het afgebroken.

Door dehydrogenisatie wordt het ascorbinezuur geoxydeerd tot dehydroascorbinezuur:

gereduceerd vitamine C \rightleftharpoons geoxydeerd vitamine C + 2H.
De structuurformules van het vitamine C en den dehydrovorm zijn de volgende:



De dehydrovorm kan door verschillende reduceerende stoffen, b.v. H_2S , weer tot den gereduceerden vorm van het ascorbinezuur gereduceerd worden. Ook in het organisme is dit mogelijk. Het ascorbinezuur is daarom als een reversibel oxy-reductiesysteem te beschouwen.

De dehydrovorm is zeer onbestendig en wordt gemakkelijk verder geoxydeerd. Deze verdere oxydatietrappen kunnen door H_2S niet meer tot ascorbinezuur gereduceerd worden. Daarom noemt men het dehydro-ascorbinezuur de reversibel-geoxydeerde vorm van het vitamine C; zijn de lagere oxydatietrappen ontstaan, dan is het vitamine irreversibel geoxydeerd.

De reductie van den dehydrovorm is van groote betekenis bij de bepaling van het gehalte aan vitamine C, zooals later bij de beschrijving van de techniek van de bepaling van het vitamine C blijken zal.

In de natuur komen vele stoffen voor, die de oxydatie van

het vitamine C sterk beïnvloeden. De oxydasen, die uit vele planten en vruchten tot nu toe bereid zijn, bleken echter niet specifiek te zijn voor het vitamine C. Meestal bleek de werking van een oxydase afhankelijk te zijn van het gehalte aan koper van de oxydase, en werd ook de oxydatie van andere stoffen door deze oxydasen beïnvloed. Een specifiek enzym, dat de oxydatie van het vitamine C tot stand brengt, een ascorbinase dus, is tot nu toe niet gevonden.

Waarschijnlijk werkt het koper bij de oxydatie van het vitamine C als zuurstofoverdrager. Het lactoflavine (vitamine B₂) veroorzaakt ook de oxydatie van het vitamine C, echter alleen bij belichting. In het donker heeft het lactoflavine geen invloed.

Het vitamine C heeft een oxyreductiepotentiaal, die afhankelijk is van het milieu. Een waterige oplossing in een stikstofatmosfeer heeft bij een p_{H} van 7 en een temperatuur van 20° een r_{H} van 16,5; bij aanwezigheid van zuurstof is de r_{H} ongeveer 21. Deze laatste waarde ligt zeer dicht bij de oxyreductiepotentiaal van het bloed ($r_{\text{H}} = 22$).

B. Bepaling van het Vitamine C.

1. Biologische methode. Caviaproef.

De methode, die met de grootste zekerheid vitamine C aantoonst, is de caviaproef. Holst en Fröhlich (1) ontdekten in 1912, dat bij caviae scheurbuik opgewekt kon worden, door ze uitsluitend te voeden met graankost en water. Stoffen, die men wil onderzoeken op de aanwezigheid van vitamine C, worden aan dit diët toegevoegd, en door de al of niet volgende therapeutische werking kan zowel de aanwezigheid als de hoeveelheid vitamine C bepaald worden.

Volgens vele auteurs is de dagelijksche toevoeging van 0.5 mG vitamine C aan het scheurbuikdiët voldoende om een cavia voor scheurbuik te beschermen. De scheurbuik, die met een daarvoor geschikt diët bij de cavia is op te wekken, heeft een typisch verloop. Het tijdstip, waarop bij

caviae, die vitamine C-vrij gevoed worden, de eerste verschijnselen van scheurbuik optreden, is afhankelijk van den leeftijd en van de hoeveelheid vitamine C, die bij het begin van de proef in het organisme voorradig is. Gemiddeld treden de eerste klinische verschijnselen na 14 tot 30 dagen op. Het begint met gewichtsverlies, daarna worden de dieren minder levendig, de tanden worden brokkelig en gaan los zitten, en tenslotte sterven de dieren 2 à 3 weken na het optreden van de eerste symptomen onder verschijnselen van algemeene prostratie. Bij de sectie blijken op vele plaatsen, vooral in de gewrichten, bloedingen aanwezig te zijn; de overgangen van been op kraakbeen zijn verdikt.

Het onderzoek op vitamine C met de dierproef vordert geruimen tijd en heeft uiteraard vele bezwaren. Deze bezwaren worden eenigszins ondervangen bij de methode volgens H ö j e r (2), die de z.g. tandmethode uitgewerkt heeft. Microscopische veranderingen van de odontoblasten en de dentinestructuur treden op vóór de eerste klinische verschijnselen. Door het onderzoek van de tanden is scheurbuik bij de cavia reeds na 1 tot 2 weken aan te toonen. De uitkomsten van de quantitative bepaling van het vitamine C met behulp van de caviaproef zijn niet zeer nauwkeurig. Met een fout van 33 % moet worden rekening gehouden.

2. Chemische methoden.

Bijna alle chemische methoden voor de bepaling van het vitamine C berusten op de reduceerende eigenschappen van deze stof. De meest gangbare methode is die van Tillmans (3) met de modificatie volgens Birch, Harris en Ray (4), die berust op de eigenschap van het vitamine C om een kleurstof, het 2.6 dichloorphenolindophenol, te reduceeren tot de kleurloze leucobase. Tillmans toonde aan, dat het vermogen van plantenextracten om deze kleurstof te reduceeren, evenredig was met de antiscorbutische werking van deze extracten. In neutraal of zwak zuur milieu bleek echter het Tillmans' reagens zeer weinig specifiek te zijn;

vele andere stoffen, b.v. glutathion, cysteïne, ferrozouten, ergothioneïne, thiosulfaten en suikerreductonen ontkleuren het reagens eveneens.

Een belangrijke verbetering van de methode van Tillmans was het gebruik van trichloorazijnzuur, waarmee de te onderzoeken stoffen werden geëxtraheerd, en de uitvoering van de titratie met het Tillmans' reagens bij een p_{H} beneden 2.5. Deze verandering van de oorspronkelijke methode van Tillmans is door Birch c.s. ingevoerd. In het zure milieu storen glutathion en ferrozouten de titratie niet. In plaats van trichloorazijnzuur als extractiemiddel worden ook 5 % metaphosphorzuur (Fujita en Iwatake (5), 8 % sulfosalicylzuur (Wachholder en Podestá (6), warme 8 procentige azijnzuur (Mathiesen en Ascheborg (7) gebruikt. Martini en Bonsignore (8) gebruiken de reductie van methyleenblauw door vitamine C bij sterke belichting als een middel om de hoeveelheid vitamine C te meten. De mate van reductie van het methyleenblauw hangt o.a. af van de p_{H} van de oplossing, waarmee gewerkt wordt.

Bij de methode van Bezsonoff (9) wordt gebruik gemaakt van monomolybdophosphorwolfraamzuur, bij die van Tauber en Kleiner (10) van ferricyanide, stoffen, die door inwerking van het vitamine C van kleur veranderen. Deze verandering wordt colorimetrisch gemeten.

Aan een chemische bepaling van het vitamine C moeten, wil zij betrouwbaar zijn, de volgende eischen gesteld worden.

- 1°. De reactie moet zooveel mogelijk specifiek zijn.
 - 2°. Bij de bepaling moet rekening gehouden worden met de mogelijkheid, dat ook de dehydrovorm van het vitamine C in de te onderzoeken stof aanwezig kan zijn, en dat de dehydrovorm tijdens de bewerking uit het gereduceerde vitamine C door oxydatie kan ontstaan.
 - 3°. Verdere afbraak van het geoxydeerde vitamine C tijdens de bepaling moet worden voorkomen.
- ad 1°. Geen van de bovengenoemde stoffen, die door het vitamine C gereduceerd worden, zijn specifieke oxydatie-

middelen voor dit vitamine. Het reagens van Tillmans b.v. wordt ook in een oplossing van een p_{H} beneden 2.5 door ergothioneïne, thiosulfaat en glucoreducton gereduceerd.

ad 2°. Het gereduceerde vitamine C wordt gemakkelijk geoxydeerd en deze oxydatie kan zeer snel verlopen. De dehydrovorm heeft op de gebruikelijke indicatoren geen uitwerking, en dus wordt al het vitamine dat tijdens de bewerking geoxydeerd wordt, niet gemeten. De hoeveelheid dehydroascorbinezuur, die reeds in de stof vóór de bewerking aanwezig was, ontsnapt natuurlijk ook aan de bepaling.

Van de groote beteekenis van de oxydatie van het vitamine C geeft het volgende een voorbeeld (van Eekelen⁽¹¹⁾). Voor een vitamine C-bepaling in het bloed, wordt aan een hoeveelheid bloed trichloorazijnzuur toegevoegd. Dit mengsel wordt flink geroerd en daarna gefiltreerd. Het heldere filtraat blijkt bij titratie met het reagens van Tillmans geen gereduceerd vitamine C te bevatten.

Wordt hetzelfde bloed, dat met kaliumoxalaat onstolbaar gemaakt is, eerst gecentrifugeerd en behandelt men het plasma met trichloorazijnzuur op dezelfde wijze als bij de eerste proef, dan reduceert het filtraat wel het Tillmans' reagens. Het blijkt dus, dat bij de eerste bewerking al het gereduceerde vitamine door de inwerking van het trichloorazijnzuur op de bloedlichaampjes, waarbij sterk oxydeerende stoffen vrijkomen, geoxydeerd is.

ad 3°. De verdere afbraak van het dehydroascorbinezuur kan, blijkens de ervaring, voorkomen worden, door snel te werken.

Om het dehydroascorbinezuur bij de chemische methode mee te bepalen, kan een stof of extract behandeld worden met H_2S , dat de dehydrovorm tot het gereduceerde vitamine terugreduceert. Ook dit heeft weer bezwaren, daar bij de reductie met H_2S weer stoffen kunnen ontstaan, die geen vitamine C zijn en wel de indicator reduceeren. Emmérie en van Eekelen⁽¹²⁾ hebben een methode uitgewerkt, die deze bezwaren grootendeels opheft. Deze methode heb ik bij mijn onderzoek gebruikt en daarom laat ik hier een meer uitvoerige beschrijving volgen.

**Bepaling van het vitamine C in het bloed volgens
van Eckelen—Emmerie.**

Ongeveer 25 cc. bloed, door venapunctie verkregen, worden in een reageerbuis opgevangen, waarin tevoren \pm 25 mG. kaliumoxalaat is gedaan. Het bloed wordt onmiddellijk met het kaliumoxalaat gemengd, waardoor het stollen van het bloed voorkomen wordt. De verdere bewerking van het bloed moet binnen eenige uren na de venapunctie geschieden.

20 cc. van het bloed worden afgepipetteerd en in een centrifugebuis van 150 à 200 cc. gedaan. Hierbij wordt 20 cc. 10 % trichloorazijnzuur gedaan en gedurende 1 à 2 minuten wordt het mengsel met een glasstaaf flink geroerd. Daarna wordt 10 cc. 20 % mercuriacetaat toegevoegd, weer snel geroerd, en vervolgens wordt het overschot aan trichloorazijnzuur met calciumcarbonaat geneutraliseerd. Onder voortdurend roeren wordt het calciumcarbonaat toegevoegd, totdat het mengsel congoroodpapier niet meer blauw kleurt en nog zuur reageert ten opzichte van blauw lakmoespapier. Het is noodzakelijk om al het trichloorazijnzuur te neutraliseeren, omdat zelfs in een atmosfeer van zwavelwaterstof het ascorbinezuur bij aanwezigheid van trichloorazijnzuur op den duur onbestendig is.

Na de neutralisatie wordt het mengsel snel gecentrifugeerd in een sneldraaiende centrifuge (3000 toeren per minuut) gedurende 1 à 2 minuten. De heldere bovenstaande vloeistof wordt snel gefiltreerd en daarna wordt door het filtraat zwavelwaterstof geleid gedurende 3 minuten. Hierbij ontstaat een zwart neerslag van kwiksulfide. Dit wordt afgefiltreerd en door het heldere filtraat wordt nog eens gedurende 1 minuut zwavelwaterstof geleid; de reageerbuis wordt dan met een gummistop afgesloten en een nacht in het donker bewaard. Den volgenden dag wordt koolzuur door de oplossing geleid, waardoor het zwavelwaterstof geheel uitgedreven wordt. Met een filtreerpapierje, dat even met loodacetaat bevochtigd is, kan men controleeren of al het

zwavelwaterstof verwijderd is. Zoolang het filtreerpapier, dat boven de reageerbuis gehouden wordt, nog verkleurt door het ontstaan van loodsulfide, is er nog zwavelwaterstof aanwezig.

Na het doorleiden van koolzuur gedurende 1 à 2 uur blijft het loodacetaatpapiertje kleurloos. Van de vloeistof wordt 5 cc. afgepipetteerd en in een wit porceleinen schaalte gedaan; hierbij wordt 1 cc. 10 % trichloorazijnzuur gevoegd en dit mengsel wordt gefiltreerd met een oplossing van 2.6 dichloorphenolindophenol, dat druppelsgewijs uit een microburette wordt toegevoegd, onder voortdurend schudden van het schaalte. Het blauwe reagens wordt in de zure oplossing onmiddellijk rood. Bij aanwezigheid van vitamine C verdwijnt de roode kleur snel, totdat het eindpunt van de titratie bereikt is. Als de roode kleur 5 seconden waarneembaar blijft, is dit eindpunt bereikt.

Door het trichloorazijnzuur worden de eiwitten neergeslagen; het mercuriacetaat bindt vele stoffen, die ook in staat zijn het reagens te reduceeren, maar oxydeert tegelijkertijd ook het aanwezige gereduceerde vitamine C tot den dehydrovorm, die zeer onbestendig is en geen invloed heeft op den indicator. Nu is het bij deze methode een voordeel, dat het calciumcarbonaat, dat onmiddellijk na het mercuriacetaat toegevoegd wordt om het overschot aan trichloorazijnzuur te neutraliseeren, een sterke koolzuurontwikkeling veroorzaakt, waardoor in de oplossing weinig zuurstof aanwezig is, dat den dehydrovorm verder kan oxydeeren. De zwavelwaterstof slaat het overtollige kwikacetaat neer als kwiksulfide en maakt dus een einde aan de oxydeerende werking van het kwikacetaat en tegelijk wordt het dehydroascorbinezuur gereduceerd tot het gereduceerde vitamine C. Het bewaren onder zwavelwaterstof is noodig, om er zeker van te zijn, dat bij de titratie alle vitamine C in den gereduceerden vorm aanwezig is. Daar het zwavelwaterstof de indicator ook ontkleurt, is het noodig dat de zwavelwaterstof tot de laatste sporen toe door koolzuur uit de oplossing verdreven wordt.

De periode, die verloopt tusschen het toevoegen van het kwikacetaat en het inleiden van zwavelwaterstof, mag niet langer duren dan 10 minuten. Emmerie en van Eekelen konden aantonen, dat een hoeveelheid vitamine C, die zij aan het bloed toevoegden, quantitatief teruggevonden werd, als er voor gezorgd werd, dat de bovengenoemde 10 mintengrens niet overschreden werd. Bij langzamer werken bleek een gedeelte van het vitamine irreversibel geoxydeerd te zijn. Ook met 10 cc. bloed kan nog behoorlijk een bepaling gedaan worden, met minder bloed wordt de bepaling onbetrouwbaar, omdat dan de snelheid van de bewerkingen zeer in het gedrang komt, of genoeg genomen moet worden met zeer kleine hoeveelheden filtraat, waardoor de nauwkeurigheid van de titratie zeer lijdt.

Bepaling in andere vloeistoffen.

Bij de bepalingen van het vitamine C in oogkamervocht en andere vloeistoffen kunnen dezelfde bewerkingen toegepast worden zooals boven voor het bloed is aangegeven. Bij zeer kleine hoeveelheden worden deze eerst verdund met water. Door het groote gehalte aan vitamine C in het kamervocht, is ook van deze kleine hoeveelheden een betrouwbare bepaling mogelijk.

Bepaling in weefsels.

Weefsels worden met trichloorazijnzuur fijngewreven; dit mengsel wordt gefiltreerd en het filtraat op dezelfde wijze behandeld als voor bloed aangegeven is.

Indicatoroplossing.

100 mG. 2.6 dichloorphenolindophenol (Hoffmann-La Roche) worden opgelost in 500 cc. gedestilleerd water en daarna gefiltreerd. Aan deze oplossing wordt een mespunt bicarbonas natricus toegevoegd. De oplossing wordt gesteld tegen een oplossing van ascorbinezuur van bekende sterkte. 1 mG. ascorbinezuur verbruikt 10 à 11 cc. van deze

indicatoroplossing. De oplossing blijft enkele weken goed, als zij in het donker en koel bewaard wordt, maar moet iedere week opnieuw gesteld worden, daar de sterkte bij bewaren iets terugloopt. Oudere indicatoroplossingen worden onbruikbaar, omdat zij bij het titreeren een vuilbruine kleur geven, waardoor het bepalen van het eindpunt van de titratie zeer bemoeilijkt wordt.

De oplossing van mercuriacetaat laat men na het bereiden een paar dagen staan. In de versche oplossing treedt n.l. hydrolyse op; na een paar dagen wordt deze oplossing gefiltreerd en deze blijft dan langen tijd bruikbaar.

Een voordeel van deze methode is nog, dat alle kleurstoffen bij de behandeling neergeslagen worden, zoodat zij niet meer storen bij het titreeren.

Tot nu toe bleken adrenaline, gluco-reducton en reductinezuur de eenige stoffen te zijn, die met deze methode ook de indicator ontkleuren. (van Eekelen¹³).

Het is van groot belang de voorschriften, die Emmerie en van Eekelen gegeven hebben, stipt op te volgen. Een kleine verandering, die ik bij bepalingen van het vitamine C van de lens gemakshalve aanbracht, veroorzaakte moeilijkheden, die ik uitvoerig zal beschrijven, omdat de oplossing van deze moeilijkheden gegevens verschaften, die voor het geheele onderzoek van belang zijn. In plaats van de vloeistof, die na fijnwrijven van een lens met trichloorazijnzuur en toevoeging van mercuriacetaat en calciumcarbonaat ontstaat, volgens voorschrift te centrifugeeren en daarna te filtrereen, filtreerde ik dit mengsel onmiddellijk af door een zuigfilter, waarbij ik gewoon filtreerpapier en de waterstraalpomp als zuigkracht gebruikte. Het filtraat werd dan verder bewerkt op de gewone wijze met H_2S . Deze wijze van doen had twee voordeelen. Ten eerste werd de tijd, die verliep tusschen het toevoegen van mercuriacetaat en het doorleiden van H_2S bekort tot op ongeveer 3 minuten, waardoor de kans op irreversibele oxydatie van het dehydroascorbinezuur verkleind wordt, en ten tweede was de hoeveelheid filtraat, die verkregen wordt bij direct filtrereen door een zuigfilter groo-

ter dan de hoeveelheid filtraat, die men verkrijgt als eerst gecentrifugeerd en daarna nog eens gefiltreerd wordt. Bij de kleine hoeveelheden vitamine C, absoluut gesproken, die in een lens aanwezig zijn, is het zaak een zoo groot mogelijke hoeveelheid van dit vitamine in het eindfiltraat te krijgen, waardoor de nauwkeurigheid van de bepaling stijgt.

Tauber en Kleiner⁽¹⁴⁾ hebben een methode aangegeven, waarbij het mogelijk zou zijn na te gaan, of de geheele gevonden reductiewaarde met het reagens van Tillmans berust op vitamine C, of dat er ook andere stoffen aanwezig zijn, die eveneens het reagens ontkleuren. Deze onderzoekers bereidden uit vruchten een oxydase, waarvan zij meenden, dat zij specifiek was voor vitamine C. Eerst titreerden zij een mengsel van ascorbinezuur en andere reducteerende stoffen. Vervolgens namen zij een tweede, even groote hoeveelheid van hetzelfde mengsel, waarop zij de oxydase lieten inwerken, en titreerden nu opnieuw. Het verschil in de twee gevonden waarden bij de titratie zou dan door de aanwezige hoeveelheid vitamine C veroorzaakt zijn. Hoewel later bleek, dat de oxydase van Tauber en Kleiner niet specifiek was voor het vitamine C, is het toch duidelijk, dat wanneer een gevonden waarde bij de titratie uitsluitend veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van vitamine C, men bij de tweede titratie na de inwerking van de oxydase, een titratiewaarde nul moet vinden.

Deze methode heb ik toegepast bij de titratie van het filtraat, dat volgens de methode van Eekelen-Emmerie verkregen was uit varkenslenzen. Bij de bewerking had ik in plaats van de centrifuge het zuigfilter gebruikt. 5 cc. filtraat verbruikte 0.75 cc. indicatoroplossing. Na inwerking van de oxydase bleek 5 cc. filtraat echter nog 0.15 cc. indicatoroplossing te verbruiken. Het was dus duidelijk, dat de eerstgevonden waarde zeker niet geheel veroorzaakt werd door het vitamine C. Nadat alle reagentia ververscht waren, deed ik dezelfde proef opnieuw en verkreeg weer dezelfde uitkomsten. Tenslotte deed ik een controleproef met water in plaats van lensextract en weer vond ik een reductiewaarde

van 0.15 cc. indicatoroplossing, die ook na inwerking van de oxydase bleef bestaan. Toen het zuigfilter in de bewerking weer verwisseld werd met de centrifuge, bleek deze foutenbron verdwenen te zijn en vond ik bij de blinde proef geen reductie en werd de gevonden titratiewaarde bij de bepaling van varkenslenzen tot nul gereduceerd na de inwerking van de oxydase. Aan welke reduceerende stof de bovengenoemde restreductie moet worden toegeschreven, heb ik niet nader onderzocht. Mogelijk ontstaat er bij de inwerking van het neerslag op het filtreerpapier een stof, die het reagens van Tillmans eveneens reduceert.

Histochemische methode.

Deze methode berust op de eigenschap van het vitamine C, dat het in staat is zilvernitraat tot zilver te reduceeren. In de weefselcoupes ziet men het zwarte zilver na de behandeling met zilvernitraat zich duidelijk afteekenen, en zoo bestaat de mogelijkheid om de verdeeling en de hoeveelheid vitamine C in de verschillende weefseldeelen te achterhalen. Vooral Giroud en Leblond (15) hebben deze methode nader uitgewerkt, maar deze methode blijkt weinig specifiek en voor nauwkeurige quantitative metingen nog niet geschikt te zijn. Glutathion b.v. heeft een remmenden invloed op de reductie van zilvernitraat door ascorbinezuur.

Osazonvorming van het vitamine C.

Noyons (16) heeft een methode beschreven, die berust op de eigenschap van het vitamine C om met phenylhydrazine een specifiek osazon te vormen. Voor fijnere quantitative metingen is deze methode volgens de schrijvers nog niet bruikbaar. (17)

3. Physische methoden.

Spectrographische methode.

De absorptieband in het spectrum van het vitamine C is gebruikt voor kwalitatieve en quantitative bepalingen. Van

verschillende stoffen, b.v. bloedplasma is het zeer moeilijk een extract te maken, dat voor spectrographisch onderzoek geschikt is. Bovendien kunnen in een oplossing verschillende andere stoffen aanwezig zijn, die in hetzelfde gebied van den absorptieband van het vitamine C ook een absorptieband hebben. Verder is de ligging van de band van het vitamine C afhankelijk van het oplosmiddel en den zuurgraad van de oplossing. Deze factoren zijn de oorzaak, dat de spectrographische meting van het vitamine C wel een waardevol hulpmiddel kan zijn als controle van waarden, die volgens andere methoden gevonden zijn, maar op zichzelf toch slechts een betrekkelijke betrouwbaarheid heeft.

Potentiometrische meting.

Ditzelfde kan gezegd worden van de potentiometrische metingen. Bij deze methode wordt de redoxpotentiaal van een vitamine C-houdende oplossing gemeten. Deze methode is uiteraard weinig specifiek, en is vooral bruikbaar, als men de snelheid en grootte van de oxydatie van het vitamine C in een oplossing wil meten.

Het bestaan van vitamine C in gebonden toestand.

In sommige groenten is door verschillende onderzoekers na het koken meer vitamine C gevonden. Dit was voor hen een reden om aan te nemen, dat in die groenten in verschen toestand een gedeelte van het vitamine C in een gebonden vorm zou voorkomen, dat bij directe titratie niet bepaald werd. Door het koken zou dit gebonden vitamine C vrijkomen, en zoo zou de stijging van het vitamine C-gehalte verklaard zijn. Van Eekelen⁽¹⁸⁾ en Wachholder e.a.⁽¹⁹⁾ konden echter aantoonen, dat deze uitkomsten hun oorzaak vonden in technische fouten bij de bepalingen en dat de verschillen in de gevonden uitkomsten voor en na het koken toe te schrijven zijn aan de werking van oxydasen. Bij het stukwrijven van groenten kunnen deze oxydasen hun werking ontplooien en vindt men een te lage waarde bij de

bepaling, omdat een gedeelte van het vitamine C bij de bewerking geoxydeerd wordt. Door het koken worden de oxydasen neergeslagen en kunnen deze dus het aanwezige vitamine C niet meer beïnvloeden. De toename van het vitamine C na het koken was dus slechts een schijnbare vermeerdering. Bij de bepaling van het vitamine C gehalte in groenten door behandeling met mercuriacetaat en terugreductie door H_2S werd na het koken nooit een grootere hoeveelheid vitamine gevonden, integendeel: door het koken gaat steeds een grooter of kleiner percentage van het vitamine door irreversibele oxydatie verloren.

In latere jaren (²⁰) is het bestaan van aan eiwit gebonden vitamine C, dat aan de gebruikelijke bepalingen ontsnapt, weer verdedigd, maar deze onderzoekingen wachten op nadere bevestiging.

C. Voorkomen van het vitamine C.

Het voorkomen van het vitamine C zal in dit geschrift natuurlijk slechts voor zoover het van beteekenis is voor de oogheelkunde nagegaan worden, en het voorkomen van het vitamine C in de gebruikelijke voeding slechts kort behandeld worden.

Aardappelen, groenten en fruit zijn de voornaamste bronnen van het vitamine C in onze voeding. Brood bevat geen vitamine C, vleesch slechts in geringe hoeveelheden. De beteekenis van den aardappel in de voeding als vitamine C-bron is het beste gekenschetst door de historische opmerking, dat sinds de invoering van aardappelen als volksvoedingsmiddel de scheurbuik als volksziekte in de Nederlanden verdween.

Iets minder summair moet over het voorkomen van het vitamine C in het organisme gesproken worden. De verdeling van het vitamine C in de verschillende organen is zeer ongelijkmatig; er zijn organen met een hoog en een laag vitamine C-gehalte. Tot de eerste groep behooren de bijniëren en andere klieren met inwendige secretie en verschillende deelen van het oog; in het steunweefsel is weinig vitamine C aanwezig.

Voor ons is zeer belangrijk het voorkomen van het vitamine C in het bloed. Bij den mensch is de hoeveelheid vitamine C in het bloed voor het grootste gedeelte afhankelijk van de hoeveelheid vitamine, die met de voeding opgenomen wordt. Ook andere factoren kunnen hierbij van beteekenis zijn. Zoo is b.v. het verbruik van vitamine C bij koortsige ziekten en bij verhoogde stofwisseling grooter dan normaal en blijkt — bij gelijke vitamine C-toevoer in de voeding — het bloedgehalte aan vitamine in deze gevallen lager te zijn. Soms is ook de opname van vitamine C door afwijkingen aan de ingewanden gestoord, en er zijn gevallen van scheurbuik bekend, waarbij groote giften vitamine C peroraal toegediend geen effect hadden, terwijl parenterale toediening prompt verbetering gaf. Afgezien van deze uitzonderingen kan men zeggen, dat het gehalte aan vitamine C in het bloed afhankelijk is van de hoeveelheid vitamine C, die met de voeding opgenomen wordt. Bij ruime toevoer van het vitamine met de voeding of bij parenterale toediening blijkt er voor het vitamine C in het bloed een grens te bestaan, boven welke het vitamine grootendeels met de urine in enkele uren tijds uitgescheiden wordt. Deze drempelwaarde in het bloed is voor den mensch 1.2 à 1.4 mG %. Hoogere waarden dan deze kan men vooral vinden korten tijd na de opname van een flinke dosis vitamine C bij personen, die reeds met vitamine C verzadigd zijn. De waarde 1.2 mG % is dus de verzadigingswaarde.

De hoeveelheid vitamine C, die aan den mensch toegediend moet worden, om de bovengenoemde drempelwaarde te bereiken, is omgekeerd evenredig met het gehalte van het vitamine C in het bloed. Bij een dagelijksche toevoeging van 300 mG vitamine aan de voeding, kan ongeveer het volgende schema gelden.

Gehalte van vitamine C in het bloed.	Toe te dienen hoeveelheid vitamine C tot verzadiging bereikt is.
0. — 0.4 mG %	± 3000 mG
0.4 — 0.8 mG %	± 2000 mG
0.8 — 1.2 mG %	1500—0 mG

Uit het vorengaande blijkt, dat er twee wegen openstaan om bij den mensch een inzicht te verkrijgen in hoeverre zijn organisme met vitamine C verzadigd is: ten eerste de bepaling in het bloed en vervolgens het dagelijks toedienen van een ruime dosis vitamine, b.v. 300 mG, en dan afwachten na hoeveel dagen de opgenomen hoeveelheid vitamine voor een belangrijk gedeelte met de urine uitgescheiden wordt. De eerste manier is de eenvoudigste. Hierbij kan met één bepaling in het bloed volstaan worden, terwijl bij de tweede methode gedurende een onbekend aantal dagen dagelijks de urine moet worden onderzocht.

Bij scheurbuikpatiënten is het vitamine C in het bloed niet in meetbare waarde te vinden, de voorraad vitamine C is dan zeer gering tot nul. Op een eenigszins willekeurige wijze heeft men het volgende schema opgesteld.

Bloedwaarde		
0.	— 0.4 mG %	slechte verzorging
0.4	— 0.8 mG %	matige verzorging
0.8	— 1.2 mG %	goede verzorging tot verzadiging.

Het vitamine C komt in het bloedplasma hoofdzakelijk in den gereduceerden vorm voor; de vorm waarin het in de bloedlichaampjes aanwezig is, is moeilijk na te gaan, door de aanwezigheid van oxydeerende stoffen.

De meeste diersoorten krijgen bij voeding met een diëet, dat geen vitamine C bevat, geen scheurbuik. Zij zijn blijkbaar in staat de behoefte aan vitamine C door synthese in het organisme te dekken. In dit verband zijn ratten uitvoerig onderzocht. Een groep van deze dieren vertoont bij voeding met een scheurbuikdiëet geen enkel verschijnsel van vitamine C-tekort. Ook de voortplanting gaat gewoon door. Bij onderzoek naar het vitamine C-gehalte van verschillende organen van leden van de 5e generatie van ratten, waarvan alle generaties vitamine C-vrij gevoed waren, bleek, dat het vitamine C-gehalte overeenkwam met dat van de 1e generatie. Een ander treffend voorbeeld is het mormeldier, dat na den winterslaap een hogere vitamine C-waarde van het bloed heeft dan in het najaar vóór den winterslaap. De

reactie op vitamine C-vrije voeding is bij de verschillende dieren verschillend. Bij de rat b.v. daalt het vitamine C gehalte niet; bij het konijn daalt dit wel, maar toch is het niet gelukt bij het konijn verschijnselen van scheurbuik op te wekken, ook niet bij lang voortgezette vitamine C-vrije voeding. De cavia en de aap zijn evenals de mensch zeer gevoelig voor vitamine C-onthouding, en deze diersoorten vertoonen het clinische beeld van scheurbuik, dat met de scheurbuik bij den mensch verregaande overeenkomsten vertoont.

Ook de verschillende organen van eenzelfde dier reageeren verschillend op vitamine C-onthouding en vitamine C-toevoer. Het vitamine C-gehalte van de hersenen van de cavia b.v. daalt bij een scheurbuikdiëet niet beneden 40 % van de oorspronkelijke waarde, terwijl het gehalte van verschillende andere organen en het bloed tot nul kan dalen. Bij vitamine C-toevoer worden soortgelijke verschillen waargenomen. In het bloed bestaat, zooals wij gezien hebben, een drempelwaarde, maar het gehalte van andere organen, zooals bijnier, lever en oog lens, kan tot een veelvoud van de gemiddelde waarde stijgen.

D. Functie van het vitamine C.

Het gebrek aan vitamine C veroorzaakt bij den mensch scheurbuik, en omgekeerd is vitamine C het eenige en afdoende geneesmiddel voor deze ziekte. De geoxydeerde vorm van het vitamine is therapeutisch even werkzaam als de gereduceerde. Sedert de ontdekking en afzondering van dit vitamine, kort daarop gevolgd door de synthese, is dit vitamine een dankbaar onderwerp geworden voor nadere studie in laboratorium en kliniek, waarbij de uitwerking van methoden, waardoor het gehalte aan vitamine C betrekkelijk eenvoudig te meten is, van groot belang was.

Het eerste enthousiasme, waarmede het vitamine C in de therapie begroet is, is hier en daar sterk bekoeld. De gunstige uitkomsten, die men over de geheele wereld meldde bij toepassing van het vitamine C bij ziekten, die met bloedin-

gen gepaard gaan, bij infectieziekten, en vele andere aandoeningen, worden door anderen ontkend. Zoo waren er clinici, die een pneumonie alleen met vitamine C behandel- den, daarentegen anderen, die geen verschillen zagen bij patiënten met een goede en slechte verzorging van het organisme met vitamine C. De ervaring en de critiek zullen in de toekomst voor dit vraagstuk wel den gulden midden- weg aanwijzen. Ook de vraag of de toestand van verza- diging met het vitamine beter is dan die, waarbij een matige verzorging bestaat, wordt geenszins eensluidend beant- woord in gunstigen zin voor den verzadigingstoestand. Het begrip hypovitaminose, waarmede een minder goede verzor- ging van het organisme met vitamine aangeduid wordt, is dan ook een vrij vaag begrip, en de begrenzing van den toestand, waarbij van hypovitaminose gesproken wordt, is vrij willekeurig, en deze grens is dan ook bij verschillende auteurs verschillend.

Toch blijft het onderzoek naar de verzorging van het organisme met het vitamine C door middel van de bepaling van het bloedgehalte of van de verzadigingsproef, met daar- naast een schematische indeeling voor de gevonden waar- den, een belangrijk hulpmiddel, vooral bij vergelijkende be- schouwingen.

Hoe het vitamine C eigenlijk in het chemisme van de stof- wisseling ingrijpt, is onbekend; evenmin bezitten we een duidelijke voorstelling betreffende den aard van de genees- krachtige werking bij scheurbuik. Wel zijn er vele denk- beelden geopperd, die met waarnemingen en proeven bij ge- zonde en zieke menschen, met dierproeven en proeven in vitro aannemelijk zijn gemaakt, maar geen enkele van deze denkbeelden wordt algemeen aanvaard.

Als we ons tot het metabolisme beperken, dan kan men van alle opvattingen over de werking van het vitamine C zeggen, dat zij gebaseerd zijn op de eigenschap van dit vita- mine een oxyreductiesysteem te vormen. In het bijzonder over deze functie zal in het hoofdstuk over de stofwisseling van de lens uitvoerig gesproken worden.

HOOFDSTUK II.

A. Het vitamine C gehalte van de deelen van het oog.

De sterke reduceerende werking van het kamervocht, van de lens en van lensextracten was reeds vóór de ontdekking van het vitamine C bekend. Voor zoover het de lens betreft, werd deze werking toegeschreven aan het groote gehalte aan glutathion, dat de lens bevat.

Harris (1) vond dat in het kamervocht vitamine C aanwezig was, en kon de uitkomsten van het chemisch onderzoek met de biologische methode bevestigen. Birch en Dann kwamen tot dezelfde resultaten in hun onderzoekingen over de ooglens (2). Het meest opvallende van deze eerste mededeelingen was de zeer groote hoeveelheden vitamine C, die in het kamervocht en de lens konden worden aangetoond, en zeer vele auteurs hebben zich in de jaren na deze ontdekkingen bezig gehouden met de vragen: waar komt dit groote vitamine C-gehalte vandaan, en wat is de functie van het vitamine C in het oog. Ook in de overige deelen van het oog komt het vitamine C in wisselende concentratie voor, het volgende staatje van Nakamura (3) geeft hiervan een goed overzicht.

Vitamine C gehalte van verschillende deelen van het oog
(konijn) (Nakamura) uitgedrukt in mG %.

Pars ciliaris iridis	28
corpus ciliare	27
voorste oogkamer	24,3
cornea	19,5
retina + chorioidea	18,9
lens voorste gedeelte	16,7
lens achterste gedeelte	15,5
sclera	14
corpus vitreum	7,5

Bij verschillende dieren zijn er groote verschillen in het

normale gehalte aan vitamine C in ooglens en kamervocht. Dit gehalte varieert van 15 tot 45 mG % bij de verschillende huisdieren. Voor de hond en de rat worden waarden van 1 tot 6 mG % opgegeven. Ook voor den mensch worden in de literatuur waarden van 15 tot 30 mG % gevonden.

Bij dezelfde diersoort is het vitamine C gehalte van de lens van oudere dieren lager dan van jongere, terwijl voor het vitamine C-gehalte van het kamervocht dit verschil tusschen oudere en jongere dieren niet gevonden is.

Gurewisch (4) en Glick en Biskind (5) onderzochten nader de verdeling van het vitamine C in de lens, en kwamen tot de conclusie, dat bij oudere dieren het vitamine C-gehalte in de lenschors eerder hooger dan lager is dan dat van de lenschors bij jongere dieren. De lenskern van oudere dieren bevat volgens deze onderzoekers echter aanmerkelijk minder vitamine C dan de lenskern van de jonge dieren. Als men bovendien nog in aanmerking neemt dat de lenskern tijdens het leven steeds grooter wordt, kan het lagere vitamine C-gehalte van lenzen van oude dieren geheel op rekening van de lenskern geschreven worden.

Voor het experimenteele onderzoek is het van groot belang, dat het vitamine C-gehalte van de deelen van het oog in beide oogen even groot is. Dit geeft de mogelijkheid om kunstmatig het vitamine-gehalte van één oog te beïnvloeden, terwijl het oorspronkelijk gehalte van dit oog afgeleid mag worden uit de waarden, die gevonden worden in het tweede oog.

Volgens bijna alle auteurs komt het vitamine C in de voorste oogkamer en de lens nagenoeg uitsluitend voor in den gereduceerden toestand. Een ander probleem, waarover op den huidige dag nog geen overeenstemming bestaat ten opzichte van de lens is de vraag, of de geheele gevonden reduceerende werking van het oogkamervocht en van een lensextract, volgens verschillende methoden bepaald, toegeschreven moet worden aan het vitamine C.

Zooals in het hoofdstuk over de bepaling van het vitamine C reeds meegedeeld werd, is de caviaproef de zekerste

manier, om de aanwezigheid van vitamine C aan te toonen.

Evans (6) was de eerste, die onderzocht, of de met de methode van Tillmans gevonden hoeveelheid vitamine C in de ooglen overeenkwam met de biologische werking. Zij kwam tot een negatief resultaat: de caviae, die bij het scheurbuikdiët 2.5 tot 5 Gram verse lens kregen, stierven eerder dan de caviae, die enkel het scorbuutdiët kregen.

Birch en Dann (7) kwamen bij toediening van gedroogd lenspoeder tot hetzelfde resultaat. De caviae, die bij hun diët het lenspoeder kregen, stierven gemiddeld eenige dagen eerder dan de caviae van de controlegroep. Deze onderzoekers controleerden echter ook, volgens de methode van Höjer, de tanden van de caviae, en kwamen toen tot de ontdekking, dat de caviae, die ook lenspoeder kregen, geen verschijnselen van scorbuut hadden. Zij schreven het vroegere sterven toe aan vergiftige stoffen in het lenspoeder en vonden een antiscorbutische werking, die ongeveer overeenkwam met $\frac{2}{3}$ gedeelte van de met de chemische methode gevonden hoeveelheden vitamine.

Kawachi (8) stelde vast, dat 5 cc. kamervocht, uit runderoogen verkregen, dagelijks aan het diët toegevoegd, caviae voor scheurbuik behoeden. Volgens titratie kwamen 5 cc. kamervocht overeen met 1 mG vitamine C.

H. v. Euler en M. Malmberg (9) konden ook een duidelijke biologische werking aantonen van verse runderlenzen. 1 à 2 runderlenzen daags aan het diët toegevoegd, gaf een duidelijke beschuttende werking. Van de 6 proefdieren stierven er 5 binnen 28 dagen, waarvan 4 aan pneumonie. Bij de sectie vertoonde geen dezer dieren eenig teeken van scheurbuik. Evenals Birch en Dann schrijven von Euler en Malmberg het sterven van de proefdieren toe aan een schadelijke lenswerking.

Bietti en Carteni (10) deden soortgelijke proeven. Ook zij konden biologisch de aanwezigheid van vitamine C in kamervocht en lenzen van runderen aantonen, maar de biologische werking was geringer dan de gevonden titratiewaarden zouden doen verwachten. De aanwezigheid van

stoffen in de lens, die voor de cavia vergiftig zouden zijn, wordt door hun uitkomsten niet bevestigd. Door deze, niet geheel eensluidende resultaten kwamen. Demole en Müller⁽¹¹⁾ er toe, de biologische werking van kamervocht en ooglens nog eens nauwkeurig te onderzoeken. Voor het kamervocht kwamen zij tot een zeer bevredigende overeenstemming tusschen de biologisch en chemisch gevonden hoeveelheden vitamine C. De dagelijksche injectie van 3 cc. kamervocht, die volgens titratie 0.5 mG. vitamine C bevatten, had zeker een even goede beschuttende bewerking als het toedienen van 0.5 mG. kristallijn vitamine C. Zij wijzen er terecht op, dat de injectie van het versche kamervocht nauwkeuriger is dan de orale toediening. Bij het bewaren loopt namelijk het gehalte aan vitamine in het kamervocht snel achteruit; na een half uur is dikwijls reeds 50 % geoxydeerd. Dit gevoegd bij de omstandigheid, dat de orale weg altijd meer kans geeft op onnauwkeurigheden, maakt de uitkomsten van Demole en Müller nog waardevoller.

Voor het onderzoek naar de biologische werking van de lens maakten Demole en Müller een met trichloorazijnzuur bereid extract uit lenzen, dat zij snel neutraliseerden en daarna subcutaan bij het proefdier inspoten. Dit extract gaf een duidelijke antiscorbutische werking. Het aantal proeven bleef tot één beperkt; deze cavia bleek met een dagelijksche dosis van 0.9 mG vitamine, volgens de titratieuitkomst berekend, volkomen beschut te zijn tegen scheurbuik. Uitdrukkelijk vermelden deze auteurs, dat deze proef niets zegt over de minimumdosis lensextract, die voldoende bescherming geeft. Als we in aanmerking nemen, ten eerste: dat bij de biologische proef rekening gehouden moet worden met een fout van 33 %; ten tweede: dat volgens verschillende auteurs, weliswaar 0.5 mG vitamine C per dag juist genoeg is om bij een cavia manifeste symptomen van scorbuut te voorkomen, maar ± 1 mG daags gegeven moet worden om gewichtsvermeerdering waar te nemen — de gewichtsvermeerdering was, volgens een bijgevoegde curve in het artikel van Demole en Müller zeer duidelijk — dan mogen we

met groote waarschijnlijkheid concludeeren, dat ook voor de lens een bevredigende overeenkomst tusschen de titratiewaarde en de biologisch gevonden waarde bestaat.

Behalve dit biologisch argument, zijn er nog andere ervaringen, die het hoogst aannemelijk maken, dat de gevonden reductiewaarden geheel berusten op de aanwezigheid van vitamine C.

Bij het onderzoek naar de reductiewaarden van de ooglenzen van caviae met verschijnselen van ernstige scheurbuik vonden verschillende onderzoekers (¹², ¹³, ¹⁴) deze reductiewaarde tot een minimum gereduceerd. Nu kan de tegenwerping gemaakt worden, dat tegelijk met het vitamine C ook mogelijk andere stoffen verdwijnen, die in de normale lens aanwezig zijn en bij de chemische bepaling storen. Deze opmerking is wel zeer hypothetisch, vooral omdat zulke storende stoffen in de lens nooit aangetoond zijn.

Vervolgens blijkt bij de methode volgens van Eekelen en Emmerie, — precipitatie met mercuriacetaat, gevolgd door reductie met H_2S — de gevonden waarde voor het vitamine C vrijwel overeen te komen met de waarde, die bij directe titratie van het trichloorazijnzure extract gevonden wordt. Dit wil zeggen: 1^o. dat al het vitamine C in de lens in gereduceerden toestand aanwezig is, en 2^o. dat de kans, dat er storende stoffen bij de titratie aanwezig zijn, uitermate beperkt is. Zooals vroeger reeds opgemerkt is, zijn adrenaline, glucoreductonen en reductinezuur tot nu toe de eenige gevonden stoffen, die storen bij de methode met mercuriacetaat. Voor de lens kan de mogelijkheid, dat adrenaline in eenigszins belangrijke mate aanwezig zou zijn, uitgesloten geacht worden. Hoewel de aanwezigheid van glucoreductonen voor de lens tot nu toe niet is aangetoond, zijn deze stoffen als foutenbron niet zeker uit te sluiten.

Alles te zamen brengen deze overwegingen ons tot de slotsom, dat, zoolang niet het tegendeel is aangetoond, het volkomen verdedigbaar is, om de bij chemisch onderzoek gevonden reductiewaarden geheel op rekening te stellen van het vitamine C.

Het spectrophotometrisch onderzoek is ook gebruikt om meer zekerheid op dit gebied te verschaffen. Voor het glasvocht en het kamervocht hebben van Eekelen c.s. (15) en Johnson (13) gevonden, dat er een goede overeenstemming bestaat tusschen de chemische en spectrophotometrische waarden. Door deze vondst is de zekerheid, dat de titratiewaarde alleen op vitamine C berust, nog gestegen. Voor de lens is deze overeenstemming niet gevonden, en Johnson (13) vond de titratiewaarde van de lens tweemaal zoo hoog als de spectrophotometrische. Johnson concludeert hieruit, dat de titratie veel te hooge waarden geeft. Nu zijn glasvocht en kamervocht onmiddellijk geschikt voor een spectrophotometrische meting, de lens echter niet. Bij het bereiden van een extract of dialysaat van lensbrij, dat voor een spectrophotometrische meting geschikt is, zijn vele langdurige bewerkingen noodig, ook in neutraal milieu, waardoor er volop gelegenheid is voor oxydatie van het vitamine C. Zoo gaat b.v. von Euler (16) als volgt te werk: 2.5 Gr. runderlens worden met 5 cc. water flink geroerd. Deze suspensie laat hij in cellophaanhulzen gedurende 2 uur tegen 15 cc. water dialyseeren, daarna wordt in het dialysaat de hoeveelheid vitamine C spectrophotometrisch bepaald. In deze 2 uur is zeker een aanzienlijk gedeelte van het vitamine C in deze neutrale omgeving geoxydeerd.

Het feit, dat de spectrophotometer een lagere waarde geeft, dan de titratie kan dan ook niet als argument aangevoerd worden, tegen de opvatting, dat de titratiewaarde geheel op vitamine C berust.

Bellows en Rosner (17) voeren nog een ander bewijs aan, dat de gevonden titratiewaarde van de lens geheel door vitamine C veroorzaakt wordt. De titratiewaarde van lensextract, bepaald met het reagens van Tillmans bij een p_{H} van 2, verdween geheel als zij op het lensextract eerst een oxydase uit meloenen, bereid volgens het voorschrift van Tauber en Kleiner, lieten inwerken. We hebben echter reeds vermeld, dat ook de oxydase van Tauber en Kleiner niet geheel specifiek is voor vitamine C. Ook Podestá en

B a u c k e (18) kwamen tot dezelfde ervaring bij het gebruik van een alcoholisch extract van sla als oxydase. Hoewel deze proeven dus geen algeheele zekerheid geven, tellen zij als waarschijnlijkheidsargument van groote waarde mee, om ons tot de gevolgtrekking te brengen, dat de titratiewaarde van de lens geheel als vitamine C berekend mag worden.

B. Het gehalte aan vitamine C van de ooglens en het kamervocht bij oogandoeningen en de experimenteele beïnvloeding van dit gehalte.

In 1934 deelde M ü l l e r (19) mede, dat het vitamine C gehalte van het kamervocht van aphake konijneogen sterk verminderd was. Ook bij stoornissen in het lensmetabolisme bleken de lenzen en het oogkamervocht veel minder vitamine te bevatten.

Deze mededeelingen waren het begin van een reeks onderzoeken en beschouwingen over het voorkomen, de herkomst en de functie van het vitamine C in de oogweefsels, het kamervocht en het glasvocht. In het kort samengevat zijn de resultaten van deze onderzoeken de volgende:

Cataract.

M o n j u k o w a en F r a d k i n (14) zagen bij scheurbuikcaviae in het laatste stadium geringe lenstroebelingen. Door een punctie van de voorste oogkamer was het optreden van deze troebelingen eerder waar te nemen. Zij schreven deze troebelingen aan het vitamine C-gebrek toe. J o h n s o n (13) en B i e t t i (20) vonden deze troebelingen niet, of slechts in zulken onbeteekenenden graad, dat ze als premortaal moeten worden opgevat.

In de rijpe staarlens, wordt, wat ook de oorzaak van de staar geweest is, geen of volgens sommigen hoogstens sporen vitamine C aangetroffen. Bij beginnende en niet volledig ontwikkelde staar worden verschillende waarden opgegeven: van normale hoeveelheden tot min of meer sterke vermindering, afhankelijk van het ontwikkelingsstadium van de

staar. De vitamine C-waarden in het kamervocht zijn bij rijpe staren zeer sterk verminderd, bij onrijpe staren vindt men dezelfde verhoudingen als in de lens: normale waarden of vermindering. Bij de experimenteele en medicamenteuze staar, door dinitrophenol, tetanie, galactose enz. veroorzaakt, is de waarde aanvankelijk normaal of slechts weinig verminderd; bij verdere troebelingen van de lens daalt het gehalte verder. (^{9, 10, 12, 13, 19 en 21—43.})

Aphakie.

Bij aphakie is het vitamine C-gehalte sterk verlaagd, met uitzondering van eenige gevallen, waar een nastaar na discisie bestond. In deze gevallen werden soms hogere tot normale waarden gevonden.

Ontstekingen en glaucoom.

Bij ontstekingen in het inwendige van het oog en bij glaucoma is het vitaminegehalte steeds lager dan in gezonde oogen. (^{10, 21, 23, 24, 26, 35, 44, 45.})

Punctie voorste oogkamer.

Het vitamine C gehalte van het 2e kamervocht is steeds lager dan dat van het eerste. De tijdsduur, waarna het kamervocht weer de normale hoeveelheid vitamine C bevat, is volgens verschillende auteurs eenige dagen tot een week. (^{10, 14, 23, 24, 26, 38, 44, 46, 47.})

Invloed van vitamine C-tekort en vitamine C-toediening.

Bij de cavia daalt het vitamine C-gehalte van ooglens en kamervocht bij een vitamine C-vrij diëet. In het laatste stadium van de scheurbuik ante exitum is geen vitamine C meer aanwezig. Toediening van vitamine C per os of parenteraal veroorzaakt bij de cavia en het konijn een sterke stijging van het vitamine in het kamervocht en in de lens. (^{12, 22, 44, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55.})

Bij de hond treedt deze verhooging na vitamine C-toevoer nagenoeg niet op; bij vitamine C-onthouding volgt bij de hond echter ook geen verlaging van het vitamine C-gehalte (²²). Ook iontophorese (⁵⁰) van een vitamine C-oplossing, oogbaden met vitamine C, (⁵⁷) indruppelen van vitamine C-oplossing en inbrengen van kristallijn vitamine C in den conjunctivaalzak veroorzaken een verhooging van het vitamine C-gehalte in de voorste oogkamer (³²).

Beïnvloeding van de barrière tusschen het bloed en het kamervocht.

Bij een grootere doorlaatbaarheid van de barrière tusschen bloed en kamervocht daalt het vitamine C-gehalte van het kamervocht volgens de meeste onderzoekers. Deze grootere doorlaatbaarheid kan behalve door punctie van de voorste oogkamer en ontsteking verkregen worden door verschillende stoffen: hypertonische zoutoplossing, subconjunctivaal of intraveneus toegediend, eserine, pilocarpine, theophylline (⁴⁶, ⁴⁸, ⁴⁹, ⁵⁸). Volgens sommige Italiaansche onderzoekers echter geven acetylcholine, eserine, pilocarpine, doryl, middelen die de parasympathicus prikkelen, een verhooging van het vitamine C-gehalte van het kamervocht. (⁵², ⁵⁹, ⁶⁰, ⁶¹).

Voor middelen, die den overgang tusschen het bloed en de voorste oogkamer bemoeilijken, geldt het volgende.

Adrenaline geeft geen vermeerdering van het vitamine C in de voorste oogkamer; het is echter wel in staat de verlagende werking van een hypertonische keukenzoutoplossing te neutraliseeren (⁴⁸, ⁴⁹, ⁵⁸). Atropine geeft wel een vermeerdering in het kamervocht, evenals electrargol (⁶², ⁶³).

Belichting.

De belichting van een oog met een lamp van 300 Watt op 50 cM. afstand, geeft een duidelijke stijging van het vitamine C-gehalte in het kamervocht (⁵¹).

Bestralingen met ultraviolet en infrarood licht veroorzaken een daling (²⁶, ⁶⁴, ⁶⁵, ⁶⁶).

Overlevende lens.

In de overlevende, geëxplanteerde lens, volgens de werkwijze de H a a n - B a k k e r, daalt het vitamine C-gehalte regelmatig. Wordt bij de voedingsvloeistof een hoeveelheid vitamine gevoegd, zoodat het gehalte daarin 20 mG % bedraagt, dan is na 20 dagen het gehalte van de lens ongeveer gelijk gebleven (⁸⁷).

Potentiaal.

Bij de cavia, die vitamine C-vrij gevoed wordt, stijgt de potentiaal van de lensvoervlakte t.o.v. de platina-electrode (⁶⁸).

C. De herkomst van het vitamine C in kamervocht en ooglens.

De voorstellingen, die men zich gevormd heeft over de wijze waarop het hooge vitamine C-gehalte in kamervocht en ooglens tot stand komt, kunnen in drie groepen worden gescheiden.

De eerste verklaring is die van M ü l l e r (¹⁹).

In het kamervocht van aphake konijneogenen vond M ü l l e r geen gereduceerd vitamine, wel den geoxydeerden vorm en wel in even groote hoeveelheid als in het bloed. Ook bij cataract kreeg hij dezelfde uitkomsten. Deze gegevens brachten Müller allereerst tot de gevolgtrekking, dat het geoxydeerde vitamine C uit het bloed in de voorste oogkamer difundeert. Door de activiteit van de lens zou de geoxydeerde in den gereduceerden vorm veranderd worden, en hiermee was de verklaring gegeven, waarom in de voorste oogkamer van normale oogen alleen de gereduceerde vorm van het vitamine voorkomt. Deze omvorming van het vitamine door de lens beteekent een waterstofafgifte, een dehydratie. Het geoxydeerde vitamine C, dat via het bloed in het kamervocht komt, is dan een waterstofacceptor, en zoo zou het vitamine C een belangrijke stof zijn voor de lensademhaling.

Korten tijd later kon M ü l l e r aantonen (²⁸), dat kalfs-

lenzen, die gedurende 5 uren in oogkamervocht bij een temperatuur van 37° bewaard werden, een remmenden invloed uitoefenden op de snelheid van de oxydatie van het vitamine C in het kamervocht, wat ook weer op een dehydreeerende werking van de lens wees. Bij jonge kalfslenzen vond Müller (69) verder na bebroeding van deze lenzen in een Ringer-Locke-oplossing, waaraan glucose toegevoegd was, een kleine vermeerdering van het vitamine C; deze vermeerdering kwam op rekening van den dehydrovorm van het vitamine C. Hierdoor meende Müller experimenteel aangevoerd te hebben, dat de lens in staat was uit andere stoffen vitamine C te maken, en hieruit mocht de gevolgtrekking getrokken worden, dat het hooge gehalte aan vitamine C in lens en voorste oogkamer in verband met de productie door de lens van het vitamine C staat.

Ondertusschen had Fischer (70) de mogelijkheid van het ontstaan van het vitamine C bij de lensstofwisseling theoretisch aannemelijk gemaakt. De lens verbruikt zuurstof en glucose en geeft melkzuur en koolzuur af. De opgenomen suiker wordt ten deele verbrand, waarbij koolzuur en water ontstaan; ze wordt voor een ander, grooter gedeelte door glycolyse gesplitst in melkzuur. Bij het berekenen van de hoeveelheden verbruikte suiker en zuurstof eenerzijds, en van de afgegeven melkzuur en koolzuur aan de andere zijde, kon Fischer een balans van de energie-stofwisseling van de lens opstellen (71). Hierbij bleek er een zuurstoftekort, of, wat hetzelfde is, een suikeroverschot te zijn. Dit wil zeggen: het verbruik van suiker door de lens is grooter, dan de som van de hoeveelheid suiker, die glycolytisch gesplitst wordt berekend uit de melkzuurproductie — en de hoeveelheid suiker, die verbrand wordt — berekend uit het zuurstofverbruik en de koolzuurproductie. Dit suikeroverschot zou nu de bron kunnen zijn, waaruit het vitamine C ontstaat. Het ontstaan van vitamine C uit suikers was reeds eerder waarschijnlijk gemaakt (72). Door dehydratie van een suikermolecuul zou het vitamine C kunnen ontstaan. In de lens komt ook het glutathion voor, zoowel in gereduceerden als

in geoxydeerden toestand, en werkt daar als een reversibel oxyreductiesysteem. De geoxydeerde vorm gaat door opname van waterstof in den gereduceerden toestand over, en omgekeerd.



Nu dacht Fischer aan de mogelijkheid, dat suiker onder afgifte van waterstof aan geoxydeerd glutathion zou kunnen worden omgevormd tot vitamine C.



Het ontstaan van vitamine C uit suiker was een bevredigende oplossing om het bovenvermelde suikeroverschot in de energiehuishouding van de lens te verklaren. Naar aanleiding van de hypothese van Fischer heeft Müller (73) een onderzoek ingesteld naar de vermeerdering van het gereduceerde glutathion in de kalfslenzen, bij welke hij een vermeerdering van het vitamine C had vastgesteld. Voor kalfslenzen gelukte het hem een vermeerdering van gereduceerd glutathion min of meer overtuigend aan te toonen.

Tegenover de bovengeschetste verklaring van het hoge vitamine C-gehalte van kamervocht en lens door de lensactiviteit met gelijktijdige toekenning van een ondergeschikte beteekenis aan het vitamine, dat in het bloed aanwezig is, staan de opvattingen van Goldmann en Buschke (48, 74).

In een reeks proeven hebben deze schrijvers het zeer aanmerkelijk gemaakt, dat het vitamine C van het bloed de hoofdbron is van het vitamine in kamervocht en lens, terwijl de mogelijkheid van een productie door de lens door hen, hoewel niet ontkend, geheel op den achtergrond gedrongen wordt.

De voorstellingen van Goldmann en Buschke zijn zeer populair geworden, en nagenoeg alle schrijvers over vitamine C in de oogheelkundige literatuur hebben tot den huidigen dag de theorie van Goldmann en Buschke overgenomen. Dit tezamen met het feit, dat een gedeelte van het

later te vermelden experimenteele onderzoek in direct verband staat met deze proeven, zijn de redenen, dat de theorie en de proeven van Goldmann en Buschke uitvoeriger besproken zullen worden.

Allereerst vermelden Goldmann en Buschke een verbetering in de techniek van de bepaling van het vitamine C in de voorste oogkamer. Het gereduceerde vitamine wordt in het voorste oogkamervocht snel geoxydeerd, wanneer na een punctie het vocht in aanraking komt met de zuurstof van de lucht. Om deze oxydatie tot een minimum te beperken, gebruikten Goldmann en Buschke een dunne pipet, waarmede de hoeveelheid vocht tot op $\frac{1}{500}$ cc. kon worden gemeten. De ijking ging tot aan de punt en deze punt is zoo geslepen, dat er een kleine naald op past. Met deze pipet voorzien van een naald wordt de voorste oogkamer gepuncteerd. Het vocht stroomt onmiddellijk in de pipet, de hoeveelheid kan dan zeer nauwkeurig afgelezen worden en daarna wordt de inhoud uitgeblazen in een schaalte met trichloorazijnzuur. Dit mengsel wordt hierna met het reagens van Tillmans getitreerd. Met deze wijze van werken is het tijdsverloop tusschen punctie en titratie tot eenige seconden beperkt, en het contact tusschen het vocht en de zuurstof van de lucht minimaal, dus de kans op oxydatie van het vitamine zeer gering. Goldmann en Buschke deden hun proeven op konijnen. Zij schonken vooral hun aandacht aan de functie van de barrière tusschen het bloed en de voorste oogkamer. De doorlaatbaarheid van deze barrière kan groter en kleiner gemaakt worden. Deze veranderingen in doorlaatbaarheid werden gecontroleerd door bepaling van het eiwitgehalte in het kamervocht en door het meten van den tijd, die verliep tusschen een intraveneuze inspuiting van een fluoresceïne-oplossing en het oogenblik, waarop de fluoresceïne in de voorste oogkamer kon worden waargenomen.

Een subconjunctivale inspuiting van een hypertonische keukenzoutoplossing veroorzaakte een voorbijgaande, duidelijke daling van het vitaminegehalte van het kamervocht. Uit de fluoresceïneproef bleek, dat deze daling nauw ver-

bonden was aan de vergroote doorlaatbaarheid van de barrière.

Indruppeling in den conjunctivaalzak of subconjunctivale insputing van een adrenalineoplossing gaf geen verhooging van het vitaminegehalte in het kamervocht, hoewel uit de fluoresceïneproef bleek, dat de barrière minder doorlaatbaar was geworden. Een sterke adrenalineoplossing gaf zelfs vermindering van het vitaminegehalte in het kamervocht. Het toedienen van adrenaline was wel in staat de bovenvermelde werking van een hypertonische keukenzoutoplossing te neutraliseeren; er was n.l. bij gecombineerde toediening van adrenaline en een hypertonische keukenzoutoplossing geen duidelijke verandering van het vitaminegehalte van het kamervocht.

Een intramusculaire injectie van theophylline — een stof, die de doorlaatbaarheid van de barrière vergroot — verlaagt de vitaminespiegel in het kamervocht. Deze serie proeven brachten de schrijvers tot de meening, dat in het normale oog de overgang van het gereduceerde vitamine naar het bloed en de omgevende weefsels zeer moeilijk is en dat bij opening van de sluisen — de kunstmatige vergrooting van de doorlaatbaarheid van de barrière — het vitaminegehalte van het kamervocht daalt.

Naar aanleiding van de uitkomsten van een tweede serie proeven bespreken Goldmann en Buschke de herkomst van het vitamine C in het kamervocht. Bij deze proeven werd bij konijnen 50 à 150 mG vitamine C intraveneus ingespoten, of kregen de konijnen peroraal dagelijks 50 mG vitamine bij een scheurbuikdiët. Van te voren hadden deze onderzoekers gevonden, dat in het bloed van het konijn alleen de geoxydeerde vorm van het vitamine C voorkomt. De ingespoten hoeveelheid veroorzaakte wel een kortdurende periode, waarin zij gereduceerd vitamine in het bloed vonden en tevens een stijging van den geoxydeerden vorm, maar ondanks deze matige vermeerdering bleef het vitaminegehalte in het bloed ver beneden de normale concentratie van het vitamine in het kamervocht.

Als normale waarde van het geoxydeerde vitamine in het bloed werd 1 à 2 mG % gevonden. De intraveneuze inspuiting van vitamine C veroorzaakte een geringe stijging in het bloed en een urenlange zeer groote stijging in het kamervocht. Na het verdwijnen van den gereduceerden vorm uit het bloed na de injectie — ongeveer na $\frac{1}{2}$ uur — bleef het gehalte in de voorste oogkamer nog stijgen. Na ongeveer 2 uur is de vitaminehoeveelheid in het kamervocht op haar maximum, dat eenige uren blijft bestaan. Daarna daalt het gehalte in het bloed en het kamervocht en is na ongeveer 48 uur weer normaal.

Bij de perorale toediening stijgt het gehalte in het bloed matig, in het kamervocht weer sterk. In het bloed werd de gereduceerde vorm na perorale toediening niet gevonden. De stijging in het bloed is ongeveer evenredig aan die van het kamervocht; dit wil zeggen: bij een verdubbeling b.v. van de bloedwaarde, dit is dus bij een stijging van 1 à 2 mG %, verdubbelt ook de hoeveelheid vitamine in het kamervocht; dit beteekent een stijging van 15 à 25 mG %.

De verklaring van deze resultaten was de volgende. Het geoxydeerde vitamine C van het bloed gaat gemakkelijk in de voorste oogkamer over. Door de lens wordt deze geoxydeerde vorm in den gereduceerden overgebracht en deze vorm kan zeer moeilijk of in het geheel niet de voorste oogkamer verlaten. Hoe meer geoxydeerd vitamine door het bloed geleverd wordt — dit is afhankelijk van het bloedgehalte — des te hooger is de hoeveelheid in het kamervocht.

De schrijvers komen dus tot een merkwaardige permeabiliteit van de barrière tusschen bloed en kamervocht. Deze barrière zou vlot doorgankelijk zijn voor het dehydroascorbinezuur, en zeer weinig of in het geheel niet doorlaatbaar voor den gereduceerden vorm in de richting kamervocht-bloed. Volgens deze voorstelling is het duidelijk, dat een gedeelte van het gereduceerde vitamine op een of andere manier uit het kamervocht moet verdwijnen, anders zou het gehalte door voortgaande levering van geoxydeerd vitamine door het bloed, gevolgd door reductie door de lens, op den

duur tot in het oneindige moeten stijgen. Deze geringe verdwijning van het vitamine uit het kamervocht zou kunnen gebeuren of door zeer langzame diffusie door de barrière, of door afbraak van het vitamine door de zuurstof, die in het kamervocht opgelost is.

De instandhouding van het hoge vitaminegehalte in het kamervocht vereischt:

10. Een geregelde levering van geoxydeerd vitamine C door het bloed.
20. Een normale lenswerking, die deze geoxydeerde vorm in den gereduceerden omvormt.
30. Een goede afsluiting door de barrière, zoodat het gereduceerde vitamine niet of slechts zeer langzaam uit het kamervocht kan ontsnappen.

Deze theorie verklaarde alle pathologische en experimentele waarnemingen omtrent het vitamine C-gehalte van lens en voorste oogkamer: bij scheurbuik van de cavia daalt het kamervochtgehalte, omdat het bloed niet genoeg levert. Een verhoogde toevoer geeft een evenredig groote stijging. Bij aphakie en bij minder goede functie van de lens bij cataract daalt de waarde. Bij grootere doorlaatbaarheid van de barrière daalt het gehalte, b.v. bij onstekingen, na punctie van de voorste oogkamer, na inspuiting van hypertone zoutsolutie. Een grootere afdichting van deze barrière door adrenaline geeft echter geen stijging, het gebruik van een sterkere adrenalineoplossing geeft zelfs een daling, omdat door de verminderde bloedstoevoer de levering van den geoxydeerden vorm van het vitamine in het gedrang komt. Men ziet: de mogelijkheid van de productie van vitamine C door de lens is in deze voorstelling van zaken absoluut overbodig om het hoge vitamine C-gehalte in kamervocht en lens te verklaren.

Een derde verklaring van de aanwezigheid van de grootere vitamine C-concentratie geeft *Bonsignore* (51).

Na belichting van een oog van een konijn met een lamp van 300 Watt, bleek in het kamervocht van dit oog het vitamine C gehalte aanmerkelijk gestegen te zijn. Werd het

oog voor de belichting met atropine ingedruppeld, dan was er geen stijging waar te nemen. De vermeerdering na belichting, die bij het geatropiniseerde oog uitblijft, schrijft Bonsignore toe aan de miosis, die bij de belichting optreedt. Deze miosis wordt veroorzaakt door een prikkeling van den parasympathicus. Deze parasympathische prikkeling verhoogt de werkzaamheid van het epitheel van het corpus ciliare, en daar het geoxydeerde vitamine C van het bloed, dat uit het corpus ciliare in het kamervocht overgaat, door het ciliairepitheel gereduceerd zou worden, ontstaat bij belichting een vermeerdering van het vitamine C, die na atropinisatie niet optreedt. Ook bij parasympathische prikkeling langs pharmaceutischen weg — door acetylcholine, eserine, pilocarpine en doryl — vond Bonsignore een vermeerdering van het vitamine C in de voorste oogkamer. Een intraveneuze injectie van vitamine C gaf in een geatropiniseerd oog een geringere stijging dan in het normale controle-oog. Dit komt, volgens Bonsignore, omdat atropine, door verlamming van den parasympathicus, de reduceerende werking van het ciliairepitheel vermindert.

Ciotola⁽⁵²⁾ vond na intraveneuze inspuiting van vitamine C in een aphaak konijnenoog een grootere stijging van het vitamine C-gehalte dan in het bloed. Ook dit wordt verklaard door de reduceerende werking van het ciliairepitheel; de werking van de lens is niet noodig voor de stijging van het vitaminegehalte in de voorste oogkamer.

Was echter in het aphake oog bij de discisie van het oog het ciliairepitheel beschadigd, dan steeg in zoo'n oog het vitamine C-gehalte niet. Deze ervaring was voor Ciotola een nieuw argument, om in de activiteit van het ciliairepitheel de oorzaak te zien van het hoge vitaminegehalte in de voorste oogkamer.

Tenslotte moet nog vermeld worden de combinatietheorie van Podestà en Baucke⁽¹⁸⁾, die als reden voor het hoge gehalte aan vitamine C in het kamervocht denken aan nieuwvorming van het vitamine door de lens en aan levering door het bloed.

Opzettelijk heb ik deze in de literatuur aangetroffen hypothesen zoo getrouw mogelijk weergegeven, en mij van elke critiek onthouden. Deze hypothesen waren n.l. voor mij aanleiding tot een uitgebreid onderzoek, waarin ik getracht heb hun juistheid te toetsen. Daarom zal ik mij aan het eind van Hoofdstuk VI opnieuw met deze hypothesen bezig houden na de beschrijving van mijn experimenten en de resultaten daarvan.

HOOFDSTUK III.

Het vitamine C in de oogheelkundige therapie.

Dat van het vitamine C na zijn ontdekking groote therapeutische verwachtingen werden gekoesterd, volgt uit hetgeen tot nu toe is gezegd. Het zou een gunstigen invloed kunnen uitoefenen op intra- en extra-oculaire bloedingen en andere oogafwijkingen, daar het een gewichtige functie heeft in het metabolisme van het oog, te meer, omdat bekend is, dat bij aandoeningen van het netvlies en van de lens, bij oogontstekingen en bij glaucoma het normale hooge gehalte aan vitamine C sterk vermindert.

Van een zoo sterk oxyreductiesysteem was ook een gunstige invloed te verwachten bij bepaalde extra-oculaire ontstekingen, b.v. bij keratitis en conjunctivitis, bij welke door middel van vitale kleuring aangetoond is, dat bij ontsteking van deze weefsels de oxyreductie-processen verminderen. Verder is bekend, dat hoogstwaarschijnlijk tengevolge van zijn oxyreductiepotentiaal het vitamine C in staat is te ontkleuren, een factor, die bij artificieele verkleuringen van het oog: siderosis, chalcosis, argyrosis, melanosis, van beteekenis zou kunnen zijn.

Maar ook in ander opzicht was van het vitamine C iets gunstigs te verwachten. In de oogheelkundige therapie wordt een voortdurende strijd gevoerd tegen het bederf van de gebruikelijke geneesmiddelen, iets wat in den tegenwoordigen tijd van groote beteekenis is.

Een toevoeging van een kleine hoeveelheid vitamine C aan een adrenaline-houdende oplossing, beschermt het adrenaline voor oxydatie, verhindert ook de verkleuring door afbraakproducten van het eserine, belet het achteruitgaan van vitamine A-houdende medicamenten en tenslotte het hinderlijke verkleuren van een heele reeks van zalfcombinaties, waarop de oogarts is aangewezen.

Met dit korte overzicht zijn de therapeutische mogelijkheden niet uitgeput, en in dit hoofdstuk zal blijken, dat er bijna nog geen begin is gemaakt met het uitbuiten der therapeutische mogelijkheden, en dat de eerste stappen, die op dit gebied zijn gezet, niet op de meest gewenschte manier zijn gedaan.

Müller en na hem vele anderen vonden, dat het vitamine C gehalte van de lens en het kamervocht bij staar sterk verminderd was. Goldmann en Buschke (1) overwogen de mogelijkheid, dat het lagere gehalte aan vitamine C, veroorzaakt door de vergroote doorlaatbaarheid van de barrière bij ontstekingen, van groote beteekenis kan zijn bij het ontstaan van de cataracta complicata.

Monjukowa en Fradkin (2) deelden mede, dat zij bij vitamine C-vrij gevoede caviae ante exitum met de spleetlamp cataracteuze veranderingen in de lens waargenomen hadden.

Deze mededeelingen zijn voor vele onderzoekers aanleiding geweest, het vitamine C als geneesmiddel voor de staar te beproeven.

De resultaten van deze proefnemingen kan men summarisch aldus samenvatten: zij hebben geen succes opgeleverd. Hier herhaalt zich een verschijnsel, dat de oogheekunde helaas al te vaak heeft te zien gegeven. Een aanvankelijk zeker goed bedoeld optimisme van ernstige onderzoekers onttaardt in onbegrijpelijk korten tijd tot polypragmasie. Hetzij dat het woord staar de verbeelding prikkelt, hetzij dat de medicamenteuze genezing van de staar een niet uit te roeien wensch is, steeds was de cataract het operatieterrein van twijfelachtige en overdreven therapeutische bemoeienissen.

Bijna tien jaar geleden werden in het Zentralblatt (3) de toentertijd moderne staargeneesmiddelen en vooral de manier, waarop vermeende resultaten van staartherapieën verkregen werden, aan de kaak gesteld en nu herhaalt zich weer hetzelfde met het vitamine C. Op de meest primaire eischen voor een eenigszins bruikbaar onder-

zoek, wordt geen acht geslagen. De aantallen van de behandelde staarpatienten zijn veel te gering: de publicatie van P a v í a ⁽³⁾ gaat over 10 gevallen; de gevallen zijn te kort onderzocht, er wordt alleen een verbetering van de visus opgegeven, en absoluut onbeteekenende veranderingen van de visus worden als verbeteringen vermeld, b.v. een verandering van de visus van 5/10 op 5/6.6 en van 5/15 op 5/10. Veranderingen van de belichting, verschillen in pupilwijdte, de psychische factor, kortom alle factoren, die mede van invloed zijn op de praktische gezichtsscherpte, kunnen deze onbeteekenende veranderingen tot stand brengen, zonder veranderingen in de lens. Zelfs bij het voortschrijden van de staar kunnen verbeteringen van de gezichtsscherpte optreden, doordat bij het ondoorschijnender worden van een gedeeltelijke troebeling de storende strooiing vermindert. Verder moet men rekening houden met den eisch, dat in een goede statistiek niet alleen de gunstige, maar ook de ongunstige gevallen opgenomen moeten worden, en deze laatste gevallen zijn voor de beoordeeling van het geheel van groote betekenis. Essentieel is, dat over toestand en veranderingen van de lens alleen dan een goed inzicht is te verkrijgen, wanneer geregeld met niet te korte tusschenpoozen nauwkeurige teekeningen van het spleetlampbeeld worden uitgevoerd, en deze teekeningen onderling vergeleken worden. Geen enkele van de publicaties over de gunstige uitwerkingen van het toedienen van vitamine C bij cataract voldoet aan deze eischen ^(3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

Men begrijpe mij goed, ik kies geen partij voor die groep van oogheelkundigen, waarvan Vogt de meest vooraanstaande vertegenwoordiger is, die iedere therapie voor de cataracta senilis als doelloos bestempelen, en alle pogingen en onderzoek in deze richting als tot mislukking gedoemd verwerpen.

In een uitvoerige studie over de overerving van ouderdomsverschijnselen bij eenige tweelingen ⁽¹¹⁾ komt V o g t tot de slotsom, dat niet alleen het verkrijgen van de ouderdomsstaar, maar ook de tijd van optreden, de vorm en de

verdere ontwikkeling van deze staar alleen door erfelijke factoren bepaald wordt. De biochemische onderzoeken van de lens zullen nooit in staat zijn, een nader inzicht te geven in deze erfelijke eigenschappen, evenmin als de chemische analyse van de oogzenuw ooit in staat zal zijn verdere ophelderingen te geven over het wezen van de Leber'sche atrophie. Daarvoor zouden de stoffen in de kiemcellen, die de dragers zijn van deze erfelijke eigenschappen, nauwkeurig geanalyseerd moeten worden, en van deze onmogelijkheid is wel ieder overtuigd — aldus Vogt.

Aan den anderen kant staat een groep onderzoekers, waarvan Müller de voorman genoemd mag worden, en die met alle hulpmiddelen van de moderne biochemie iets te weten trachten te komen van de levensvoorwaarden en de stofwisseling van de lens. Men moet niet vergeten, dat eerst sedert korten tijd de eerste stappen op dezen moeizamen weg zijn gezet en ook mag men het dezen onderzoekers niet euvel duiden, dat zij, na een ontdekking van een nooit vermoede eigenschap, op een dergelijke vondst paraphraseeren en mogelijkheden in het verschiet zien, waarvan de verwezenlijking nog verre is (12).

Het standpunt van Vogt is kernachtig samengevat in zijn uitspraak: „Das Erbgut lässt sich zwar schädigen und zerstören, es lässt sich aber nicht bessern” (13). In het vuur van zijn verdediging van deze stelling geeft Vogt echter zijn tegenstanders een kostelijk wapen in handen, wanneer hij zegt, dat bij den erfelijken vorm van diabetes wel het hoofdsymptoom door insuline te bestrijden is, maar dat deze ziekte niet medicamenteus te genezen is. Als we dezen gedachten-gang overbrengen op de seniele cataract — aangenomen met Vogt, dat deze staar alleen door erfelijke factoren bepaald wordt — en als we dan zouden kunnen zeggen: bij de seniele cataract kan wel het hoofdsymptoom, de lens-troebeling, bestreden worden, maar zij is niet te genezen, wat zou de wetenschap dan een opzienbarend succes behaald hebben.

Ook Krause (14) kan zich niet vereenigen met het

therapeutisch nihilisme van Vogt en wijst op de erfelijke vormen van hypothyroidisme en xeroderma pigmentosum, waarbij niemand zal nalaten de bekende therapie toe te passen, ook al hebben we geen idee, hoe deze erfelijke eigenschappen in de kiemcellen aanwezig zijn.

Bovendien haalt Krause verschillende voorbeelden van geslaagde experimenteele beïnvloeding van erfelijke eigenschappen aan.

De afwijzende houding van Vogt zal de onverdroten onderzoekers in hun werkzaamheid niet remmen, maar waarschijnlijk zullen onze inzichten in de ontwikkeling van de ouderdomsstaar nog aanzienlijk verdiept moeten worden, voordat therapeutisch het ontstaan of het voortschrijden van deze staar gunstig beïnvloed kan worden. Eerst dan zal het schijnbare gelijk van Vogt in een duidelijk ongelijk veranderen.

Op een hooger niveau dan de mededeelingen over gunstige resultaten met de vitamine C-therapie bij de conservatieve behandeling van de staar, staan die onderzoekingen, die uitgevoerd werden met de bedoeling een nader inzicht te verkrijgen in de vitamine C-stofwisseling bij staarpatiënten. Deze onderzoekers hebben niet het vitamine C met therapeutische bedoelingen toegediend, maar hebben bij cataractpatiënten bloed- en urineonderzoekingen uitgevoerd en de verzadigingswaarde bepaald. Zij kwamen tot uiteenlopende gegevens, en de schrijvers, die een gestoorde vitamine C stofwisseling vonden, kwamen tot deze conclusie, deels omdat het materiaal niet goed gekozen was, zooals b.v. bij Seefried⁽¹⁵⁾ het geval is, wiens controlepatiënten aanmerkelijk jonger waren dan de staarpatiënten, deels doordat sommigen te kleine verschillen in bloedwaarden en verzadigingswaarden als bewijzend beschouwden voor een bestaande stoornis in de vitamine C-stofwisseling bij staarlijders^(4, 5, 15, 16). Verschillende anderen vonden echter geen verschillen in de vitamine C-huishouding tusschen staarpatiënten en normale controlepersonen van denzelfden leeftijd^(17, 18, 19, 20, 21). Toch leek het mij noodzakelijk een onderzoek in deze richting

in te stellen, waarvan de resultaten in het volgende hoofdstuk zullen meedeeld worden.

Ook bij andere oogandoeningen is het vitamine C als therapeuticum toegediend en ook hier komen de verhoudingen ongeveer overeen met hetgeen boven voor de staartherapie is geschetst.

Het ligt voor de hand, dat men bij bloedingen in en om het oog vitamine C heeft toegediend, maar slechts zelden zal in den tegenwoordigen tijd het vitamine C zoo dringend aangewezen zijn als in het geval van Shapiro en Hurwitz (22), die netvliesbloedingen waarnamen als symptoom van een infantiel scorbuut.

Het is opvallend, dat tot nu toe met betrekking tot een zoo frequent ziektebeeld als de recidiveerende juveniele glasvochtbloeding, zoo weinig mededeelingen zijn gedaan over een gunstige werking van het vitamine C (23). Ten aanzien van bloedingen tijdens en na operaties, bij netvliesprocessen, bij diabetes, bij glaucoma, bij traumata en verder bloedingen, die, zooals bekend, frequent voorkomen bij alle mogelijke intraoculaire ontstekingen, vermeldt de literatuur bijna niets omtrent het gevolg van een behandeling met vitamine C (24, 25). Door het vrijwel ontbreken van mededeelingen over gunstige resultaten met vitamine C-therapie bij deze bloedingen steekt de oogheelkundige literatuur gunstig af bij die op intern gebied, waarin na de ontdekking van het vitamine C een zeer groot aantal mededeelingen te vinden zijn, die het vitamine C als een therapeuticum met gunstige werking bij allerlei bloedingen aanprijzen. Dit enthousiasme heeft voor de nuchtere werkelijkheid plaats gemaakt: het vitamine C heeft alleen een zekere gunstige invloed op bloedingen voor zooverre deze verband houden met scheurbuik.

De gunstige resultaten, die bij conjunctivitis vermeld worden, behoeven op zijn minst nog een nadere bevestiging (26, 27).

Een enkele publicatie, waarbij het vitamine C een gunstige werking bij netvliesloslating zou gehad hebben, kan geheel buiten beschouwing blijven (4).

Tenslotte wordt het vitamine C uit theoretische overwegingen gegeven bij ontstekingen en na anti-glaucomeuze operaties. Hierbij wordt gedacht aan het verlaagde vitamine C-gehalte in het kamervocht, dat in deze gevallen bestaat door een grotere doorlaatbaarheid van de barrière van de voorste oogkamer. Door toediening van vitamine C tracht men het gehalte van vitamine C te verhoogen en zoo een mogelijke nadeelige werking op de lens te voorkomen (28).

Kort geleden is een gunstig resultaat meegedeeld over de vitamine C-therapie naast het dichlooramine bij mosterdgasveretsing van het oog. De genezingsduur zou bij gelijktijdig toedienen van het vitamine zeer bekort worden. Ook deze ervaring behoeft een nader statistisch onderzoek (29).

HOOFDSTUK IV.

Eigen onderzoek over het vitamine C gehalte van het bloed bij gezonden en ooglijders, en van het kamervocht en de ooglens bij eenige oogziekten.

Om een inzicht te krijgen in de beteekenis, die de verzorging van het organisme van ooglijders met het vitamine C kan hebben voor hun oogaandoening, leek het mij gewenscht, het gehalte van het vitamine C in het bloed te bepalen. Zooals reeds vroeger is medegedeeld, is de bepaling van het vitamine C-gehalte in het bloed een betrouwbare en tevens de eenvoudigste manier om dit inzicht te verkrijgen. Aangezien alle patienten in het Nederlandsch Gasthuis voor Ooglijders, ook als zij later klinisch verpleegd worden, de polycliniek passeeren, heb ik gedurende eenige maanden dagelijks bij vier polycliniekbezoekers het vitamine C-gehalte van het bloed bepaald.

Om een inzicht te krijgen in de vitamine C-verzadiging van polycliniekbezoekers met gezonde oogen, heb ik eerst bij een aantal patienten, die wegens refractieafwijkingen de polycliniek bezochten, het bloedgehalte aan vitamine C bepaald volgens de methode Emmerie-van Eekelen. Deze gevallen heb ik in 8 leeftijdsgroepen verdeeld van 0 tot 80 jaar. Van elke leeftijdsklasse werden 15 menschen onderzocht.

Hoewel de individueele waarden in iedere groep groote schillen vertoonden, waren duidelijke groepsverschillen niet aantoonbaar. Gemiddeld vond ik een vitamine C-gehalte van het bloed van 0.7 mG %. De laagste waarde was 3.2, de hoogste 14.8 mG %. Men moet bij deze uitkomsten rekening houden met de bevolkingsklassen, waaruit de patienten gerecruteerd worden; de beter gesitueerden en de minstbedeelden zijn bijna niet vertegenwoordigd.

Berekent men behalve de gemiddelde waarde de middelbare afwijking van deze gemiddelde waarde, dan krijgt men

een zeer regelmatige verdeelingskromme met een binomiaal karakter, symmetrisch aan weerszijden van de gemiddelde waarde gelegen; dit beteekent, dat grootere afwijkingen van deze waarde zeldzaam waren. Hypovitaminosen — waarden beneden 0.4 mG % — en de toestand van verzadiging — 1.2 mG % en daarboven —, kwamen weinig voor.

Na dit vooronderzoek, dat tevens diende om de noodige routine in de vitamine C-bepaling te verkrijgen, heb ik bij alle cataractpatienten, die in 1938 en 1939 in de kliniek kwamen, het vitamine C-gehalte van het bloed onderzocht. Ik kan over de uitkomsten van dit gedeelte van het onderzoek zeer kort zijn. De groep cataractlijders vertoonde in zijn geheel geen verschil met de polycliniekbezoekers met gezonde oogen. Dit resultaat komt overeen met de uitkomsten van N a s t r i (1), K a r b a c h e r (2), B e r t o l d i (3), H a w l e y (4) en U r b a n e k (5), die in tegenstelling met S e e f r i e d (6), B e l l o w s (7) en S i l v a en N o v a i s (8), bij cataractlijders geen gestoorde vitamine C stofwisseling vonden. De verschillen in de verzadiging met vitamine C tusschen cataractlijders en gezonde personen zijn bovendien bij de laatste groep schrijvers zeer gering; hun conclusies over het bestaan van een hypovitaminose bij cataractlijders schijnen mij dan ook niet voldoende gefundeerd.

Het materiaal, dat ik statistisch verwerkt heb, is in zeker opzicht eenzijdig, omdat het alleen van polycliniekbezoekers stamt, waaronder de beter gesitueerden en de paupers bijna niet voorkomen. De kans op excessieve waarden naar de gunstige en ongunstige zijde is hierdoor geringer.

Ook bij patienten met intraoculaire bloedingen heb ik geen verschillen gevonden in den verzadigingstoestand van het organisme met vitamine C ten opzichte van de controlegroep.

Verder heb ik bij 30 patienten, lijdende aan chronische iridocyclitis, het vitamine C-gehalte van het bloed bepaald. Het betrof hier meestal tuberculeuze aandoeningen, en ik kwam tot uitkomsten, die in niets verschilden van die van

TABEL 1.

Aard der aan doening.	Aantal gevallen	Gemiddeld vit. C-gehalte v. h. bloed in mG %	Hoogste waarde in mG %	Laagste waarde in mG %
Juvenile glasvochtbloeding . .	10	0,72	1,41	0,41
Retinitis hypertensiva	12	0,68	1,07	0,49
Retinitis diabetica	7	0,73	1,23	0,43
Retinitis tuberculosa	10	0,68	1,14	0,56
Traumata	18	0,71	1,07	0,57
Bloedingen bij netvliesloslating	2	0,8	0,94	0,66
Glaucoma haemorrhagicum . .	4	0,67	1,02	0,52
Retinitis anaemica	1	0,63	—	—

de controlegroep, van de patienten met intraoculaire bloedingen en de cataractpatienten.

Tenslotte heb ik nog met precies hetzelfde resultaat bij patienten met verschillende vormen van keratitis, keratoconjunctivitis eczematosa, netvliesaanandoeningen, ook met ablatio retinae, chorio-retinitiden bloedbepalingen gedaan, zonder afwijkingen ten opzichte van de controlegroep te vinden.

Al deze uitkomsten leiden in hun geheel tot de conclusie, dat geen verband bestaat tusschen de opgesomde oogafwijkingen en het gehalte aan vitamine C in het bloed van deze patienten.

Men mag zich de situatie als volgt voorstellen:

Het bloed is een transportmiddel, en kan vergeleken worden met een spoorwag; de op een gegeven oogenblik bepaalde hoeveelheid vitamine C in het bloed met de hoeveelheid van een of ander artikel, dat in een goederentrein aanwezig is. Wanneer men constateert, dat altijd dezelfde hoeveelheid van het artikel in den trein aanwezig is, kan men nooit een inzicht krijgen in den aanvoer, het verbruik, de productie en de opstapeling van dit artikel van het geheele gebied van het net en zeker niet van bepaalde plaatsen. En als we nog verder deze beeldspraak voortzetten, dan

mogen wij het oog een klein station noemen; om de behoefte van het oog aan vitamine C te peilen, moet een fijnere test gebruikt worden dan de bepaling van het bloedgehalte aan vitamine C.

Maar de uitkomsten van het bloedonderzoek leeren ons nog iets anders en wel, dat de aandoeningen, die hierboven genoemd zijn, als plaatselijke afwijkingen moeten worden beschouwd, die door de vitamine C-voorziening van het organisme niet beïnvloed worden, en omgekeerd op die voorziening geen invloed uitoefenen.

Als een fijnere test scheen mij het onderzoek naar het vitamine C-gehalte van het kamervocht het meest geschikt. Bij de cataractextractie is het kamervocht gemakkelijk te verkrijgen. Hierbij werd als volgt te werk gegaan. Onmiddellijk na de staarsnede werd het kamervocht uit den conjunctivaalzak, die te voren goed schoongespoeld en droog-gemaakt was, met een Pasteursche pipet opgezogen en daarna onmiddellijk in een schaalje met trichloorazijnzuur gemengd en na verdunning met water getitreerd.

Omdat in de in het Nederlandsch Gasthuis voor Ooglijders gebruikelijke operatietechniek geen lidhouder gebruikt wordt, lukt het opzuigen van het kamervocht goed. Als bekend mag worden verondersteld, dat wij bij de staaroperatie twee teugeldraden aanleggen, één door het benedenooglid en één, die onder de musculus rectus superior loopt. Deze draden worden door den assistent zacht gespannen. Op deze manier wordt de onderste conjunctivaalzak ontplooid, waarbij een verzamelplaats ontstaat voor het kamervocht, dat onmiddellijk na de staarsnede uit het oog vloeit. Natuurlijk komt hierbij het kamervocht in contact met de buitenlucht en staat het vitamine C aan oxydatie bloot, maar door de genoemde handelingen snel achtereen uit te voeren, kan deze storende factor tot een minimum teruggebracht worden. Het belang van den patient veroorlooft geen andere techniek.

De uitkomsten van dit onderzoek waren zeer interessant. Daar in onze kliniek de voorkeur aan de intracapsulaire extractie gegeven wordt, kwamen in dit onderzoek slechts

weinig rijpe cataracten voor. Bij de intracapsulaire extractie behoeven we immers niet te wachten tot de staar „rijp” is in anatomischen zin, en wij opereeren dan ook zoodra de staar ernstige visusstoornissen veroorzaakt. Deze omstandigheid is de oorzaak, dat ik mijn gegevens kan verdeelen naar den graad van de lenstroebeling.

De graad van lenstroebeling kan op tweeërlei wijze bepaald worden. Men kan de gezichtsscherpte voor de operatie als maatstaf gebruiken, of men kan de troebeling van de geëxtraheerde lens trachten te schatten. Dit doet men het beste door de geëxtraheerde lens op klein drukletterschrift te leggen en de leesbaarheid van het drukschrift na te gaan. De eerste manier bleek bruikbaar te zijn.

In de onderstaande tabel heb ik voor elken vorm van cataract de patienten in 3 groepen onderverdeeld. Bij groep I was de visus vóór de operatie van 1/3 tot 1/10, bij groep II van 1/20 tot 2/60, bij groep III van 1/60 tot 1/300.

TABEL 2.

Vorm van cataract	Groepsverdeling naar de visus.	Aantal	Vitamine C Kamervocht			Vitamine C Lens		
			Gemidd. waarde in mG %	Hoogste waarde in mG %	Laagste waarde in mG %	Gemidd. waarde in mG %	Hoogste waarde in mG %	Laagste waarde in mG %
Senilis	I	15	7.4	16.7	2.3	6.4	19.4	2.
	II	14	4.	6.9	0.6	3.6	6.1	0.6
	III	14	1.2	4.7	0	0.8	3.5	0
Complicata	I	12	5.8	12.3	1.6	6.3	12.5	3.7
	II	8	3.7	9.6	0	3.1	9.	0
	III	6	0.9	4.2	0	0.7	3.9	0
Nuclearis	I	9	12.1	22.9	3.6	9.9	23.7	4.4

In deze tabel verschijnen behalve de waarden van het kamervocht, ook de waarden van de lens. De eerste waarde is de gemiddelde waarde, de tweede de laagste en de derde

de hoogste waarde, die gevonden zijn. De lenzen werden direct na de extractie in gewogen weegglasjes gebracht en gewogen; vervolgens met 10 cc. 10 % trichloorazijnzuur in een speciale lenzenmortier, die wij daarvoor in ons laboratorium gebruiken, fijngewreven, wat tengevolge van de eiwitcoagulatie door het trichloorazijnzuur, vlug en volledig geschiedt. Daarna werd het mengsel gefiltreerd; in 4 cc. van dit filtraat werd de hoeveelheid vitamine C, na verdunning met water, door directe titratie bepaald met het reagens van Tillmans; een tweede portie van 4 cc. werd bewerkt volgens de methode Emmerie—van Eekelen met mercuriacetaat en zwavelwaterstof. Omdat in de lenzen, normale zoowel als staarlenzen, steeds minstens 90 tot 95 % van het vitamine C in den gereduceerden vorm aanwezig bleek te zijn, heb ik in nevenstaande tabel alleen de totale hoeveelheid vitamine C opgegeven.

Wanneer men de cijfers van tabel 2 nader beschouwt, dan is het wel duidelijk, dat met toenemende troebeling van de lens het vitamine C-gehalte van lens en kamervocht daalt. Ofschoon men in de literatuur zoo nu en dan het vermoeden uitgesproken vindt, dat met toenemende troebeling het vitamine C-gehalte en kamervocht achteruit gaat, werd dit feit tot nu toe niet statistisch bevestigd. Integendeel, de meeste auteurs spreken zich niet uit over vorm en graad der lens-troebeling en spreken heel algemeen van het gehalte bij staarlenzen (Urbanek⁽⁵⁾), wat tot gevolg heeft, dat sommigen een zeer groote, anderen slechts een kleine vermindering of zelfs normale waarden hebben waargenomen, al naar gelang den cataractvorm die zij konden onderzoeken.

In tabel 2 valt de groep cataracta nuclearis op door het hoogere vitamine C-gehalte. De beteekenis hiervan wordt straks besproken.

Na het vaststellen van de daling van het vitamine C-gehalte bij toenemende cataractvorming, en zelfs van de totale afwezigheid van het vitamine bij rijpe cataracten, was het van het grootste belang te weten, hoe het met het vitamine in het aphake oog gesteld was.

Uit de gegevens van de literatuur kan men tot de opvatting komen, dat in het aphake oog een normaal, maar ook een verminderd gehalte aan vitamine C kan voorkomen. (Galla en Melka (9), Franta Jiri (10), Cella (11), Urbanek (5).) Deze auteurs spreken weer van aphakie, zonder voldoende aandacht aan zeer belangrijke details te schenken.

Toen ik voor den eersten keer het kamervocht van een aphaak oog onderzocht, vond ik tot mijn verrassing een zeer hoog vitamine C-gehalte. De patiënt, een 23-jarige man, was reeds 4 jaar aphaak — de discisie was indertijd wegens cataracta congenita verricht, — en hij werd in de kliniek opgenomen, omdat hij een zoogenaamde kikkerrit-nastaar had. Met de spleetlamp was een heel mooie „Sömmering-sche Kristallwulst” te zien. Het is bekend, dat dit beeld tot stand komt door uitgroeien van lensvezels uit het kapsel-epitheel, dat na de discisie in het oog achtergebleven is. Elke epitheelcel vormt bij wijze van spreken een nieuw, klein lensje, waardoor het grillige beeld van de kikkerrit-nastaar tot stand komt. Het leek mij mogelijk, dat het relatief hoge gehalte aan vitamine C in het kamervocht — 20.1 mG % — met de activiteit der nieuwgevormde lensjes in verband gebracht moest worden, en ik heb in het vervolg in alle gevallen van aphakie nauwkeurig nagegaan of er in het oog lensnieuwvorming aanwezig was of niet.

Ik zal in de volgende tabel onder membraneuze nastaar die gevallen samenvatten, waar geen nieuwvorming aanwezig was, onder kikkerritnastaar die gevallen, waar wel lensnieuwvorming met de spleetlamp was waar te nemen.

Het is duidelijk, dat tusschen de beide groepen van nastaar aanmerkelijke verschillen waar te nemen zijn in het gehalte aan vitamine C in het kamervocht. Bij de aanwezigheid van kleine lensjes in de gevallen van kikkerritnastaar, is de waarde veel hooger, dikwijls zelfs normaal; bij de membraneuze nastaar is er een sterke verlaging. Dit lijkt mij een duidelijk bewijs voor de noodzakelijkheid van de

TABEL 3.

Vitamine C-gehalte kamervocht in mG %.

Tijdsverloop sedert operatie	Kikkerritnastaar	Tijdsverloop	Membraneuze nastaar
4 jaar	22.8	6 jaar	4.2
4 jaar	20.1	3 jaar	2.6
2.5 jaar	18.9	4 jaar	0.7
1 jaar	9.3	1 jaar	0.5
9 mnd.	7.4		

aanwezigheid van de lens om het hoge vitamine C-gehalte van het kamervocht op peil te houden.

Franta Jiri (10), die ook het vitamine-gehalte van aphake oogen onderzocht, echter zonder op lensnieuwvorming te letten, kwam tot de conclusie, dat de lens niet verantwoordelijk is voor het hoge vitamine C-gehalte in het kamervocht, omdat hij in eenige gevallen van nastaar vond, dat met den tijd die verlopen was sinds de discisie, het vitamine C-gehalte van het kamervocht steeg. Dit feit komt met mijn bevindingen overeen, maar aan de voor de hand liggende verklaring, dat de activiteit van de nieuwgevormde lensmassa hiervan de oorzaak zou kunnen zijn, heeft Franta Jiri klaarblijkelijk niet gedacht. Deze nieuwvorming heeft, zoals de klinische ervaring leert, geleidelijk plaats en is in de eerste maanden na de discisie slechts bij uitzondering te vinden. Pas nadat een voldoende aantal lensjes gevormd zijn, kunnen zij het vitamine-gehalte van het kamervocht beïnvloeden. Dat de activiteit van deze nieuwvormsels zeer aanzienlijk kan zijn, blijkt uit de hoge vitamine C-waarden, die in deze gevallen aangetroffen kunnen worden.

Wanneer nog een bewijs noodig zou zijn, dat het de lens is, die het hoge vitamine C-gehalte van het kamervocht tot stand brengt, dan moet op de gevallen van cataracta nuclearis gewezen worden, waarvan het vitamine C-gehalte te vinden is in tabel 2. Bij dezen vorm van staar bestaat een

aanzienlijke vermindering van de gezichtsscherpte, omdat de lens een centrale troebeling heeft, terwijl de lenschors, nagenoeg normaal kan zijn. Men weet dat de lenschors het eigenlijke levende deel van de lens is, terwijl de kern opgevat mag worden als een samenstelling van gedenatureerd eiwit; omdat de lens door appositie groeit, wordt de lenskern gevormd door de oudste afgestorven lensvezels. Met deze voorstelling over den samenhang van de lenswerkzaamheid en het vitamine C-gehalte van lens en kamervocht komen de hoogere waarden, die bij cataracta nuclearis gevonden werden, voortreffelijk overeen.

In 1934 vond Fischer (12) in de volkomen heldere lens van een oog, dat wegens melanosarcoma chorioideae verwijderd was, geen vitamine C. Deze waarneming vindt men in de literatuur vaak aangehaald en sommige schrijvers, o.a. Bakker (13), wijzen er op, dat het vitamine C voor het helder blijven van de lens niet van beteekenis is, omdat de lens in dit geval helder was en geen vitamine C bevatte. Ik heb daarom de gevallen van melanosarcoma, die in 1939 in de kliniek waargenomen zijn en waarbij enucleatie werd verricht, onderzocht. Deze lenzen waren alle optisch normaal.

TABEL 4.

Vitamine C-gehalte van lens en kamervocht van oogen met melanosarcoma chorioideae.

Nummer	Vitamine C-gehalte Lens in mG %	Vitamine C-gehalte Kamervocht in mG %
1	24.1	22.4
2	23.5	20.1
3	17	18.2
4	26.3	22.8
5	28.1	29.
6	62	64.2

Uit deze tabel blijkt, dat bij melanosarcoma de lensstofwisseling voor zoover het het vitamine C betreft, volkomen ongestoord kan zijn. Het laatste opgegeven geval heeft een ongewoon hoog vitamine C-gehalte en kan samen met het geval van Fischer, waar in het geheel geen vitamine C gevonden werd, voor de mogelijkheid van een gestoorde vitamine C-stofwisseling van de lens bij melanosarcoma pleiten. In het laatste geval van tabel 4 werd ook de bloedwaarde bepaald, die boven het verzadigingspunt bleek te liggen (1.7 mG %).

Bakker verdedigt de opvatting, dat het vitamine C voor de lens niet onontbeerlijk is. Tot deze meening kwam hij, omdat zijn overlevende lenzen in een doorstromingscultuur helder bleven, terwijl toch het vitamine C-gehalte van deze lenzen zeer sterk daalde, ja na langere tijd was in het geheel geen vitamine C meer in de lens aanwezig. Als verder argument voor zijn meening haalt hij het bovengenoemde geval van Fischer aan, waarbij in een heldere lens ook geen vitamine C aanwezig was. Deze conclusie lijkt mij te verregaand. Er zijn toch verscheidene voorbeelden van een veranderde lensstofwisseling bekend, waarop niet onmiddellijk de lenstroebeling aansluit, denk b.v. aan de vermindering van het kaliumgehalte. Vooral van den tijd, die verloopt tusschen het ontstaan van veranderingen in het lensmetabolisme en het optreden van troebelingen weten we in de meeste gevallen zeer weinig. Vooral door de uitkomsten bij onderzoekingen over de experimenteele staar wordt tegenwoordig algemeen aangenomen, dat aan de cataract een stadium van verhoogde doorlaatbaarheid van de lens voorafgaat, waardoor een vermindering van het vitamine C-gehalte bij nog heldere lens even goed verklaarbaar is als de vermindering van het kaliumgehalte in andere gevallen.

Therapeutische proeven met vitamine C heb ik bij cataract-patiënten niet gedaan, en wel omdat de mij ter beschikking staande tijd voor deze proeven te kort was. Ik meen duidelijk gemaakt te hebben, dat voor een oordeel over de werkzaamheid van een medicament, waarvan verwacht

wordt, dat het de cataractvorming tegengaat of remt, jarenlange controle noodig is of een zoodanige werking bestaat of niet.

Anders liggen de verhoudingen bij de intra-oculaire bloedingen, waarbij een gunstigen invloed van een therapie op korteren termijn is vast te stellen. Om een zooveel mogelijk homogeen materiaal te verkrijgen, heb ik uitsluitend de zogenoemde recidiveerende juveniele glasvochtbloeding in dit verband onderzocht.

Ofschoon deze ziekte betrekkelijk zelden voorkomt, ben ik in de gelegenheid geweest 9 gevallen gedurende anderhalf jaar te observeren. Uit den aard der zaak was het ontoelaatbaar bij deze gevallen het vitamine C-gehalte van eenig deel van het oog te bepalen. Ik heb daarom bij deze patiënten, behalve het bloedonderzoek bij het eerste bezoek aan de polycliniek, geregeld het vitamine C-gehalte van het bloed nagegaan, onder gelijktijdige toediening van 3 maal daags een tablet vitamine C à 50 mG. en het voorschrijven van een vitamine C-rijke bijvoeding gedurende den tijd van de observatie.

De tweede bloedbepaling deed ik na een week. Zooals reeds vermeld werd in tabel 1, was de beginwaarde bij de glasvochtbloedingen zeker niet onder het gemiddelde. Door de ruime vitamine C-toediening werd in alle gevallen na een week de verzadigingswaarde in het bloed bereikt, meestal werd zelfs oververzadiging gevonden en deze toestand bleef zoo gedurende het geheele verloop van de controle, in welken tijd ik telkens om de 2 à 3 maanden het bloed onderzocht.

Al deze negen patiënten zijn in dit tijdsverloop genezen, maar de genezing kwam zonder uitzondering tot stand, nadat, ondanks den toestand van oververzadiging met vitamine C, de bloedingen herhaaldelijk opnieuw opgetreden waren.

De recidieven bleven pas uit, nadat operatief ingegrepen was. Daartoe werd volgens Weve de plaats gelocaliseerd, die de oorzaak was van de bloeding en daarna werd de

haard diathermisch gecoaguleerd. Met zekerheid kunnen we dus zeggen, dat de vitamine C-therapie het optreden van recidieven niet voorkomt. Of deze therapie eenigen invloed op de genezing uitoefent, is moeilijk uit te maken. Het is bekend, dat de recidiveerende, juveniele glasvochtbloedingen niet alleen, zooals de naam reeds zegt, een groote neiging hebben om te recidiveeren, maar soms ook in zeer korten tijd geresorbeerd kunnen worden. Zoo kwam een van deze patiënten met een glasvochtbloeding, die twee dagen bestond en de gezichtsscherpte tot het waarnemen van handbewegingen vlak voor het oog verminderd had, drie dagen na het eerste bezoek op de polycliniek terug voor klinische verpleging.

Bij deze opname in de kliniek waren in het glasvocht nog slechts bloedresten aanwezig en de visus was tot 5/10 gestegen door spontane resorptie.

Misschien zou bij een grooter aantal gevallen een gunstigen invloed van een vitamine C-therapie waargenomen kunnen worden.

Op grond van mijn waarnemingen kan ik het toedienen van vitamine C bij deze glasvochtbloedingen niet als een efficiënte therapie beschouwen, hoewel voor het vitamine C ook geen contra-indicatie aanwezig is, wanneer niet uit het oog wordt verloren, dat de operatieve therapie, zooals die in onze kliniek gebruikelijk is, ter juister tijd uitgevoerd, deze kwaal met goed gevolg schijnt te kunnen bestrijden.

Franceschetti⁽¹⁴⁾, Urbanek⁽¹⁵⁾ en Malling⁽¹⁶⁾ dienen voor elke intraoculaire operatie vitamine C toe om de kansen op bloedingen tijdens en na de operatie te verminderen en meenen daarvan goede resultaten gezien te hebben. Het verband tusschen de hypovitaminose en het optreden van bloedingen staat geenszins vast, zooals in hoofdstuk I reeds beschreven is. Kwade gevolgen kan het toedienen van vitamine C voor een operatie niet hebben, integendeel, patienten met een slechte vitamine C-verzorging, voelen zich er dikwijls beter door; een statistisch aantoonbare vermindering dezer bloedingen, overigens bij ons een vrij zeldzame complicatie, heb ik niet gevonden.

Mijn ervaringen bij iridocyclitis zijn gelijksoortig aan die bij glasvochtbloedingen. In tegenstelling met de glasvochtbloedingen heb ik bij iridocyclitis herhaaldelijk het oogkamervocht kunnen onderzoeken, als er een therapeutische reden voor punctie van de oogkamer bestond; steeds was het vitamine C-gehalte zeer laag, van 0 tot 5 mG %, zooals ook in de literatuur steeds opgegeven wordt. De bloedwaarden waren weer normaal. De toestand van verzadiging of oververzadiging was bij toediening van 150 mG vitamine C daags te zamen met een aan vitamine rijke voeding na een week steeds bereikt en bleef langen tijd na de genezing van de iridocyclitis bestaan. Dat deze verzadiging een invloed op het verloop, den genezingsduur of op den uiteindelijke toestand van het oog bij deze ziekte heeft, schijnt mij zeer onwaarschijnlijk, omdat ik geen verschil ten opzichte van controlepatienten heb gevonden.

Naar aanleiding van de bovenbeschreven resultaten kan men samenvattend zeggen, dat de therapeutische toediening van vitamine C geen statistisch aantoonbare waarde heeft, tenminste voor zoover het de door mij onderzochte patienten betreft, die geen bijzonder lage bloedwaarden hebben en tijdens de verpleging in de kliniek met de gebruikelijke gevarieerde voeding een voldoende hoeveelheid vitamine C krijgen. Misschien komt men tot heel andere resultaten, wanneer men met patienten te maken heeft, waarbij een zeer slechte verzorging met vitamine C bestaat.

In aansluiting aan deze uitkomsten bij den mensch, kan ik nog eenige mededeelingen doen over het vitamine C-gehalte in het bloed en het oog van den hond, waartoe ik in staat ben gesteld door de vriendelijke hulpvaardigheid van Dr. Veenendaal, die mij het onderzoekmateriaal verschafte. Het betreft 2 oude honden, die aan beide oogen een duidelijke kernsclerose van de lens hadden, en een hond, waarbij een oog verwijderd moest worden wegens glaucoma tengevolge van lensluxatie.

In de gevallen met kernsclerose was het vitamine C-gehalte van lens en kamervocht van dezelfde grootte als de

waarden, die in de literatuur als normaal voor den hond worden opgegeven, n.l. 7.5 en 7.1 mG % in het kamervocht en 6.3 en 5.9 mG % in de lens. Het voorkomen van normale waarden bij kernsclerose bij den hond stemt overeen met wat boven over de hoogere waarden bij cataracta nuclearis van den mensch is gezegd.

In het geval van de lensluxatie met glaucoma was het vitamine C gehalte in het kamervocht 2.3 mG %, in de lens 1.9 mG %.

Deze lagere waarden komen ook overeen met de waarnemingen bij soortgelijke toestanden bij den mensch.

HOOFDSTUK V.

Een onderzoek over het lensmetabolisme in verband met het vitamine C.

A. Onderzoek naar het vermogen van de lens om vitamine C te maken.

Wanneer men het vraagstuk vitamine C en oog als een geheel beschouwt, dan kan men met zekerheid zeggen, dat de processen, waarbij het vitamine C betrokken is, zich vooral in en om de lens afspelen. Hierop wijzen het hoge vitamineC-gehalte van de lens, de vermindering in het kamervocht bij aphakie, de hoogere waarden in het kamervocht bij kikkerritnastaar. Alles wat verder beweerd wordt over herkomst en functie van het vitamine C in het oog, is hypothese.

Nadat ik mij ervan overtuigd had, dat de normale lens van mensch en dier zeer veel vitamine C bevat, kwam dus de vraag aan de orde: hoe komt dit hoge vitamine C-gehalte tot stand.

De drie in Hoofdstuk II vermelde theorieën heb ik op verschillende manieren proefondervindelijk op hun deugdelijkheid trachten te toetsen. In de eerstgenoemde, oudste theorie van Müller wordt het hoge vitamine C-gehalte van lens en kamervocht verklaard, door aan de lens het vermogen toe te schrijven om vitamine C aan te maken.

Ik ben daarom begonnen met een onderzoek in te stellen naar het bestaan van een vitamine C-productie van de lens. Hierbij werd als volgt te werk gegaan. Op precies dezelfde wijze werden onmiddellijk na de enucleatie van oogen van konijnen, apen en menschen de lenzen zoodanig vrijgeprepareerd, dat ze als volkomen onbeschadigd konden worden

beschouwd. De bulbus werd daartoe op filtreerpapier geplaatst en aan de limbus werd een lanssnede gelegd. Met een gebogen schaar werd daarna de cornea aan de limbus geheel afgeprepareerd. Met een fijn, chirurgisch pincet werd de iris in het sphinctergedeelte gepakt, omhoog getild, en met de gebogen schaar werd een radiaire snede tot aan den iriswortel gemaakt. Daarna werd een irisslip gepakt en de iris onder zachte spanning aan den iriswortel afgeknipt. Hierna lag de lens bloot. Een lamp, die op korten afstand opgesteld was, maakte den lensrand zeer duidelijk zichtbaar als een heldere, oplichtende lijn. Bij scheef invallend licht waren de zonulavezels zeer goed zichtbaar en door de limbus met een fijn pincet te pakken en iets excentrisch te verplaatsen, werden de zonulavezels ter plaatse gespannen, zoodat ze gemakkelijk met een fijn schaartje doorgeknipt konden worden midden tusschen lens en processus ciliares. Op deze wijze werden door draaien van de bulbus alle zonulavezels doorgeknipt; zodoende kwam de lens vrij van haar natuurlijke verbindingen en kon met een hoornen lepeltje uit de fossa lentis geschept worden. Beschadigingen van de kapsel, die altijd in den aequator lentis gelocaliseerd waren, waren goed zichtbaar, omdat de lensmassa ter plaatse van de beschadiging halfkogelvormig uitpuild. Vervolgens werd de lens gewogen en in een vaatje van 5 cc. inhoud en met ingeslepen glazen stop geplaatst, dat luchtvrij geheel met warmbloedige Ringer-oplossing gevuld werd. Het geheel kwam in een broedstoof bij 37° C. Bij de dierproeven heb ik steeds beide lenzen van een dier op deze manier geprepareerd. De eene lens, die in de broedstoof kwam, zal ik in het vervolg de proeflens noemen; de andere, die onmiddellijk na het vrijprepareeren geanalyseerd werd, de controlelens. Daar bij het prepareeren en wegen van de lenzen contact met de buitenlucht onvermijdbaar is, en dit contact zeker invloed heeft op de temperatuur en het watergehalte van de lens, en zeker ook op het vitamine C-gehalte, heb ik als voorproef den geheelen arbeidsgang zoo lang ingeoeffend, totdat een minimum van tijd voor de geheele bewerking

noodig was. Het gelukte mij het zoover te brengen, dat twee minuten na de enucleatie de proeflens in de broedstoof stond. De lenzen werden gewogen met de analytische balans van Bakker-Delft met luchtdemping en verlichte miligramschaalverdeling. De weging duurt 15 seconden en is nauwkeurig tot op 0.1 milligram.

De beide normale lenzen van één dier verschillen slechts enkele milligrammen in gewicht en de verschillen in vitamine C-gehalte gaan 2 mG % niet te boven. Na een bebroedings-tijd van 1—2—4—6—16 en 20 uur werd de lens uit het vaatje genomen, door rollen op filtreerpapier gedroogd en daarna gewogen. Daarbij werd gelet op de optische hoedanigheid van de lens. De Ringeroplossing werd onderzocht op aanwezigheid van eiwit, geoxydeerd en gereduceerd glutathion en geoxydeerd en gereduceerd vitamine C.

Het eiwitgehalte werd bepaald door toevoeging van trichloorazijnzuur, het gereduceerde glutathion met behulp van de nitroprussidnatrium-reactie, het geoxydeerde glutathion door vergelijking van de nitroprussidnatriumreactie met en zonder toevoeging van KCN. Het gereduceerde vitamine C werd bepaald door directe titratie van de aangezuurde vloeistof met het reagens van Tillmans; de totale hoeveelheid vitamine C volgens de methode Emmerie-van Eekelen. Het verschil tusschen de totale hoeveelheid vitamine C en de hoeveelheid gereduceerd vitamine kwam dus overeen met de hoeveelheid geoxydeerd vitamine C.

Daar het vaatje voor de proef geheel met Ringer-oplossing gevuld en daarna luchtdicht afgesloten werd, was alleen de kleine hoeveelheid zuurstof, die in de Ringer opgelost was, in het vaatje aanwezig. De bedoeling van deze afsluiting was de oxydatie van het vitamine C in de lens en omgevende vloeistof, en vooral de irreversibele oxydatie, zooveel mogelijk te beperken.

De uitkomsten zijn vereenigd in onderstaande tabel.

TABEL 5.

Vitamine C-aanmaak door de konijnenlens.

Konijn nr.	Duur bebroeding in uren.	Vit. C in proeflens in γ .	Vit. C in Ringer in γ .	Vit. C in controlelens in mG %.	Vit C aanmaak in mG %.	Optische hoedanigheid proeflens.	GSH in Ringer.	GSSG in Ringer.	Eiwit in Ringer.
1	1	90	45	87	48	helder	—	—	—
2	2	66	111	55	122	helder	—	—	—
3	4	104	124	90	138	helder	—	—	—
4	6	87	135	84	138	helder	—	—	—
5	16	37	50	37	50	matig troebel	—	+	+
6	20	62	67	64	65	matig troebel	—	+	+

In deze tabel is te zien, dat als aanmaak gerekend wordt de hoeveelheid vitamine C in de proeflens plus die in de Ringer-oplossing, verminderd met de hoeveelheid vitamine C in de controlelens. Verder blijkt uit de tabel, dat de proeflenzen na 6 uur nog volkomen helder waren, zooals bij het begin van de proef, en dat de Ringer-oplossing volkomen vrij was van eiwit en glutathion. Het vitamine C in de Ringer-oplossing was bijna steeds geheel in den geoxydeerden vorm aanwezig, het vitamine C in de lens steeds voor meer dan 90 % in den gereduceerden vorm.

De eiwit- en glutathionbepalingen van de Ringer-oplossing heb ik gedaan om de permeabiliteit van de lens na te gaan. Men weet n.l. uit onderzoekingen van Fischer(1), dat het uittreden van eiwit en glutathion uit de lens het eerste verschijnsel is van een verhoogde permeabiliteit van de lens. Bij de proeven nr. 5 en 6, waar de lenzen langer bebroed werden (16 en 20 uur), waren de proeflenzen licht troebel, de Ringer bevatte eiwit en geoxydeerd glutathion. Bovendien was het gewicht van deze proeflenzen aanmerkelijk grooter dan dat van de controlelenzen, terwijl dit gewichtsverschil bij de eerste vier proeven slechts enkele mil-

ligrammen bedroeg en binnen de grenzen van de normale variatie bleef.

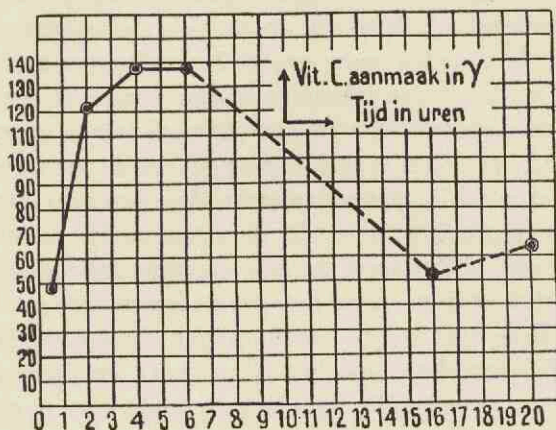
Deze proeven leeren ons dus, dat de geëxplanteerde, overlevende lens in staat is vitamine C in aanzienlijke hoeveelheden aan te maken. Dat bewijzen de vitamine C-waarden van de proeflenzen op zichzelf al — deze waarden zijn in de proeflenzen bijna steeds hoger dan in de controle-lenzen; maar een nog veel duidelijker bewijs is de gevonden hoeveelheid vitamine C in de Ringer-oplossing. De productie in 6 uur bedraagt ongeveer anderhalf maal de hoeveelheid, die in de controlelens aanwezig is.

De cijfers, die ik in tabel 5 samengevoegd heb, stammen van proeven met konijnenlenzen, omdat ik de meeste proeven uit den aard der zaak met konijnenlenzen verricht heb. Met apenlenzen heb ik soortgelijke uitkomsten verkregen. Volgens de onderzoeken van *Harden* en *Zilva* (2) kan de aap, evenals de mensch en de cavia, bij vitamine C-onthouding scorbuut krijgen. Bij twee menschenlenzen vond ik na een 6-urige bebroeding in de lens een normaal vitamine C-gehalte, terwijl in de Ringer-oplossing ongeveer een even groote hoeveelheid vitamine C aanwezig was als in de lens. Hoewel ik bij deze lenzen natuurlijk niet de beschikking had over controle-lenzen, wettigen deze uitkomsten de conclusie, dat ook de menselijke lens, evenals de apenlens, in staat is vitamine C te produceeren.

De vitamine C-productie door de konijnenlens, volgens tabel 5, graphisch weergegeven met als abscis den tijd in uren en als ordinaat de vitamineproductie in γ (0.001 mG.) levert de volgende kromme op. (Afb. 1).

Deze kromme vertoont in het begin een scherpe stijging, dan volgt een plateau en vervolgens een verval, dat vlakker is dan de aanvankelijke stijging. Het verval stamt van proeven van langeren duur (16 en 20 uur), waarbij de permeabiliteit van de lens reeds verhoogd was blijkens de aanwezigheid van glutathion en eiwit in de Ringer-oplossing en de opgetreden lenstroebelingen. De lange duur van de proef verstoort blijkbaar die processen, die met de vitamine C-

productie verband houden. Dit resultaat geeft een verklaring van het lagere vitamine C-gehalte van cataracteuze lenzen.



Afbeelding 1.

Voor mij was dit aanleiding naar een betere methode om te zien, die lensbeschadigingen door den langen duur van de proef voorkomt. Tegelijkertijd lag het in mijn bedoeling dieper inzicht in de stofwisseling van de geëxplanteerde lens te verkrijgen.

B. Een proeve van een balans van de energiehouding van de lens.

Het ligt voor de hand, dat men voor explantatie-proeven de methodiek volgens de Haan⁽³⁾, die ook door Bakker⁽⁴⁾ in zijn proeven werd gebruikt, zal moeten bezigen, temeer omdat Bakker, die ook lenzen geëxplanteerd heeft, geen vitamine C-productie heeft kunnen aantoonen en op het standpunt staat, dat de doorzichtigheid en het metabolisme van de lens niet samenhangen met de aanwezigheid van vitamine C.

Ik ben begonnen met een proefopstelling te maken, die precies volgens de voorschriften van de Haan-Bakker opge-

bouwd was. De uitkomsten, met deze proefopstelling verkregen, leerden mij dat deze opstelling zonder veranderingen voor kwantitatieve onderzoeken onbruikbaar is. Hetzelfde bezwaar heeft trouwens Bakker ook ondervonden. De hoeveelheid vloeistof, die in de geheele apparatuur aanwezig is, is namelijk zeer groot; het cultuurvaatje, waarin de lens ligt, heeft een inhoud van ongeveer 6 cc. en bij een doorstromingssnelheid van een druppel per minuut wordt de inhoud van het vaatje in ongeveer 2 uur ververscht. Bovendien vond ik in voorproeven, dat, wanneer het vaatje gevuld is met een zeer verdunde vitamine C-oplossing, het vitamine ook diffundeert in een richting tegengesteld aan die van den stroom naar het groote voorraadvat. Daarbij komt bij deze zeer sterke verdunningen de mogelijkheid van irreversibele oxydatie van het vitamine C, en daarom is het zonder meer begrijpelijk, dat deze methodiek voor mijn doel ongeschikt is. Deze overwegingen van kwantitatieven aard noopten mij dus, de lens te explanteeren in een kleine hoeveelheid stilstaand vocht.

Van de heele apparatuur van de Haan-Bakker heb ik slechts de ruime thermostaat en de cultuurkamertjes gebruikt. Deze vaatjes heb ik, nadat de lens er in geplaatst was, 90° gedraaid; daarna werd 2 c.c. vloeistof toegevoegd, waardoor de vaatjes slechts ten deele gevuld werden en de toe- en afvoerbuisjes als luchtweg gebruikt konden worden. Op deze manier was het mogelijk naast het chemisch onderzoek van lens en vloeistof, ook het zuurstofverbruik en de koolzuurproductie te bepalen door analyse van de lucht, die over de vloeistof streek.

Het chemische onderzoek van proeflens en vloeistof omvatte bepalingen van de hoeveelheden:

1. gereduceerd en geoxydeerd vitamine C,
2. glucose,
3. melkzuur.

Natuurlijk werd bij elke proef ook in de controlelens de hoeveelheden vitamine C, glucose en melkzuur bepaald. Als

voedingsvloeistof werd een fosphaatbuffer gebruikt met een pH van 7.2, waaraan 100 mG % glucose toegevoegd was.

Voor de bepalingen van melkzuur en glucose stonden micro-methoden ter beschikking, die in het laboratorium van het Ooglijdersgasthuis reeds hun betrouwbaarheid bewezen hadden en die voor mijn bijzondere doelstelling met enkele veranderingen gebruikt konden worden. Met betrekking tot de zuurstof- en koolzuurbepaling van de lucht, die over de vloeistof streek, was de situatie echter niet zoo gunstig. Het lijkt mij wenschelijk de door mij gebezigde methoden uitvoerig te beschrijven.

Glucose-bepaling.

Voor de glucose-bepalingen van lens en voedingsvloeistof gebruikte ik de methode van Sankaran en Rajagopal (5), die berust op de principes van de methode van Shaffer en Williams (6).

Wanneer een alkalische oplossing van ferricyanide gemengd wordt met een oplossing, die een reduceerende suiker bevat en daarna 16 minuten gekookt wordt, wordt ferricyanide gereduceerd. Als twee platinaelectrodes gedompeld worden in twee oplossingen, die een verschillende concentratie van ferricyanide bevatten en die onderling verbonden zijn door een buis gevuld met een met kaliumchloride verzadigde agaragar-emulsie, ontstaat een potentiaalverschil tusschen de platinaelectroden. De grootte van dit potentiaalverschil is evenredig aan de verschillen in ferricyanideconcentratie van de twee oplossingen. Wanneer men nu een serie gelijke oplossingen van ferricyanide met verschillende bekende hoeveelheden suiker kookt, geven deze oplossingen ten opzichte van een controle-oplossing, waarin geen suiker aanwezig is, verschillende potentiaalverschillen. Deze waarden kunnen graphisch opgeteekend worden; en de verbinding van de geconstrueerde punten geeft een kromme, die wel niet geheel, maar toch bijna rechtlijnig is.

Om de ferricyanideoplossing te stabiliseeren en de controle-oplossing te stellen, wordt aan de ferricyanideoplossing een weinig ferrocyanide toegevoegd.

De waarde van het potentiaalverschil tusschen een oplossing met een onbekende suikerconcentratie en de controle-oplossing wordt geïnterpoleerd in de curve, die uit de waarden van oplossingen met bekende suikerconcentraties verkregen is; op deze wijze kan de hoeveelheid aanwezige suiker in de lens of vloeistof berekend worden.

Een groot voordeel van deze methode is, dat slechts 20 mG lensweefsel of 0.02 c.c. vloeistof noodig zijn voor een betrouwbare bepaling. Voor het afmeten van dit kleine volumen stond mij een zeer nauwkeurige microburette ter beschikking, die in ons laboratorium geconstrueerd werd volgens de principes van Linderstrøm—Lang, en die binnenkort in een publicatie over onderzoekingen van subretinaal vocht door Weve—Fischer zal worden beschreven.

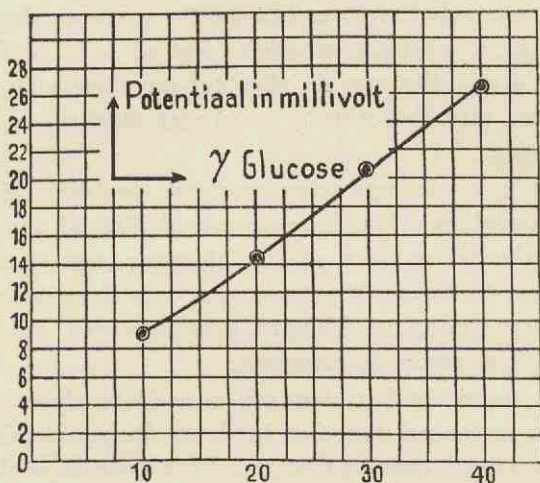
Vóór het koken moet de stof, waarvan het glucosegehalte bepaald wordt, onteiwit worden. Dit geschiedt met zinksulfaat en natronloog volgens S o m o g y i (7). Dit mengsel wordt gecentrifugeerd en daarna moet een wisselende hoeveelheid natriumcarbonaat aan de bovenstaande vloeistof toegevoegd en opnieuw gecentrifugeerd worden, om zoodoende alle sporen zink te verwijderen. Het verwijderen van het zink is noodzakelijk, omdat het zink stoort bij de potentiaalmeting.

Bij de bepaling van glucose in het bloed slaagden Sankaran en Rajagopal er in, door een bepaalde verhouding tusschen de concentraties van zinksulfaat- en natronloogoplossingen te kiezen, de bovenstaande vloeistof na het eerste centrifugeeren vrij te houden van zink. Dit heeft het voordeel, dat het toevoegen van natriumcarbonaat en het tweede centrifugeeren vermeden wordt. Bij de bewerkingen met de lens is mij dit niet gelukt, wat toe te schrijven is aan het feit, dat het eiwitgehalte van de lens 5 maal grooter is dan dat van het bloed. Experimenteel werd gevonden, dat de toevoeging van 7 mG. natriumcarbonaat aan de boven-

staande vloeistof bij de lensbewerking de juiste hoeveelheid is, die de bovenstaande vloeistof na het 2e centrifugeeren zinkvrij houdt.

De nadere beschrijving van deze techniek leze men in de oorspronkelijke publicatie van Sankaran en Rajagopal.

Ter illustratie geef ik een van de curven, die verkregen werd met suikeroplossingen van bekende sterkte.



Afbeelding 2.

Melkzuurbepaling.

De melkzuurbepalingen werden verricht volgens de methode van Mendel en Goldscheider (8). 100 m.G. lens en 0.5 c.c. voedingsvloeistof zijn voor deze bepaling voldoende voor een betrouwbare meting. De aflezingen geschieden met de Klett-colorimeter.

Als controle gebruikte ik een waterige melkzuuroplossing, nadat ik mij ervan overtuigd had, dat het gebruik van deze melkzuuroplossing even betrouwbaar was als een gedroogd lactaat als controle. Het gebruik van de melkzuuroplossing maakt het drogen van een melkzuurzout, dat telkens voor het gebruik moet geschieden, overbodig.

Zuurstof en koolzuurbepaling.

Voor mijn doelstelling had ik behoefte aan een continue registratie van het zuurstofverbruik met behulp van een methode, die zeer gevoelig moest zijn en waarbij de met een lens en omgevende vloeistof in aanraking komende lucht slechts langzaam behoefde te stroomen. Een verdere voorwaarde was, dat ik mijn proefopstelling niet meer behoefde te compliceeren dan strikt noodzakelijk was voor de analyse van de lucht, zoodat het mogelijk bleef op ieder willekeurig moment een gedeelte van de vloeistof ter chemische analyse af te tappen, terwijl hierbij de proef niet afgebroken behoefde te worden.

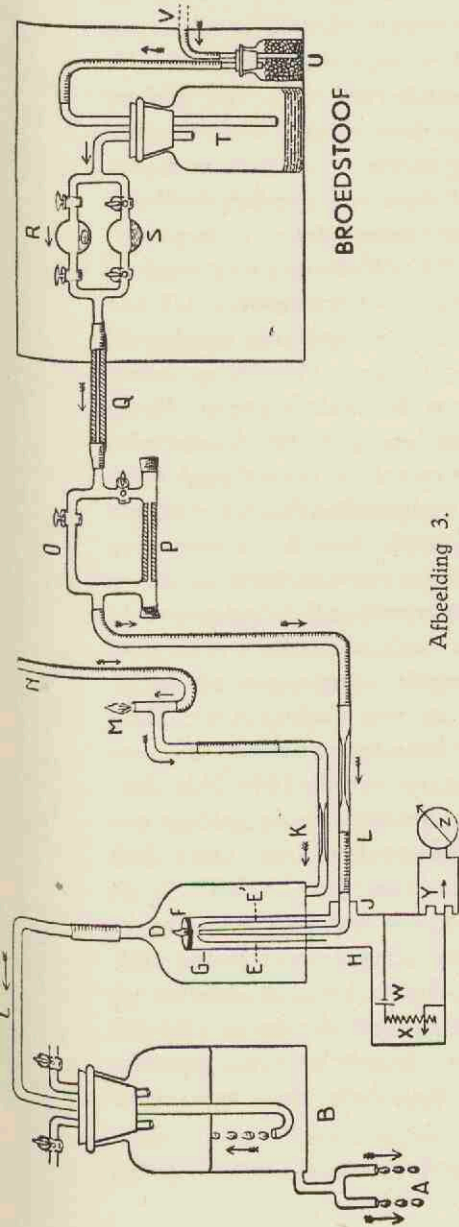
Toen ik over de oplossing van dit probleem nadacht, kreeg ik toevalligerwijze door de vriendelijkheid van collega Frederik, die ik op deze plaats hiervoor mijn hartelijken dank betuig, de beschikking over een door hem in het laboratorium van professor Noyons geconstrueerd gasanalyse-apparaat, den oxycombustiometer.

Met dit toestel is het mogelijk zeer kleine hoeveelheden zuurstof te meten en daar het in de in dit hoofdstuk te beschrijven proeven voor den eersten keer voor physiologische proeven gebruikt werd, volgt hier een korte schets van de principes, volgens welke het toestel is gebouwd en van de werkingswijze.

Ter verduidelijking is een schema bijgevoegd. (Afb. 3).

Voor een uitvoerige beschrijving van de werking en het gebruik van dit apparaat leze men de oorspronkelijke publicatie van Frederik (9).

In den oxycombustiometer wordt lucht tezamen met lichtgas met een constante zuigkracht aangezogen in een ruimte, de verbrandingskamer (D). Er wordt voor gezorgd, dat er steeds meer lichtgas aangezogen wordt dan lucht, en wel in een verhouding van 3 : 1. Het gasmengsel, waarvan men het zuurstofgehalte wil bepalen, komt door een dun buisje in de verbrandingskamer, waarin lichtgas in overmaat aanwezig is. Door het overspringen van een electrische vonk



Afbeelding 3.

- A. Buisjes, waaruit water uit de flesch van Mariotte stroomt.
- B. Gewijzigde flesch van Mariotte. Deze flesch is afgesloten door een gummistop, die 3 maal doorboord is. Door de middelste lange buis wordt het gasmengsel uit de verbrandingskamer aangezogen. Van de beide andere buizen is er een met de waterleiding verbonden en de andere met de buitenlucht. Deze laatste buizen dienen voor de vulling van de flesch met water vóór de proef. Tijdens de proef zijn zij afgesloten.
- C. Verbindingslang tusschen verbrandingskamer en flesch van Mariotte.
- D. Verbrandingskamer.
- E—E'. 2 koperen draden, waartusschen een vonk overspringt als het toestel in werking gesteld wordt, waarvoor het vlammetje aangestoken wordt.
- F. Koperen ringetje om het vlammetje.
- G. H. en F. J. Draden van mangaan en constantaan.
- K. Toevoerweg voor lichtgas naar de verbrandingskamer met tusschengeschakeld capillair.
- L. Toevoerweg voor te onderzoeken gasmengsel en controlerlucht met tusschengeschakeld capillair.
- M. en N. Gasvlam en toevoerlang van de gasleiding.

- O. en P. Kranen- en buizenstelsel, waardoor het mogelijk is het gasmengsel direct of over kaliloog (via P.) naar het toestel te leiden. P. is een glazen buis, die opgevuld is met opgerold filtreerpapier verzadigd met kaliloog. In het midden is een nauwe doorgangsweg.
- Q. Glazen buis die door den wand van de broedstoomsteekt. Deze buis is gevuld met opgerold filtreerpapier met in het midden een nauwe doorgangsweg.
- R. en S. 2 lensvaatjes volgens de Haan—Bakker met kransen metalen staaf, die door den wand van de broedstoomsteekt (in het schema niet geteekend). Het einde van elke staaf is voorzien van een vleugel, zoodat de kransen in de broedstoom van buiten af geopend en gesloten kunnen worden. In het bovenste vaatje ligt een lens in vloeistof, het onderste bevat alleen vloeistof. De luchtstroom kan vrijelijk door de lensvaatjes over de vloeistof stroomen.
- T. Groote flesch met koolzuurvrije en met waterdamp verzadigde lucht, gedeeltelijk met water gevuld.
- U. Fleschje met natronkalk.
- V. Buitenluchtleiding.
- W. W. accu.
- X. Variabele weerstand.
- Y. Shuntbank.
- Z. Galvanometer.

BROEDSTOOM

boven het einde van dit dunne buisje, wordt het verbrandingsproces ingeleid. De zuurstof van het te onderzoeken gasmengsel brandt dus in een lichtgasmilieu. Frederik spreekt dan ook van een „omgekeerde vlam”.

Een kleine verandering in het zuurstofgehalte van de aangezogen lucht moet bij de omgekeerde vlam van invloed zijn op de warmteproductie door deze vlam. Deze verschillen in warmteproductie worden thermo-electrisch gemeten.

De zuigkracht wordt geleverd door een gewijzigde flesch van Mariotte, die gevuld is met water, dat vrij kan uitstroomen door de afvoerbuisjes (A). Door het uitstroomende water ontstaat in de flesch boven het wateroppervlak een onderdruk, die gebruikt wordt om een constante zuigkracht te leveren. De flesch is boven afgesloten met een stop, waardoor een glazen buis loopt, die tot den bodem van de flesch reikt. Het deel van deze buis, dat boven de flesch uitsteekt, is met een slang (C) verbonden met de verbrandingskamer. Het gasmengsel wordt uit de verbrandingskamer gezogen en borrelt van den bodem der flesch door het water naar boven. Zoowel in de aanvoerleiding van het lichtgas, als in die van de te analyseeren lucht is een capillair ingeschakeld (K en L), waarvan de lumina zich zoodanig verhouden, dat driemaal zooveel lichtgas wordt aangezogen als lucht. Het lichtgas wordt aangezogen uit een gasbuis (N). Deze gasbuis heeft aan het einde een brander, waar het gas vrij uitstroomt, aangestoken en verbrand wordt (M). Als deze vlam klein en de brander ruim is, heerscht in de gasbuis een druk, die gelijk is aan den atmospherischen druk. Door deze opstelling worden schommelingen van den gasdruk in de toevoerleiding uitgeschakeld. De via het capillair aangezogen lucht komt door een glazen buisje terecht in het midden van de verbrandingskamer. Twee koperen draden (E en E') eindigen boven de opening van dit buisje. Bij het begin van de proef laten we een electriche vonk tusschen de draadeinden overspringen, waardoor de omgekeerde vlam aangestoken wordt.

Ter hoogte van de omgekeerde vlam is een koperen

ringetje (F) zoodanig opgesteld, dat het vlammetje in het centrum van het ringetje staat. Dit ringetje steunt op twee draden (GH en FJ), de eene draad is van constantaan, de andere van maganin. Deze draden loopen door den bodem van de verbrandingskamer en zijn verbonden met een gevoelige spiegelgalvanometer. (Z). In deze schakeling is ook een accu (W) van 2 volt opgenomen, die de tegenpotentiala levert, verder een variabele weerstand (X) en een shuntbank (Y).

Het koperen ringetje wordt beschouwd als de soldeerplaats van twee draden van verschillend metaal. In deze verbindingsplaats treedt een electromotorische kracht op, en de grootte van deze E.M.K. is o.a. afhankelijk van de temperatuur. In het toestel zijn als metalen constantaan en maganin gekozen, ten eerste omdat tusschen deze metalen onder bovenbeschreven omstandigheden een groot spanningsverschil bestaat, en ten tweede omdat de electromotorische kracht van dit thermopunt vrijwel evenredig is met het temperatuursverschil. De E.M.K., die het thermopunt levert, wanneer buitenlucht aangezogen wordt, wordt door een tegenpotentiala geneutraliseerd. De galvanometer is bij deze instelling dus stroomloos. Wanneer een mengsel met een ander zuurstofgehalte aangezogen wordt, wordt de warmteproductie door het vlammetje grooter of kleiner, en als gevolg hiervan verandert de E.M.K. van het thermo-element.

Door het gebruik van de tegenpotentiala is het mogelijk een gevoelige galvanometer te gebruiken. De galvanometer dient dus als meetinstrument. Bevat het te analyseeren mengsel meer zuurstof dan de buitenlucht, dan wordt de temperatuur van het vlammetje hooger en de electromotorische kracht van het thermo-element grooter. De galvanometer slaat dan naar den „warmen” kant uit; bevat het mengsel minder zuurstof, dan ontstaat er een galvanometeruitslag naar den „kouden” kant.

De shuntbank (Y) heeft drie standen, waardoor de metingen met 3 verschillende gevoeligheden van den galvanometer verricht kunnen worden. De gevoeligheidsverhoudin-

gen zijn 1 : 5 : 25. De gevoeligste stand is dus 25 maal gevoeliger dan de minst gevoelige.

Grootere verschillen in zuurstofconcentraties van buitenlucht en mengsels van onbekende samenstelling worden in den minst gevoeligen stand afgelezen; kleinere verschillen in den gevoeligsten stand.

Bij het begin van een proef wordt eerst de luchtstroom over het lenslooze vaatje S gevoerd en de regelbare weerstand zoo gesteld, dat de galvanometer stroomloos is. Daarna wordt de luchtstroom over het lenshoudende vaatje R geleid, door het kranenstel om te schakelen. Bij zuurstofverbruik moet de galvanometer nu naar den „kouden" kant uitslaan. De luchtstroom kunnen we bovendien over den weg O of over den weg P voeren. De weg O is een gewone glasbuis, in den weg P is een glazen buis ingeschakeld, die gevuld is met filtreerpapier, dat gedrenkt is in 10 % kaliloog. Filtreerpapier wordt om een dun koperen buisje opgerold, tot de dikte van het rolletje filtreerpapier overeenkomt met het lumen van het glazen buisje P. Daarna wordt het koperen staafje verwijderd en het rolletje filtreerpapier in het glazen buisje geschoven. De luchtstroom gaat dus door den nauwen weg, waarvan de wanden gevormd worden door filtreerpapier gedrenkt in kaliloog. Daar de lucht langzaam stroomt en de doorgang nauw is, zijn hierdoor de voorwaarden gunstig voor koolzuurabsorptie door de kaliloog uit de doorstroomende lucht. Inderdaad bleek uit controleproeven, dat koolzuur door de kaliloog quantitatief geabsorbeerd wordt.

Door nu een gasmengsel afwisselend direct over den weg O, en over den weg P met kaliloog naar den oxycombustiometer te voeren, is ook een bepaling van het koolzuurgehalte mogelijk. Frederik heeft n.l. in zijn proefschrift reeds aangegeven, dat koolzuur zich in deze analyse gedraagt gelijk stikstof, dit wil zeggen: het koolzuur gedraagt zich als een indifferent verdunningsgas van een zuurstofhoudend gasmengsel, evenals stikstof, en heeft ondanks een ander warmtegeleidingsvermogen geen storende nevenwerkingen.

In de broedstoof wordt buitenlucht door de leiding V naar binnen gezogen. Eerst gaat deze buitenlucht door een fleschje, dat gevuld is met natronkalk. De natronkalk, die professor Noyons mij met groote welwillendheid verstrekke, absorbeert zeer goed het koolzuur van de buitenlucht. Vervolgens komt de koolzuurvrije lucht in de groote flesch T, waarvan de stop dubbel doorboord is voor toevoer en afvoer. Op den bodem van deze flesch staat een laag water. De luchtstroom in het toestel is zoo langzaam ten opzichte van het groote volumen van de groote flesch T, dat de lucht, die verder over de lensvaatjes stroomt, verzadigd is met waterdamp en een constante temperatuur heeft, n.l. een temperatuur van 37° , die in de broedstoof heerscht.

De eerste oriënteerende proeven werden gedaan zonder de groote luchtvoorraadflesch. Na de overschakeling van den luchtweg op een lenshoudend vaatje vertoonde de galvanometer een uitslag naar den „kouden” kant ten opzichte van de koolzuurvrije buitenlucht. De lens scheen dus in deze opstelling zuurstof te verbruiken. Toen echter de lens uit het vaatje verwijderd was, bleef de galvanometeruitslag bij de omschakeling van den luchtweg bestaan. De lucht, die zijn weg genomen had over een vaatje met vloeistof zonder lens, bevatte dus minder zuurstof. De uitslag was vooral duidelijk als de lucht langeren tijd boven de vloeistof in het lensvaatje had gestaan. De misleidende uitslag was verdwenen, toen de groote voorraad flesch ingeschakeld werd. Tijdens het staan boven de vloeistof werd de lucht n.l. meer verzadigd met waterdamp dan de controlelucht. Daar de lucht steeds met constante zuigkracht wordt aangezogen, beteekende de grootere waterdampspanning een relatieve zuurstofvermindering. Hiermede was de storende uitslag verklaard; door het voorschakelen van de groote flesch, ten deele met water gevuld, was dit euvel verholpen.

Het werken met voorverwarmde en met water verzadigde lucht heeft nog een ander voordeel. Behalve het zuurstofverbruik door de lens, wilde ik ook chemische analyses uitvoeren van de voedingsvloeistof. Als de lucht, die over de

lenshoudende vloeistof stroomt, niet verzadigd is met waterdamp, zal er water van de voedingsvloeistof verdampen. De chemische analyses werden met een klein gedeelte van de voedingsvloeistof uitgevoerd, en de uitkomsten van dit kleine gedeelte werden omgerekend op de hoeveelheid voedingsvloeistof, die bij het begin van de proef in het lensvaatje werd gedaan. Als dit volumen echter door verdamping kleiner wordt, dan is het duidelijk dat deze verdamping een bron van fouten is. Bij het gebruik van voorverwarmde en met waterdamp verzadigde lucht is verdamping onmogelijk. Door weging van de vloeistof voor en na een proef kon ik dan ook vaststellen, dat het volumen precies gelijk gebleven was.

De met waterdamp verzadigde lucht had echter een groot nadeel. In den weg, die de lucht moest afleggen tusschen broedstoof en verbrandingsruimte, zijn glazen kranen en tussloten het luchtcapillair ingeschakeld. Door de afkoeling van de lucht na het verlaten van de broedstoof ontstond op deze plaatsen gemakkelijk condenswater, waardoor de passage van de lucht bemoeilijkt werd. Daar de zuigkracht, waarmee de lucht aangezogen wordt, gering is, was dit condenswater zeer storend, daar een regelmatige stroomsnelheid van de lucht een eerste vereischte is, om het vlammetje in de verbrandingskamer gelijkmatig te doen branden.

Dit condenswater heeft mij veel hoofdbrekens bezorgd. Na veel tasten en zoeken werd een bevredigende oplossing verkregen door het inschakelen van een glazen buis Q, die op dezelfde wijze als het buisje met kaliloog opgevuld werd met een rolletje droog filtreerpapier met nauwen doorgang in het midden van het rolletje. Deze buis werd door den wand van de broedstoof gestoken; dit is de plaats, waar de sterkste afkoeling van de lucht uit de broedstoof plaats vindt, en waar gemakkelijk condenswater optreedt. Het condenswater, dat hier ontstond, werd direct door het filtreerpapier opgezogen en zoo bleef de doorgang vrij. Af en toe moest het rolletje ververscht worden, wanneer het overzadigd met condenswater geworden was.

De ijking van het toestel.

De apparatuur was nu voor proeven gereed, maar nu stonden we nog voor het moeilijkste probleem, dat tot nu toe geen bevredigende oplossing gevonden had, vooral niet voor zeer kleine verschillen in zuurstofpercentage: de ijking van het toestel.

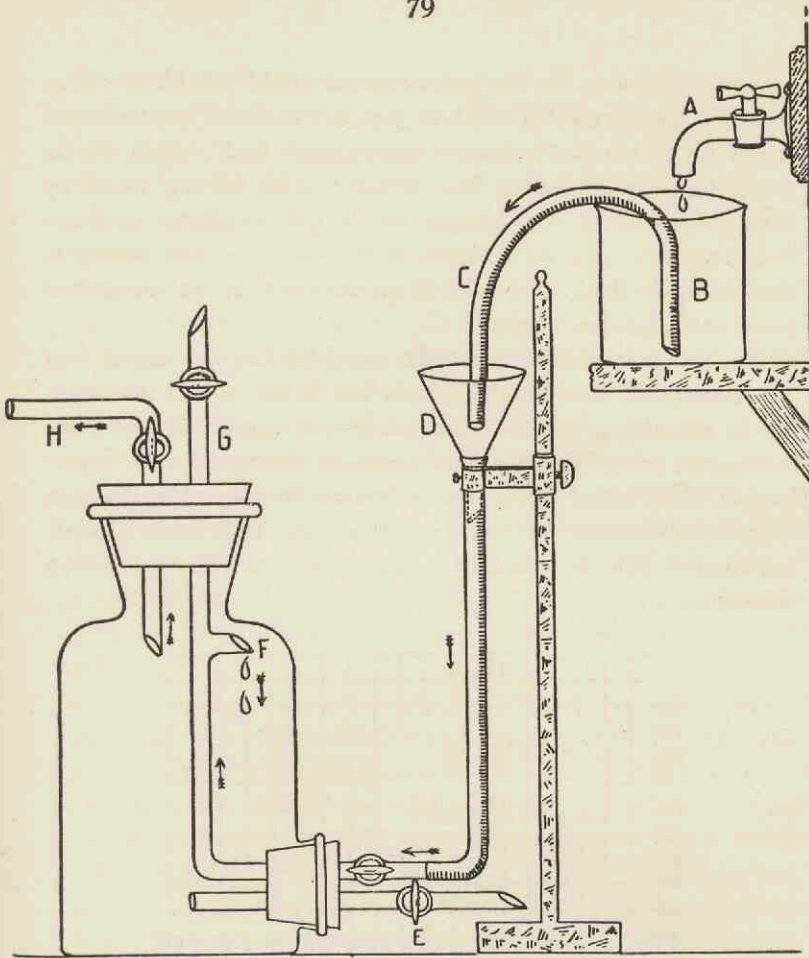
Natuurlijk heeft iedereen, die met een apparaat met continue registratie wil werken, deze moeilijkheid ondervonden en op vele manieren heeft men getracht de moeilijkheden, die de ijking met zich meebrengt, op te lossen. Om eenig idee van de gevoeligheid van het toestel, dat tot mijn beschikking stond, te verkrijgen, werd buitenlucht over een vaatje met een willekeurige hoeveelheid alkalische pyrogalluszuuroplossing geleid. Na eenigen tijd bleek de stand van de galvanometernaald stabiel te zijn gedurende een vrij langen tijd. In deze periode werd de afwijking van den galvanometerstand ten opzichte van onveranderde buitenlucht genoteerd en vervolgens werd met een recordspuitje, dat ten deele geheel luchtvrij met gekookt water gevuld was, het gummi aanvoerslangetje naar de verbrandingskamer gepuncteerd. De opgevangen luchtbel werd daarna geanalyseerd met het apparaat van Krogh. De uitkomsten van de berekeningen gaven een uitslag van gemiddeld 200 cm. voor een verschil van 1 % zuurstof. De waarden verkregen met de pipet van Krogh zijn nauwkeurig tot 0,1 % zuurstof, en deze nauwkeurigheid scheen ons voor de ijking onvoldoende.

Daarom werd getracht langs een anderen weg tot het doel te geraken. Hiervoor werd een opstelling bedacht, die het mogelijk maakte uit een flesch, gevuld met een gasmengsel van bekende samenstelling, dit mengsel door den oxycombustimeter te laten aanzuigen, zonder dat de druk in de flesch veranderde, terwijl de samenstelling van het gasmengsel dezelfde bleef. Het constant houden van de samenstelling van het gasmengsel en van den druk in de flesch werd bereikt door in de flesch water te laten druppelen met zoodanige snelheid, dat het volumen water, dat per tijdseenheid in de flesch stroomde, gelijk was aan het volumen weggezogen lucht in denzelfden tijd. Eerst werd een proef met

buitenlucht gedaan, vervolgens werd in de flesch een hoeveelheid koolzuur geperst, die onder water uit een Kipp-toestel in een cylinder was opgevangen. Het volumen van dit koolzuur werd eerst in de cylinder onder atmosferischen druk bepaald. Na eenigen tijd, waarin het koolzuur zich gelijkmatig met de lucht in de flesch vermengd had, werd een kraan even geopend en weer onmiddellijk gesloten. Hierdoor werd de druk in de flesch weer gelijk aan den atmosferischen druk, terwijl aangenomen mocht worden, dat tijdens het kortdurende contact met de buitenlucht, waarin door de openstaande kraan alleen het gas van de flesch naar buiten stroomde, in de samenstelling van het mengsel in de flesch geen verandering kwam. Daarna werd opnieuw dit gasmengsel geanalyseerd. De vermindering van het zuurstofpercentage van het mengsel in de flesch kon eenvoudig berekend worden uit de bekende hoeveelheid koolzuur, die ingeperst werd en uit het bekende volumen van de flesch. De invloed van deze bekende zuurstofvermindering op den galvanometerstand werd afgelezen. Deze proef werd met verschillende hoeveelheden koolzuur herhaald, en op deze wijze kon een ijkingscurve geconstrueerd worden. Uit de curve bleek, dat deze methode aan de verwachtingen voldeed, en opnieuw werd bevestigd, dat in den oxycombustimeter koolzuur fungeert als een indifferente verdunningsfactor van de zuurstof en geen storende bijwerkingen heeft, b.v. door een andere warmtegeleiding.

Afbeelding 4 dient ter verduidelijking van de opstelling bij deze ijkingsmethode.

Uit de waterkraan A stroomt het water met een zoodanige snelheid, dat het bakje B gevuld blijft en steeds overloopt. Een hevel C zorgt er voor, dat de trechter D ook steeds gevuld is en overloopt. De hoogte van den trechter D kan naar believen gewisseld worden, en hierdoor de snelheid waarmee het water uit de opening F in de flesch stroomt. Langs de buis G kan het koolzuur ingeperst worden. Via den weg H wordt het mengsel naar den oxycombustimeter weggezogen. Kraan E wordt even geopend na het inpersen



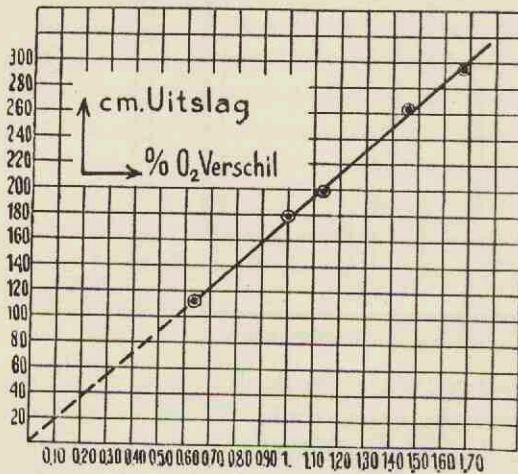
Afbeelding 4.

van het koolzuur, waardoor de druk in de flesch gelijk wordt aan den atmosferischen druk.

Aanvankelijk stroomde het water rechtstreeks vanuit de waterkraan in den trechter. De drukschommelingen in de waterstraal echter manifesteerden zich in schommelingen van den galvanometer. Na het inschakelen van een hevel waren deze drukschommelingen verdwenen. Het hoogteverschil tusschen den trechter D en de uitstrotingsopening F bepaalt mede de snelheid, waarmee het water in de flesch stroomt. De trechter D werd zoo lang naar boven of naar be-

neden geschoven, tot de galvanometernaald stil bleef staan. In dezen stand van den trechter was het volumen instroomend water gelijk aan het volumen weggezogen lucht; want als de water-toevoer grooter is dan de luchtvermindering, wordt de druk in de flesch iets hooger en de galvanometer verloopt dan naar den „warmen” kant, is de water-toevoer geringer, dan daalt de druk in de flesch en verloopt de galvanometer naar den „kouden” kant.

Al het water, dat gebruikt werd bij het opvangen van koolzuur in de maatflesch en voor het bijvullen van de vaten, die in afbeelding 4 zijn aangegeven, was verzadigd met wijnsteen-Na2CO3, om absorptie van koolzuur door water te voorkomen. De verzadiging met wijnsteen-Na2CO3 werd verkregen door in alle vaten brokken wijnsteen-Na2CO3 te leggen. In afbeelding 5 zijn de uitkomsten van een serie ijkingsproeven uitgezet.



Afbeelding 5.

Op de abscis zijn de percentages zuurstofverschil van de geanalyseerde mengsels met de buitenlucht uitgezet, op de ordinaat de uitslagen van den galvanometer, omgerekend in centimeters in den gevoeligsten stand. De punten, die aan

de hand van de uitkomsten van de verschillende proeven geconstrueerd kunnen worden, blijken op een rechte lijn te liggen, die bij verlenging het nulpunt snijdt. Een verschil van 1 % zuurstof blijkt een uitslag te veroorzaken van 178 cM., en daar de stand van den galvanometernaald in millimeters is af te lezen, kunnen verschillen van $\frac{1}{1780}$ % zuurstofpercentage gemeten worden. Bovendien bevestigt de curve de waarneming van Frederik, dat de uitslagen van den galvanometer, binnen de grenzen waarmee wij in onze proefnemingen te maken hadden, recht evenredig zijn met de veranderingen in zuurstofpercentages.

Wij moesten met de mogelijkheid rekening houden, dat het zuurstofverbruik van de geëxplanteerde lens zoo gering was, dat het zuurstofgehalte van de lucht, die door het lenshoudende vaatje geleid werd, zoo weinig verschilde van de controlelucht, dat een nauwkeurige meting niet mogelijk was. Daarom werd getracht, dit zuurstofverbruik op een andere wijze te meten.

Bij de thans te beschrijven methode werd afwisselend de koolzuurvrije, voorverwarmde en met waterdamp verzadigde lucht uit de voorraadflesch over de twee lensvaatjes geleid, (zie afb. 3). Het eene vaatje bevatte gedestilleerd water, het andere een oplossing, die zuurstof aan de bovenstaande lucht onttrok. Wanneer de lucht een zekeren tijd, b.v. 5 minuten, door het vaatje met gedestilleerd water gestroomd had, bleek na overschakeling op het tweede vaatje de oxycombustiometer een uitslag te geven naar den „kouden” kant, veroorzaakt door de kleine hoeveelheid lucht van het tweede lensvaatje, waaraan gedurende 5 minuten zuurstof onttrokken was. Als het zuurstofverbruik in het tweede lensvaatje zoo klein was, dat aan de stroomende lucht zoo weinig zuurstof onttrokken werd, dat een nauwkeurige meting niet meer mogelijk was, veroorzaakte de kleine hoeveelheid lucht, die 5 min. boven het zuurstof-verbruikende mengsel gestaan had, toch nog een meetbaren uitslag van den galvanometer. Deze uitslag, die slechts kort duurt, is gebruikt voor de tweede ijkingsmethode. Het is duidelijk, dat deze methode een

mogelijkheid geeft het kleine zuurstofverbruik van de lens met een grootere nauwkeurigheid te meten. Met voorproeven werd eerst nagegaan, of er een galvanometeruitslag optrad bij de overschakeling van het eene vaatje op het andere, als beide vaatjes met gedestilleerd water gevuld waren. Dit bleek niet het geval te zijn.

Daarna werd onderzocht, of de grootte van het zuurstofverbruik en de daarbij behorende galvanometeruitslag met elkaar parallel gingen. Dit probleem werd op de volgende wijze opgelost.

Als zuurstofverbruikende oplossing werd een vitamine C-oplossing gekozen, waaraan een zeer kleine hoeveelheid oxydase toegevoegd was. Bij de oxydatie van vitamine C wordt zuurstof gebonden volgens de formule:



Door de meting van de hoeveelheid gereduceerd vitamine C vóór en na het verblijf in de broedstoof, kon berekend worden, hoeveel vitamine C gedurende den duur van de proef geoxydeerd was, en uit deze hoeveelheid volgens bovenstaande formule de verbruikte hoeveelheid zuurstof gedurende de heele proef, en hieruit de hoeveelheid verbruikte zuurstof per 5 minuten. Deze laatste hoeveelheid zuurstof veroorzaakte den boven beschreven galvanometeruitslag. Door de oxydase telkens van verschillende sterkte te kiezen, kon de snelheid van de oxydatie van het vitamine C en dus ook van het zuurstofverbruik veranderd worden. De mogelijkheid van een ijking was dus gegeven.

Is dit ijkingsprincipe: het gebruik van de oxydatie van een bekende hoeveelheid vitamine C als basis voor de berekening van het zuurstofverbruik, betrouwbaar?

Daarvoor moet dit principe aan de volgende voorwaarden voldoen.

1. Bij de oxydatie van het vitamine C mag het vitamine alleen tot den reversibelen dehydrovorm geoxydeerd worden.

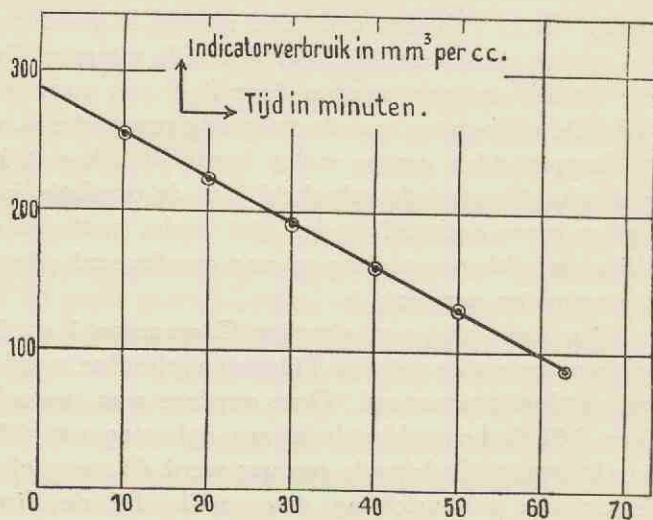
2. Deze oxydatie moet met een regelmatige snelheid verlopen.
3. De oxydatie mag pas beginnen bij het begin van de ijkingsproef en moet onmiddellijk bij het einde van deze proef stopgezet worden.

ad 1. De dehydrovorm van het ascorbinezuur is een onbestendige stof, die gemakkelijk verder geoxydeerd wordt. Bij deze oxydatie wordt ook zuurstof verbruikt, en als deze oxydatie zou plaats vinden, is de berekening van het zuurstofverbruik uit de verdwenen hoeveelheid gereduceerd vitamine C onjuist en is de bovenvermelde formule niet van toepassing. Zooals in hoofdstuk I gezegd is, is het bepalen van de hoeveelheid reversibel geoxydeerd vitamine C zeer eenvoudig. Deze dehydrovorm kan met H_2S gereduceerd worden tot het oorspronkelijke, gereduceerde vitamine C; de verdere oxydatietrappen worden door H_2S niet meer gereduceerd. De uitkomsten van de volgende proef, die ik met andere hoeveelheden eenige malen herhaald heb met hetzelfde resultaat, geven de zekerheid, dat de oxydatie in de door mij gekozen omstandigheden niet verder gaat dan den dehydrovorm, *althans zoo lang er nog gereduceerd vitamine C in de oplossing aanwezig is.*

Aan 10 cc.-oplossing van vitamine C, waarvan 1 cc. 5.04 cc. indicator-oplossing volgens Tillmans verbruikte, werd een druppel oxydase toegevoegd. Deze oxydase was een oplossing van 0.01 % koperchloride in een oplossing van 0.5 % gelatine in water. Gedurende een uur werd dit mengsel met een elektrische roerinrichting omgeroerd. Bij de directe titratie bleek 1 cc. van de oplossing nog 1.84 cc. indicator-oplossing te verbruiken. Na reductie met zwavelwaterstof verbruikte 1 cc.-oplossing weer 5.04 cc. en 5.05 cc. indicator-oplossing (dubbele titratie). De oorspronkelijke hoeveelheid vitamine C werd na reductie met H_2S weer teruggevonden. Dit is het bewijs, dat de oxydatie niet verder dan den hydrovorm gegaan was.

ad 2. De oxydatie verloopt met een regelmatige snelheid. Aan dezen eisch moet voldaan zijn, want uit de hoeveelheid

vitamine C, die gedurende den geheelen duur van de ijkingsproef geoxydeerd wordt, wordt de hoeveelheid verbruikte zuurstof per 5 minuten berekend. Zou de oxydatie niet met regelmatige snelheid verlopen, dan zou deze omrekening foutief zijn. Dat de oxydatie inderdaad regelmatig verloopt, bleek reeds uit de uitslagen van den galvanometer. Deze uitslagen waren namelijk aan elkaar gelijk, als de lucht een gelijken tijd boven het lensvatje met vitamine C-oplossing had gestaan. Ook bij een periodieke titratie van een vitamine C-oplossing, waaraan een kleine hoeveelheid oxydase toegevoegd was, bleek dat de oxydatie regelmatig verliep. De uitkomsten van deze proef zijn in graphiek 4 weergegeven.



Afbeelding 6.

Ook Hopkins en Morgan ⁽¹⁰⁾ geven graphieken, waaruit de regelmatige snelheid van de oxydatie van een vitamine C-oplossing blijkt.

ad 3. De snelheid van de oxydatie van het vitamine C is alleen regelmatig als de omstandigheden, waaronder de oxydatie plaats vindt, gelijk blijven. Zoo vonden Barron, De Meio en Klempner ⁽¹¹⁾, dat de oxydatiesnelheid

bij hogere temperatuur aanmerkelijk grooter is. Ook het schudden van de oplossing of het doorleiden van een luchtstroom door de oplossing van vitamine C, versnelt de oxydatie.

Bij de ijking van den oxycombustiometer voor deze methode werd de vitamine C-oplossing in een lensvaatje geplaatst bij een temperatuur van 37° en de oplossing werd door glasparsels, waarin een ijzeren kern gesmolten was, regelmatig geroerd. Naast het vaatje was n.l. een magneet geplaatst, die op een accu aangesloten was. De stroom werd door een onderbreker 50 keer per minuut in- en uitgeschakeld. Elke stroomstoot trekt de ijzeren kerntjes aan, en bij de onderbreking van den stroom vielen deze weer naar beneden. Op deze manier werd de oplossing regelmatig geschud.

Het is duidelijk, dat voor ons doel de oxydatie pas mocht beginnen, als de oplossing op een temperatuur van 37° was gebracht en het schudden begon. Barron c.s. hebben gevonden, dat in een vitamine C-oplossing in water, die geheel vrij is van sporen koper, geen auto-oxydatie optreedt.

Ik gebruikte voor het ijken een oplossing van vitamine C in water, die volgens de voorschriften van Barron bereid was. In deze oplossing begon de oxydatie dus pas, zoodra de oxydase toegevoegd werd. Op deze wijze heeft men het in de hand, om de oxydatie op een willekeurig oogenblik te laten beginnen, en tijdens het bereiden van de oplossing heeft geen oxydatie plaats. Ook het stopzetten van de oxydatie kan op ieder gewenscht moment plaats vinden, door bij de oplossing zooveel trichloorazijnzuur te voegen, dat de p_{H} kleiner dan 2 wordt. Bij dezen zuurgraad is de werking van de oxydase opgeheven.

In de ijkingsproeven konden we dus nauwkeurig den oxydatietijd meten, dit was n.l. de tijd, die verliep na het toevoegen van trichloorazijnzuur aan de vitamine C-oplossing.

De tijd, gedurende welke het vitamine C met een regelmatige snelheid geoxydeerd wordt, is dus bekend. Hieruit is

dan de hoeveelheid vitamine C, die per 5 minuten geoxydeerd wordt, eenvoudig te berekenen, en hieruit de hoeveelheid zuurstof benodigd voor de oxydatie. Deze hoeveelheid zuurstof veroorzaakt den uitslag van den galvanometer, wanneer op het vaatje met de vitamine C-oplossing overgeschakeld wordt.

Nog een enkel woord over de oxydase. Stotz, Harter en King (12) vonden, dat de werkzaamheid van verschillende oxydases, uit planten en vruchten bereid, afhankelijk was van de hoeveelheid koper, die in deze oxydases aanwezig was. Al deze oxydases werden vergiftigd door stoffen, die het koper bonden. Ook door koken wordt de werkzaamheid van de oxydase vernietigd, omdat het koper aan eiwit gebonden is, dat door het koken neergeslagen wordt. Silverblatt en King (13) toonden aan, dat een oplossing van een koperzout in een gelatine-oplossing in water dezelfde eigenschappen heeft als een natuurlijke oxydase. Alleen blijft de koper-gelatine-oxydase na koken werkzaam, omdat dan het koper niet neergeslagen wordt.

Eenvoudigheidshalve gebruikte ik daarom bij mijn proeven een oplossing van koperchloride in een gelatine-oplossing.

Als voorbeeld laat ik de berekening van een ijkingsproef volgen.

Bij het begin van de proef werd in het vaatje 2 cc. vitamine C-oplossing gedaan. 0.5 cc. van deze oplossing verbruikte 2.58 cc. indicator-oplossing. Toegevoegd werd een druppel oxydase, 0.01 % CuCl_2 in 0.5 % gelatine-oplossing. Na de proef, die 50 minuten duurde, verbruikte 0.5 cc. van de oplossing 1.86 cc. indicator. Bij overschakeling na 5 minuten op het vitamine C-houdende vaatje waren de uitslagen van den galvanometer 20- 24- 22- en 23 m.M., dit is gemiddeld 22 m.M.

Vóór de proef:

0.5 cc.-oplossing = 2.58 cc. indicator. 2 cc.-oplossing = 10.32 cc. indicator.

Na de proef:

0.5 cc.-oplossing = 1.86 cc. indicator. 2 cc. oplossing = 7.44 cc. indicator.

Geoxydeerd $10.32 - 7.44 = 2.88$ cc. indicator.

1 mG vitamine C = 10.54 cc. indicator-oplossing.

2.88 cc. indicator-oplossing komen overeen met $\frac{2.88}{10.54}$ mG. vitamine C. Dit is de oxydatie in 50 minuten.

Per 5 minuten werd geoxydeerd $\frac{0.288}{10.54}$ mG. vitamine C.

$\frac{0.288}{10.54}$ mG. vitamine C = $\frac{0.288}{10.54 \times 176000}$ mol vitamine C.

Volgens de vergelijking

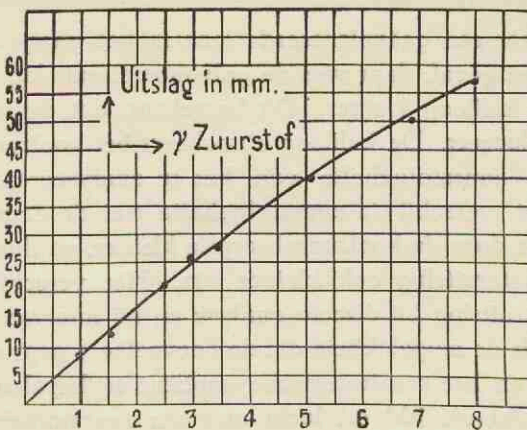


verbruiken 2 mol vitamine C voor oxydatie 1 mol zuurstof.

$\frac{0.288}{10.54 \times 176000}$ mol vitamine C verbruiken $\frac{0.288}{10.54 \times 176000 \times 2}$ mol zuurstof = $\frac{0.288 \times 32000}{10.54 \times 176000 \times 2} = 0.00248$ mG. zuurstof.

De galvanometeruitslag van 22 m.M. komt dus overeen met 2.48 γ zuurstof.

Door de oxydase van verschillende sterkte te kiezen, kon de oxydatie-snelheid veranderd worden. De uitkomsten van verschillende proeven zijn uitgezet in onderstaande graphiek. Het spreekt vanzelf, dat bij deze ijkingsproeven, behalve de



Afbeelding 7.

sterkte van de oxydase, alle omstandigheden, zooals temperatuur, de gebruikte vaatjes, en de zuigkracht van het toestel, gelijk waren.

De ijkingscurve heeft een afwijking van een rechte lijn, die bij de grootere uitslagen grooter wordt. Dit is in schijnbare tegenspraak met de graphiek van afbeelding 5, waar de vermindering van het zuurstofpercentage recht evenredig is met den uitslag van den galvanometer. We moeten echter voor oogen houden, dat de uitslagen van de ijkingscurve 5 verkregen zijn met ongeveer 4 cc. lucht met een kleiner zuurstofpercentage. Bij het vervoer van deze 4 cc. lucht naar het toestel zijn deze niet afgesloten, maar staan in contact met de controlelucht voor en achter deze 4 cc. Er heeft dus een zekere mate van diffusie plaats, die grooter zal zijn, naarmate het zuurstofgehalte van deze 4 cc. grooter verschil heeft met het zuurstofgehalte van de lucht in de voorraadflesch. Hiermede is de neiging in de lijn van afbeelding 7 verklaard.

Met deze ijkingscurve kon het zuurstofverbruik en de koolzuurproductie van de overlevende lens gemeten worden.

De uitslagen, die bij de ijkingsproeven waargenomen werden als de lucht rechtstreeks of door de buis met het filtreerpapier gedrenkt in kaliloog liep (P in afb. 3), waren even groot.

Wanneer een geëxplanteerde lens in het vaatje lag, was dit niet het geval; daar was de galvanometeruitslag over den weg met kaliloog kleiner. Dit beteekent, dat de lens koolzuur produceert. De kaliloog absorbeert het koolzuur, waardoor het zuurstofgehalte van het te analyseren mengsel stijgt; het verschil in zuurstofgehalte met de controlelucht wordt dus door de koolzuurabsorptie kleiner, en dus moet de galvanometeruitslag ook kleiner zijn. Het verschil in galvanometeruitslag bij directe analyse en bij analyse via kaliloog, geeft de mogelijkheid om de hoeveelheid geproduceerde koolzuur en het respiratorische quotiënt te bepalen.

Verdwijnt uit 100 cc. lucht met een zuurstofgehalte van 21 % 1 cc. zuurstof, dan houden we een mengsel over, dat

bij de oorspronkelijke druk 20 cc. zuurstof in 99 cc. volumen, dit is 20.20 % zuurstof, bevat. Wordt de eene cc. zuurstof vervangen door koolzuur, dan bevat dit mengsel 20 cc. zuurstof in 100 cc. mengsel, dit is 20 % zuurstof. De verhouding van de zuurstofvermindering in de mengsels met en zonder koolzuur is dus als 0.8 : 1 of als 4 : 5.

Met de oxycombustiometer wordt alleen het zuurstofgehalte gemeten; het koolzuur is een indifferent verdunningsgas. Als de hoeveelheid verbruikte zuurstof gelijk is aan de hoeveelheid geproduceerde koolzuur, dit wil zeggen als het respiratorisch quotiënt $\frac{CO_2}{O_2} = 1$ is, dan moeten de uitslagen van den oxycombustiometer bij directe analyse en bij analyse over kaliloog zich verhouden als 5 : 4.

Bij de overlevende lens heb ik het respiratorische quotiënt bepaald. Om grootere uitslagen te krijgen, die een meer nauwkeurige vergelijking toelieten, liet ik de lucht inplaats van 5 minuten 15 minuten boven het lenshoudende vaatje stilstaan, en vergeleek de uitkomsten van eenige metingen bij directe analyse en bij analyse over kaliloog. Daar mij gebleken was, dat het zuurstofverbruik van de geëxplanteerde lens gedurende eenige uren vrijwel constant bleef, kon ik meerdere metingen afwisselend direct en over kaliloog doen. Als gemiddelde van deze twee manieren van meten, kreeg ik bij meerdere proeven uitslagen, waaruit als respiratorisch quotiënt waarden van 0.94 tot 1.07 berekend werden.

De ademhaling van de overlevende lens.

Nadat ik mij ervan overtuigd had, dat de apparatuur betrouwbaar werkte, ben ik begonnen met de explantatie van lenzen. Reeds spoedig kon ik constateeren, dat de lenzen minstens 6 uur lang gelijkmatig zuurstof verbruikten en koolzuur produceerden; daarbij helder bleven, en dat na 6 uur de omgevende vloeistof eiwit noch glutathion bevatte. Als voedingsvloeistof werd een fosphaatbuffer-oplossing gebruikt met een p_H van 7.2, waaraan 100 mG % glucose toegevoegd was. Het zuurstofverbruik in de fosphaatbuf-

fer was even groot als in een Ringer-Locke-oplossing. Deze laatste oplossing is echter voor koolzuurbepalingen ongeschikt, omdat uit de carbonaten van deze oplossing ook koolzuur kan vrij komen. Dit koolzuur is dus niet door de lens afgegeven, waardoor de meting van de koolzuurproductie door de lens onbetrouwbaar wordt.

Een konijnenlens verbruikte per uur gemiddeld 24 γ zuurstof en produceerde 33 γ koolzuur. Dit is het gemiddelde van 20 proeven. Verschillen ten opzichte van dit gemiddelde waren buitengewoon gering. De opgegeven waarden voor zuurstofverbruik en koolzuurproductie zijn de werkelijk gevonden waarden, en zijn niet berekend per Gram verse lens. De gewichten van de lenzen vertoonden groote verschillen, afhankelijk van den leeftijd van het proefdier. Konijnen, waarvan het lensgewicht beneden 200 mG. was, heb ik als jonge dieren beschouwd, konijnen met lenzen van een gewicht boven 200 mG., rekende ik als oude dieren. De menschen- en apenlenzen — hier betrof het alleen volwassene — waren lichter. De menschenlenzen wogen ongeveer 200 mG., de apenlenzen ruim 100 mG. Het zuurstofverbruik en de koolzuurproductie van deze lenzen verschilden weinig met die van de konijnenlenzen. Men zou verwachten, dat de metingen van de ademhaling van lenzen met zulke groote gewichtsverschillen groote verschillen zouden opleveren. De verhoudingen bij de lens zijn echter niet te vergelijken met die bij andere weefsels. Men is gewoon — volgens Warburg — het vijfvoud van het droge gewicht der weefsels als basis voor een berekening van de stofwisselingsintensiteit te nemen, en dan b.v. te zeggen: een gram nier, lever enz. verbruikt per tijdseenheid zoo en zooveel. Een voorwaarde voor dit procédé is, dat de stukken weefsel, die gedroogd worden tot het gewicht constant blijft, een gelijkmatige samenstelling hebben voor zoover het de intensiteit van de ademhaling betreft. Aan deze voorwaarde voldoet de lens niet. De lens is omgeven door een kapsel, die hoogstwaarschijnlijk in het geheel geen stofwisseling heeft, of hoogstens een zeer geringe. Het gewicht van de kap-

sel mag men met betrekking tot de geheele lens verwaarloozen. Onder de kapsel liggen de buitenste schorslagen, die de eigenlijke levende deelen van de lens zijn. De binnenste lagen van de schors en vooral de lenskern bevinden zich in een toestand van denaturatie; deze denaturatie is grooter, naarmate het weefsel dichter bij het centrum van de lens ligt. De lenskern, die reeds bij de jonge konijnen betrekkelijk groot is, is zeker als dood weefsel te beschouwen. Dit is op zooveel verschillende manieren aangetoond, dat het aan geen twijfel onderhevig is. Men kan de denaturatie van het lenscentrum met behulp van de spleetlamp zien en wat in dit verband van nog grootere beteekenis is: Hertel heeft aangetoond, dat de lenskern röntgenspectroscopisch alle eigenaardigheden van verouderd colloïde heeft, en reeds lang is het bekend, dat dit colloïde samengesteld is uit het onoplosbare albuminoïde. Het gelukt niet, de levende schors en de doode kern preparatief van elkaar te scheiden. Daarom kan de kern niet nauwkeurig gewogen worden, en is een opgave van de grootte van de ademhaling per Gram levend lensweefsel onmogelijk.

In de literatuur vindt men b.v. door Kronfeld (14), die met de 2e Warburg-methode werkte, opgegeven, dat de lens slechts een klein zuurstofverbruik heeft, ongeveer zoo groot als de roode bloedlichaampjes. Kronfeld heeft bij deze raming met den bijzonderen bouw van de lens geen rekening gehouden. Houdt men hiermede wel rekening, dan bewijzen de cijfers van Kronfeld, dat het levende gedeelte van de lens een aanzienlijk grooter zuurstofverbruik heeft dan de roode bloedlichaampjes.

Friedenwald (15) heeft met zijn bekende stikstofgasbel-methode het zuurstofverbruik van de lens in situ gemeten en kreeg waarden tusschen 12 en 30 mM.³ zuurstof per uur. De uitkomsten van de eigen metingen, ongeveer 17 mM.³ per uur, liggen tusschen de waarden, die Friedenwald vond. Bakker (4) vond bij de geëxplanteerde lens een zuurstofverbruik van 4 mM.³ per uur.

De eenige, die veel grootere waarden vond, is Fi-

scher⁽¹⁶⁾, die indirect het zuurstofverbruik van de lens berekend heeft uit gegevens, die hij verkreeg praktisch zonder het oog aan te raken. Afgezien van de technische moeilijkheden, waarmede hij in zijn methode te kampen had, moeten zijn waarden de hoogste zijn, omdat de lens in deze proeven in situ bleef en het oog vrijwel ongedeerd bleef. Het behoeft geen betoog, dat geëxplanteerde lenzen onder zeer onphysiologische condities overleven, een omstandigheid, die met de beste techniek niet opgeheven kan worden; een overlevende lens verkeert altijd onder minder gunstige voorwaarden dan de lens in vivo et situ.

De grootte van het respiratorische quotiënt schommelde in mijn proeven zeer dicht om de waarde 1. Dit beteekent, dat de geëxplanteerde, overlevende lens de zuurstof verbruikt ter verbranding van koolhydraten. Een onderzoek van de koolhydraatstofwisseling beloofde dus verdere inzichten te verschaffen. Daarom ben ik er toe overgegaan een onderzoek in te stellen naar het glucoseverbruik, de melkzuurproductie en de vitamine C-aanmaak.

Balans van de energiehuishouding van de lens.

Het schema van de bepalingen bij dit onderzoek was als volgt. In de controlelens werd bepaald: glucose-, vitamine C- en melkzuur-gehalte. Van de proeflens werd het O_2 -verbruik en de CO_2 -productie tijdens de bebroeding gemeten. Na de bebroeding werd het glucose-, melkzuur- en vitamine C-gehalte van de lens bepaald.

De lenzen werden op de reeds beschreven manier gewogen. In de vloeistof, waarin de proeflens had gelegen, werd na de bebroeding eveneens het glucose-, melkzuur- en vitamine C-gehalte bepaald.

Het is duidelijk, dat de hoeveelheid vitamine C in de proeflens plus de hoeveelheid vitamine C in de omgevende vloeistof, verminderd met de hoeveelheid vitamine C van de controlelens, gelijk is aan de hoeveelheid aangemaakt vitamine C. Hetzelfde geldt voor de melkzuurproductie. Het glucoseverbruik werd berekend uit de hoeveelheid glucose,

die bij het begin van de proef in de voedingsvloeistof aanwezig was, vermeerderd met de hoeveelheid glucose in de controlelens; van deze hoeveelheid moet worden afgetrokken de hoeveelheid glucose, die na de bebroeding in de omgevende vloeistof aanwezig is en de hoeveelheid glucose in de proeflens.

Deze proeven waren zeer tijdrovend. Voor en na de bebroeding moeten 10 bepalingen gedaan worden, die een nauwkeurige voorbereiding en uitvoering vereischen, afgezien nog van de zuurstof- en koolzuurmetingen. Wanneer de hoeveelheid materiaal het toeliet, werden steeds dubbele bepalingen verricht.

Twee geoefende onderzoekers hebben hieraan een vollen dagtaak. Het inoefenen en feilloos uitvoeren van de verschillende bepalingen vereischten nog meer tijd dan de eigenlijke proeven zelf.

Met konijnenlenzen werden 6 dergelijke proeven gedaan, met apenlenzen 3, en verder een proef, zonder controlelens, met een menschenlens. Als voorbeelden van de uitkomsten van deze proeven dienen de tabellen 6 en 7; de eerste geeft de resultaten van een proef met konijnenlenzen, de tweede van een proef met apenlenzen. (*macacus rhesus* en *innuus*).

TABEL 6.

Proefdier: Konijn. Hoeveelheden in mG.

	VOOR		NA 6 UUR		PRODUCTIE	VERBRUIK
	Omgevende vloeistof	Controlelens	Vloeistof	Proeflens		
Gewicht						
Hoeveelheid	2 cc.	427,5	2 cc.	436		
Vitamine C	0	0,065	0,029	0,058	0,022	
Glucose	2	0,213	1,35	0,160		0,703
Melkzuur	0	0,359	0,512	0,260	0,413	
Zuurstof						0,126

TABEL 7.

Proefdier: aap. Hoeveelheden in mG.

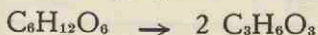
	VOOR		NA 6 UUR		PRODUCTIE	VERBRUIK
	Omgevende vloeistof	Contrôle-lens	Vloeistof	Proef-lens		
Gewicht		106		103,1		
Hoeveelheid	2 cc.		2 cc.			
Vitamine C	0	0,032	0,021	0,033	0,022	
Glucose	2	0,092	1,466	0,098		0,528
Melkzuur	0	0,114	0,332	0,088	0,306	
Zuurstof						0,112

Uit deze tabellen volgt, dat in deze proeven zuurstof en glucose verbruikt werd, terwijl er vitamine C en melkzuur geproduceerd werd. Voor de bespreking van de onderlinge quantitative verhoudingen van dit verbruik en deze productie, wil ik nog eens naar voren brengen, dat de lens van aap en konijn — de lens van den mensch gedraagt zich hetzelfde — een aerobe glycolyse heeft, en in staat is vitamine C te produceeren.

De rest van de glucose, die de lens verbruikt en die niet glycolytisch gesplitst wordt, is beschikbaar voor andere processen.

Nu komt de vraag aan de orde: is de productie van het vitamine C een van deze processen.

Om deze vraag te beantwoorden, beschikken we over voldoende gegevens. Bij de proef, waarvan de uitkomsten in tabel 6 zijn opgegeven, werd 0.703 mG. glucose verbruikt. Hiervan werd 0.413 mG. gesplitst in melkzuur:



Uit deze vergelijking blijkt, dat 1 mol. glucose gesplitst wordt in 2 mol. melkzuur en daar:

1 mol. glucose = 180.000 mG.,

2 mol. melkzuur = 180.000 mG.,

ontstaat 0.413 mG. melkzuur uit de splitsing van 0.413 mG. glucose.

Voor andere processen was beschikbaar:

$$0.703 - 0.413 = 0.290 \text{ mG. glucose.}$$

De hoeveelheid verbruikte zuurstof, 0,126 mG., kan, als ze uitsluitend voor verbranding van koolhydraten gebruikt wordt, wat aangenomen mag worden, omdat als respiratorisch quotiënt 1 gevonden is, 0,118 mG. glucose verbranden.



Hieruit volgt, dat voor de oxydatie van 1 mol. glucose 6 mol. zuurstof noodig is.

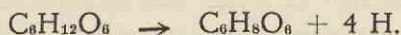
$$0.126 \text{ mG. O}_2 = \frac{0.126}{32000} \text{ mol. O}_2$$

$$\frac{0.126}{32000} \text{ mol. O}_2 \text{ oxydeeren } \frac{0.126}{32000 \times 6} \text{ mol. glucose.}$$

$$\frac{0.126}{32000 \times 6} \text{ mol. glucose} = \frac{0.126 \times 180.000}{32000 \times 6} = 0.118 \text{ mG. glucose.}$$

Na aftrek van de glucose, die verbrand werd, blijft er nog een glucoserest van $0,290 - 0,118 = 0,172$ mG. over.

Deze rest is beschikbaar voor andere processen. Zou deze rest voor vitamine C-aanmaak gebruikt worden, dan zou uit 0.127 mG. glucose 0.168 mG. vitamine C kunnen ontstaan.
Want:



$$0.172 \text{ mG. glucose} = \frac{0.172}{180.000} \text{ mol. glucose.}$$

Hieruit kan ontstaan

$$\frac{0.172}{180.000} \text{ mol. vitamine C} = \frac{0.172 \times 176000}{180.000} = 0.168 \text{ mG. vit. C.}$$

Daar in de beschreven proef slechts 0.022 mG. vitamine C ontstaan is, waarvoor 0.0225 mG. glucose noodig is, blijft nog een rest van 0.149 mG. glucose beschikbaar voor andere doeleinden. Wanneer men dezelfde berekeningen gaat opmaken voor tabel 7, die stamt van een proef met apenlenzen, dan vindt men een glucoseverbruik van 0.528 mG. Hiervan werd 0.306 mG. glycolytisch gesplitst in melkzuur. Van de overgebleven glucose, 0.222 mG. is 0.105 mG. geoxydeerd, wat volgt uit het zuurstofverbruik van 0.120 mG. Er is 0.022 mG. vitamine C geproduceerd, wat overeenkomt met 0.0225 mG. glucose. Ook hier blijft dus een

glucoserest, groot 0.095 mG. over.

Omdat de apenlens veel lichter was dan de konijnenlens, gebruikte de eerste relatief meer zuurstof en glucose; de vitamine C-productie was even groot, de melkzuur-productie van de apenlens was weer relatief grooter.

Ik beperk mij tot deze 2 proeven, omdat de variaties in de uitkomsten van de andere proeven niet essentieel waren. Steeds was het glucoseverbruik grooter, dan de uit het zuurstofverbruik en de melkzuurproductie berekende hoeveelheid. Quantitatief is dus de mogelijkheid van het ontstaan van vitamine C uit glucose aanwezig. Een nader onderzoek naar het lot van de overgebleven hoeveelheid glucose blijft een opgave voor verder onderzoek.

Aan het slot van deze bespreking moet nog opgemerkt worden, dat de lens geen glycogeen bevat, (Süllmann⁽¹⁷⁾) en dat het suiker- en melkzuurgehalte van beide normale lenzen van een dier even groot zijn. (Müller⁽¹⁸⁾) en Weekers⁽¹⁹⁾.

De aanwezigheid van glycogeen in de lens zou de opgestelde balans onbetrouwbaar maken, omdat dit tijdens de proef in glucose zou kunnen gesplitst worden. Het gelijke gehalte aan melkzuur en suiker van de beide lenzen stelt ons in staat, door metingen in de controlelens de beginwaarden van de proeflens te achterhalen.

Ook zij hier nog vermeld, dat v. Euler en Klussmann⁽²⁰⁾ bij kiemende plantenzaden een vermindering van de hoeveelheden suikers en een vermeerdering van de hoeveelheid vitamine C vonden. Deze schrijvers achten het ontstaan van vitamine C uit suikers waarschijnlijk.

Een soortgelijke balans, wat betreft zuurstofverbruik, koolhydraatverbruik en melkzuurproductie — het vitamine C kwam in 1931 nog niet in aanmerking — heeft Fischer⁽¹⁶⁾ opgesteld. Hij vond een overheerschende glycolyse, evenals Kronfeld in '28⁽¹⁴⁾ en Bakker in '36⁽⁴⁾.

De hoeveelheid glucose, die niet geglycolyseerd werd, was aanzienlijk grooter, dan de hoeveelheid, die overeenkwam met de verbruikte hoeveelheid zuurstof. Dit komt in

beginsel overeen met mijn vondsten, waar de hoeveelheid niet-geglycolyseerde glucose grooter was dan de hoeveelheid glucose, die verbrand kan worden. Bij de bespreking van tabellen 6 en 7 werd aangetoond, dat een gedeelte van deze glucoserest beschikbaar is voor vitamine C-aanmaak.

Ook bij Bakker vindt men op pag. 588 Graefe's Archiv 135—1936 cijfers, die precies hetzelfde beeld geven. Bakker vond evenals Kronfeld een glucoseverbruik van 2.4 mG. per dag bij een konijnenlens. Hiervan werd 2.1 mG. glycolytisch gesplitst. Blijft dus een glucoserest van 0.3 mG. Zijn lenzen verbruikten per dag ongeveer 96 mM.³O₂. Als we aannemen, dat deze zuurstof alleen voor verbranding van suiker verbruikt werd, dan werd ongeveer 0.13 mG. glucose verbrand. Ook hier vinden we dus een hoeveelheid glucose, die niet verbrand en niet ge glycolyseerd wordt.

Weliswaar geeft Bakker op, dat bij een verbruik van 4 mM.³ zuurstof per uur 0.8 mG. glucose per dag verbrand kan worden, maar dit is blijkbaar een rekenfoutje, want:

1 mol. O₂ = 32000 mG. = 22400 cc. (normaalverhoudingen).

1 cc. O₂ = $\frac{32}{22.4}$ mG. 1 mM.³ = $\frac{32}{22400}$ mG.

96 mM.³ O₂ = $\frac{96 \times 32}{22400}$ mG. = $\frac{96 \times 32}{22400 \times 32000}$ mol. O₂.

Voor verbranding van 1 mol. glucose is 6 mol. zuurstof noodig.

$\frac{96 \times 32}{22400 \times 32000}$ mol. O₂ verbranden $\frac{96 \times 32}{22400 \times 32000 \times 6}$ mol. glucose
 = $\frac{96 \times 32 \times 180.000}{22400 \times 32000 \times 6}$ = 0.129 mG. glucose.

Wanneer ik nu samenvat, wat mij van deze proeven het belangrijkste lijkt, dan is het dit: dat de lens, ook die van mensch en aap, in staat is vitamine C aan te maken. en dat deze aanmaak uit koolhydraten kan geschieden.

Hoe deze aanmaak kan gebeuren, is een nog onopgelost vraagstuk, dat door stofwisselingsbalansen niet kan worden benaderd. Hiervoor is noodig een uitgebreid onderzoek van de intermediaire processen van de suikerafbraak. Ofschoon er aanleidingen zijn, die doen vermoeden, dat de vitamine

C-aanmaak uit koolhydraten geschiedt, nadat de koolhydraten zijn afgebroken tot triosen — men denke hier aan de proeven van von Euler c.s. (21) met de Robinsonester en aan de proeven van Müller (22), waarin konijnen vergiftigd werden met phlorizine en natriumfluoride — zal ik mij van verdere beschouwingen onthouden, hoe groot de verleiding daartoe ook is, omdat de opvattingen over de mogelijke oxyreductieprocessen, die bij de afbraak van koolhydraten voorkomen, nog te zeer omstreden worden en met den dag wisselen.

HOOFDSTUK VI.

Herkomst van het vitamine C in lens en kamervocht.

Goldmann en Buschke (1), wier hypothese door bijna alle schrijvers wordt aangenomen, meenen, dat het vitamine C in het kamervocht stamt uit het bloed. Volgens deze hypothese is het vitamine C in het bloed in geoxydeerden vorm aanwezig, gaat uit het bloed in het kamervocht over, wordt daar door de lensactiviteit gereduceerd en het hoge gehalte aan gereduceerd vitamine C in het kamervocht ontstaat en blijft gehandhaafd, omdat de bloed-kamervocht-barrière voor den gereduceerden vorm van het vitamine niet doorgankelijk is; daarentegen is de barrière voor den geoxydeerden vorm vlot doorgankelijk. Het bloed levert dus het vitamine C aan de lens en kamervocht.

Om de juistheid van deze opvatting te toetsen, heb ik verschillende experimenten, die den grondslag voor deze theorie vormen, herhaald; vooral omdat ik reeds in het begin van mijn onderzoek vond, dat ook bij het konijn het vitamine C in het bloed voor meer dan 90 % in gereduceerden vorm voorkomt.

Uit de studie van de literatuur bleek, dat na 1936 de meening, dat het vitamine C in het bloedplasma in den geoxydeerden vorm aanwezig is, wat tot '36 algemeen aangenomen werd, plaats maakte voor de juiste opvatting, dat nagenoeg al het vitamine C van het bloed in den gereduceerden toestand aanwezig is.

In de oogheekkundige literatuur is echter aan dit belangrijke feit nagenoeg geen aandacht geschonken. Dit hangt samen met de omstandigheid, dat na 1936 de belangstelling voor het vitamine C in de oogheekunde sterk verminderd is: de publicaties vóór 1936 vermelden proeven die — voor zoover het het bloed betreft — met een verouderde techniek zijn uitgevoerd.

Goldmann en Buschke geven in hun publicaties geen gedetailleerde beschrijving van hun techniek voor de bloed-

bepaling, maar uit het volgende zal blijken, dat de uitkomsten, die zij opgeven, geheel misleidend zijn.

In het kamervocht van het konijn — hetzelfde geldt voor mensch en aap — is het vitamine C-gehalte 10 maal zoo groot als in het bloed. Zou alleen het bloed de leverancier zijn van het vitamine C in het oog, dan moeten we een eenzijdige permeabiliteit van de bloed-kamervocht-barrière voor vitamine C aannemen, met een gemakkelijken overgang van het vitamine in de richting bloed-kamervocht, en een moeilijke passage in de omgekeerde richting.

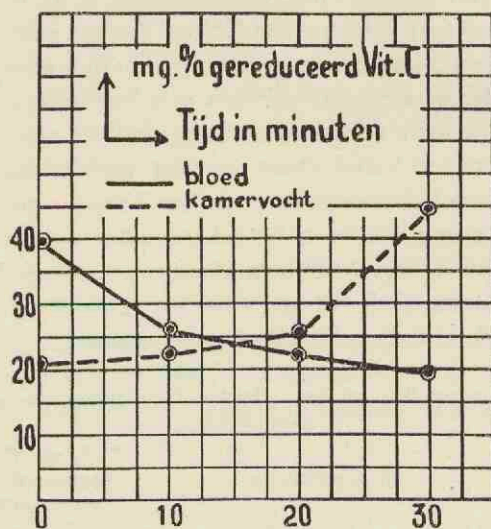
Aan deze opvatting geven noch de proeven van Goldmann en Buschke, noch de uitkomsten van mijn eigen proeven eenigen steun.

Spuut men, zooals Goldmann en Buschke gedaan hebben, gereduceerd vitamine C in het bloed, dan stijgt het vitamine C-gehalte in het bloed en al het vitamine C is — in tegenpraak met de opgaven van Goldmann en Buschke — in den gereduceerden vorm aanwezig. Bovendien zijn de cijfers, die Goldmann en Buschke na een intraveneuze vitamine C-injectie vonden veel te laag. Deze schrijvers geven op, dat zij door voorproeven vastgesteld hadden, dat de hoeveelheden vitamine, die zij inspoten, wel een verhooging van het bloedgehalte veroorzaakten, maar dat de bloedwaarde ver onder het normale gehalte van het kamervocht bleef. Hierbij zijn zij misleid door een gebrekkige techniek. Ik heb dezelfde hoeveelheden vitamine C als Goldmann en Buschke bij een konijn intraveneus ingespoten, en vond na de injectie bloedwaarden, die ver boven het normale kamervochtgehalte lagen. Door dit zeer hooge bloedgehalte stijgt het gehalte in het kamervocht eveneens.

Dit wil dus zeggen, dat het vitamine C uit het bloedplasma in het kamervocht overgaat; de barrière bloed-kamervocht is dus voor het gereduceerde vitamine C vlot door-gankelijk. In afb. 8 zijn verschillende uitkomsten van metingen van het bloed- en kamervochtgehalte na intraveneuze inspuiting van vitamine C bij het konijn opgegeven.

Bij deze proeven werd als volgt te werk gegaan. Bij ko-

nijnen werd de arteria carotis vrijgeprepareerd en daarna werd 50 mG. vitamine in de oorvena gespoten. Vervolgens werd na bepaalde tijden, die in de graphiek (afb. 8) zijn af te lezen, na de punctie van de voorste oogkamer bloed uit de arteria carotis opgevangen in gearaffineerde centrifugebuizen. Dit bloed werd kort gecentrifugeerd in een sneldraaiende centrifuge (3500 toeren per minuut) en daarna werd het plasma gedecanteerd. Aan 10 cc. van dit plasma werd een gelijke hoeveelheid 10 % trichloorazijnzuur toegevoegd; dit mengsel werd omgeroerd met een glazen staaf en gefiltreerd; in het filtraat werd, nadat dit door verdunning met water op de vereischte p_H gebracht was, de reductie bepaald met het reagens volgens Tillmanns. Een 2e portie van 10 cc. van het filtraat werd behandeld met mercuriaceaataat en H_2S volgens de methode Emmerie-van Eckelen. Het vitamine C-gehalte van het bloedplasma, berekend volgens deze twee methoden, vertoonde slechts onbeteekenende verschillen, die binnen de foutengrens van de bepalingen lagen. Hieruit volgt, dat al het vitamine C, ook na intraveneuze injectie, in gereduceerden toestand in het plasma voorkomt.



Afbeelding 8.

Goldmann en Buschke bepaalden het vitamine C in enkele cc. bloed, door venapunctie verkregen. Deze kleine hoeveelheid was — nog afgezien van hun techniek — op zichzelf al een reden van onbetrouwbare uitkomsten.

Uit de graphiek van afb. 8 volgt, dat het gereduceerde vitamine C uit het bloed in het kamervocht overgaat, als de voorwaarden daarvoor gunstig zijn; dit is het geval, wanneer het bloedgehalte grooter is dan het gehalte in het kamervocht.

Uit afb. 8 volgt echter ook, dat het kamervochtgehalte na intraveneuze injectie hogere waarden bereikte dan de hoogste bloedwaarde. De stijging in het kamervocht kan dus niet alleen door den overgang van het vitamine uit het bloed in het kamervocht veroorzaakt worden; er moeten nog andere factoren in het spel zijn.

Goldmann en Buschke vonden verder, dat door afdichten van de barrière tusschen bloed en kamervocht door adrenaline het vitamine C-gehalte in het kamervocht niet steeg; bij grootere hoeveelheden adrenaline daalde zelfs dit gehalte. Hieruit concludeerden zij, dat door de bemoeilijkte overgang van het vitamine uit het bloed in de oogkamer en door de geringere hoeveelheid bloed in het oog tengevolge van de vaatvernauwende werking van het adrenaline, het bloed minder vitamine C aan het oog kon leveren. Dit was dus een argument voor hun stelling, dat het vitamine C van het oog uit het bloed komt, en dat andere bronnen, met name de lens, als oorzaak voor het hooge vitamine C-gehalte in het oog niet van beteekenis zijn.

Adrenaline echter heeft een directe oxydeerende werking op het vitamine C.

Als voorbeeld diene het volgende staatje.

Invloed van adrenaline op een vitamine C-oplossing, die aan de lucht blootgesteld is.

2 cc. vit. C-oplossing			2 cc. vit. C-oplossing Toegevoegd 5 druppels adrenaline 1 ^o / ₁₀₀	
Begin	0.1 cc.	1.52 cc. indicator	0.1 cc.	1.52 cc. indicator
Na 2 uur	0.1 cc.	1.53 cc. indicator	0.1 cc.	0.62 cc. indicator

Dit bewijst zonder meer, dat adrenaline, hoewel het de doorlaatbaarheid van de barrière vermindert, niet geschikt is voor het doel, waarvoor Goldmann en Buschke het gebruikten. Buschke (2) zegt wel, dat adrenaline bij de titratie van oogkamervocht niet stoort, wat inderdaad juist is, maar hij verliest hier geheel de factoren tijd en zuurgraad uit het oog. De oxydeerende werking van adrenaline is gebonden aan den tijd en aan de p_H . Bij titratie onmiddellijk na de punctie van kamervocht, waaraan trichloorazijnzuur is toegevoegd, stoort dit adrenaline niet, omdat bij een p_H van 2.5, dit is de p_H waarbij getitreerd wordt, het adrenaline geen oxydeerende werking heeft, en de tijd voor oxydatie niet beschikbaar is. Gebruikt men in plaats van adrenaline atropine, dat ook de barrière dicht, zooals Kikai (3) be- wezen heeft, dan vindt men wel degelijk een stijging van het vitamine C-gehalte in het kamervocht, zooals straks aan de hand van uitkomsten van proeven zal meegedeeld worden. Ook Galante (4) vond na toediening van atropine een vermeerdering van het vitamine C in het kamervocht.

Bij de atropine-proeven moet rekening gehouden worden met den invloed van het licht. Bonsignore (5) heeft reeds gevonden, dat na belichting het vitamine C-gehalte van het kamervocht stijgt, welk feit ik heb kunnen bevestigen. Om dezen invloed bij belichting uit te schakelen, heb ik konijnen na het indruppelen van atropine in den conjunctivaalzak in het donker gezet. In voorproeven was vastge- steld, dat na een verblijf van 2 uur in het donker het vita- mine C-gehalte van het kamervocht daalt. Was echter atro- pine in het oog gedruppeld, dan was de dalende invloed van het verblijf in het donker niet alleen opgeheven, maar was er zelfs een stijging van het vitamine C-gehalte in het ka- mervocht. In de volgende tabellen zijn de uitkomsten van deze proeven opgeteekend.

TABEL 8.

Vit. C-gehalte kamervocht OD in mG. % na een nacht verblijf in donker		Vit. C-gehalte kamervocht OS in mG. %, Punctie 2 uur na OD, na belichting.
Konijn		
1.	17.3	20.2
2.	23.5	27.8
3.	28.4	31.9

Invloed van belichting op vitamine C-gehalte oogkamervocht.
Na belichting stijgt het gehalte aan vitamine C in het kamervocht.

TABEL 9.

Vit. C-gehalte kamervocht OD in mG. %		Vit. C-gehalte kamervocht OS in mG. % na verblijf van 2 uur in donker.
Konijn		
1.	28.02	24.6
2.	28.1	23.5
3.	25.4	20.5

Na verblijf in het donker is het vitamine C-gehalte van het
kamervocht gedaald.

TABEL 10.

Vit. C-gehalte kamervocht in mG. %. 2 uur na atropine, en verblijf in donker		Vit. C-gehalte kamervocht in mG. %. Controle-oog, vóór ver- blijf in donker.
Konijn		
1.	34.04	29.53
2.	27.19	20.39
3.	32.37	28.64
4.	25.25	23.11

Indruppelen van atropine verhoogt het vitamine C-gehalte van
het kamervocht, zelfs als het konijn na het indruppelen in het
donker wordt gezet.

De verschillen in vitamine C-gehalte, die in bovenstaande
tabellen gevonden worden, zijn veel grooter dan de verschil-
len, die in normale oogen gevonden worden.

Van de argumenten, die Goldmann en Buschke aanvoeren
ter ondersteuning van hun hypothese, waarin het hooge vita-

mine C-gehalte van lens en kamervocht verklaard wordt door levering door het bloed van geoxydeerd vitamine C, dat in het oog gereduceerd wordt, blijkt geen enkel steekhoudend te zijn.

We moeten dus andere oorzaken ter verklaring van dit hooge gehalte zoeken. Als bronnen komen in aanmerking de iris, het corpus ciliare, het netvlies en de lens. Volgens Nakamura⁽⁶⁾ en Podestà en Baucke⁽⁷⁾ is het vitamine C-gehalte van de iris het hoogste van alle deelen van het oog. Ik heb ook irides van konijnen geprepareerd, en het zoo ver gebracht, dat ik beide irides zoo prepareerde, dat de gewichtsverschillen beneden 0.5 mG. bleven. Het gemiddelde gewicht van de irides was 39 mG. Het filtraat van deze geringe hoeveelheid weefsel na bewerking met trichloorazijnzuur, heeft zoo'n klein reduceerend vermogen, dat fouten in het gevonden gehalte van 8 mG. % onvermijdelijk zijn. Bovendien hebben bovengenoemde schrijvers niet alle stoffen, die de titratie storen, verwijderd.

Een betrouwbare bepaling volgens de methode Emmerie-van Eekelen is met een enkele iris niet mogelijk. De kleine verschillen van enkele mG. %, die bovengenoemde schrijvers opgeven, schijnen mij dan ook niet bewijzend.

En als we toch zouden aannemen, dat de iris een vitamine C-bron voor het kamervocht is, dan blijft de vraag: waarom daalt dan in een aphaak oog met onbeschadigde en goed functioneerende iris en barrière tusschen bloed en kamervocht het vitamine C-gehalte in het kamervocht zoo sterk; en welk weefselement van de iris zou als productieplaats in aanmerking komen.

Dezelfde vragen worden ook niet opgelost door de theorie van Bonsignore, die de oorzaak van het hooge vitamine C-gehalte in de werking van het ciliairepitheel zoekt. Een parasympathische prikkeling van het oog zou dit gehalte vermeerderen. En de grootste tegenwerping, die tegen deze opvatting te maken is, is de verhooging van het vitamine C-gehalte van het kamervocht na het indruppelen van atropine, een stof, die de parasympathicus verlamt,

Om den invloed van de retina na te gaan, heb ik bij 6 konijnen de nervus opticus van een oog doorgesneden en heb gewacht tot de retina geatrophieerd was.

Tengevolge van de tijdsomstandigheden bleef slechts één konijn voor onderzoek beschikbaar. Bij dit konijn was het vitamine C-gehalte van kamervocht, lens en glasvocht in het oog met de totale retina-atrophie even hoog als in het controleoog. Hierdoor schijnt de retina als vitamine C-bron niet in aanmerking te komen.

Hiermede zijn we weer aangeland bij de eerste verklaring: **De lens produceert vitamine C en is oorzaak van het hoge vitamine C-gehalte in het kamervocht.** Deze lensproductie is in het vorige hoofdstuk uitvoerig besproken. Alle in dit proefschrift beschreven waarnemingen, klinische en experimenteele, zijn met deze opvatting in overeenstemming; alle argumenten, die tegen deze opvatting ingebracht zijn, werden klinisch en experimenteel weerlegd.

In het vorige hoofdstuk heb ik aangetoond, dat de lens in staat is vitamine C te produceeren. Is deze lensproductie voldoende om het hoge vitamine C-gehalte van lens en kamervocht te verklaren?

Het kamervocht moet als een stagneerende vloeistof worden beschouwd. De argumenten, die van physico-chemische en chemische zijde bijeen zijn gegaard ten bewijze van den stilstand van het kamervocht, zijn zoo talrijk en overtuigend, dat men gerust de sententie, dat de strooming van het kamervocht onmeetbaar gering zou zijn, kan laten vallen. Ten overvloede zal ik toch een argument aanhalen. Wanneer men, zooals T u t u i (8) deed, de lijn van Ehrlich observeert met de spleetlamp, dan kan men zeer duidelijk zien, dat zij samengesteld is uit een reeks van lijnen, die gelijkmatig gevormd worden en gelijkmatig blijven. Deze gelijkmatigheid wordt alleen verstoord door oogbewegingen en door den convectiestroom, die altijd in het kamervocht aanwezig is. Van het bestaan van een strooming uit de achterste oog-

kamer naar de voorste blijkt bij dit experiment niets. Men vergeve mij deze uitweiding, maar ik heb deze proeven aangehaald, omdat in de quantitative beschouwingen, die nu volgen, een stilstaand kamervocht verondersteld is.

Het konijne oog bevat ongeveer 0.25 cc. kamervocht. Bij een gehalte van 20 mG. % is er in het kamervocht 50 γ vitamine C aanwezig. In de proeven, waarin de lensproductie van vitamine C nagegaan werd, produceerde een konijnlens in 6 uur 138 γ vitamine C, dit is meer dan de dubbele hoeveelheid van het kamervocht.

Wanneer de diffusie uit het kamervocht naar het bloed en de omliggende weefsels langzaam gaat, dan moet de lens in staat geacht worden het vitamine C-gehalte van het kamervocht op peil te houden. Natuurlijk mag men de resultaten, verkregen door proeven in vitro niet zonder meer overbrengen op de omstandigheden in vivo; maar het gaat hier niet om cijfers, maar om mogelijkheden. Als de lens in vitro vitamine C kan produceeren, dan kan ze het ook in vivo; onbekend blijft slechts de grootte van deze productie. Zoolang deze grootte en de diffusiesnelheid van het vitamine C uit het kamervocht naar de omgeving, onbekend zijn, heeft het geen zin verdere beschouwingen over deze quantitative verhoudingen ten beste te geven. De hoofdzaak blijft, dat de productie door de lens en het normaal functioneeren van de bloed-kamervocht-barrière de meest bevredigende verklaring geven voor het hooge vitamine C-gehalte in lens en kamervocht.

HOOFDSTUK VII.

De functie van het vitamine C in lens en kamervocht.

Na de bespreking van de herkomst van het vitamine C in het vorige hoofdstuk, is nu het oogenblik gekomen, de functie van dit vitamine in lens en kamervocht te bespreken. Het vitamine C is, zooals in het voorgaande herhaaldelijk betoogd is, in de lens en het kamervocht op een kleine fractie na in gereduceerden toestand aanwezig. Dit feit heeft tot nu toe slechts enkelen ertoe bewogen experimenteel na te gaan of het vitamine C in het kamervocht als een oxy-reductiesysteem werkt. Müller (1) vond, dat de aanwezigheid van een runderlens in runderkamervocht de oxydatiesnelheid van het vitamine C in dit kamervocht remde. Voordien had Müller (2) reeds gevonden, dat de r_H van kamervocht bij bewaren steeg, d.w.z. dat de reductiekracht verminderde.

Müller duidt deze experimenten als uitdrukking van het feit, dat de lens waterstof aan het geoxydeerde vitamine C afgeeft. Dat de lens in staat is geoxydeerd vitamine C te reduceeren is nooit bewezen. Bonsignore (3) gaf in overweging, dat de reductie van het geoxydeerde vitamine C onder invloed van parasymphatische prikkels, zooals die bij belichting ontstaan, optreedt. Eenig steekhoudend bewijs hiervoor heeft hij nooit gegeven. Zijn opgaven over de vermindering van het geoxydeerde vitamine C in het kamervocht liggen in het gebied van de techniekfouten en daarom is er geen waarde aan te hechten. De hoeveelheid geoxydeerd vitamine, die in het kamervocht aanwezig is, is zoo gering, dat deze hoeveelheid op de grens van de meetbaar-

heid ligt. Een vermindering van deze kleine hoeveelheid ligt binnen de foutenmarge van de metingen.

Ik heb daarom getracht het bewijs te leveren, dat de lens in staat is het vitamine C te reduceeren.

Van de vele proeven, die ik voor dit doel op verschillende manieren en met verschillende uitkomsten gedaan heb, zal ik er maar één vermelden, omdat de uitkomsten van deze ééne proef alle gegevens bevatten, die voor de bespreking van de functie van het vitamine C in lens en kamervocht noodig zijn.

Volgens Fox en Levy (4) heb ik een sterke oplossing van geoxydeerd vitamine C bereid. 10 cc. Ringer-oplossing, waaraan 20 mG. vitamine C toegevoegd is, wordt vermengd met 2 Gram fijngewreven dierlijke kool, norit. Dit mengsel laat men een kwartier staan; daarna wordt het gefiltreerd. In dit filtraat is geen gereduceerd vitamine C meer aanwezig. Met de methode van Emmerie—van Eckelen vond ik, evenals Fox en Levy, dat in dit filtraat nog ongeveer 70 % van de oorspronkelijke hoeveelheid vitamine in den geoxydeerden toestand aanwezig was. De rest was dus irreversibel geoxydeerd.

In een vaatje werd 5 cc. van dit filtraat gedaan en hierin werd een konijnenlens gelegd. Het vaatje werd met een kurk, waardoor twee buisjes liepen, afgesloten. Vervolgens werd stikstof door de vloeistof geleid en daarna werd het geheel luchtdicht afgesloten en in een broedstoof bij 37° geplaatst, waarin het twee uur bleef staan. De controlelens werd in een gelijksoortig vat met 5 cc. Ringer-oplossing zonder geoxydeerd vitamine C geplaatst en na op dezelfde manier met stikstof behandeld te zijn, eveneens 2 uur bebroed. Na deze twee uur heb ik de hoeveelheid gereduceerd vitamine C in de beide Ringer-oplossingen en het gehalte aan geoxydeerd en gereduceerd vitamine C in beide lenzen bepaald.

De lenzen waren na de bebroeding helder, de permeabiliteit van de lenzen was niet veranderd.

De uitkomsten van deze proef geeft de volgende tabel.

TABEL 11.

	Proeflens in Ringer met 142 mG% geoxydeerd vit. C.	Controlelens in Ringer, zonder geoxydeerd vit. C.
Gereduceerd vitamine C in Ringer.	0.159	0.015
Gereduceerd vitamine C in lens.	0.133	0.063
Totale hoeveelheid vita- mine C in lens.	0.306	0.066

De waarden zijn in mG. opgegeven.

Uit deze tabel blijkt:

10. dat de lens een enorm reductievermogen heeft; de hoeveelheid gereduceerd vitamine C in de proeflens en in de Ringer-oplossing van de proeflens samen is ongeveer 4 maal zoo groot als de overeenkomstige hoeveelheden van de controlelens en de Ringer-oplossing van de controlelens.
20. dat het geoxydeerde vitamine C als zoodanig de lens binnendringt; meer dan de helft van de hoeveelheid vitamine C in de proeflens is in geoxydeerden vorm; deze verhouding wordt bij een lens nooit gevonden en is hier veroorzaakt door het groote gehalte aan geoxydeerd vitamine C in de Ringer-oplossing.
30. dat het binnengedrongen geoxydeerde vitamine in de lens gereduceerd wordt; de proeflens bevat ruim 2 maal zooveel gereduceerd vitamine C als de controlelens.
40. dat de reduceerende werking van de lens uitputbaar is. In deze proef is zooveel geoxydeerd vitamine C de lens binnengedrongen, dat wel een belangrijk gedeelte, maar lang niet alles van het geoxydeerde vitamine C gereduceerd is.
50. dat het gereduceerde vitamine C als zoodanig de lens verlaat. Dit bewijst de hoeveelheid gereduceerd vita-

mine C in de Ringer-oplossing van proeflens en controlelens. Bij de vroeger vermelde proeven werd in een zuurstofhoudende Ringer-oplossing waarin een lens gelegen had, geen of zeer weinig gereduceerd vitamine C aangetroffen. Bij deze proef was, door het doorleiden van stikstof, het gereduceerde vitamine C veel beter tegen oxydatie beschermd.

In de bovenbeschreven omstandigheden was de proeflens door het gebrek aan zuurstof en het groote aanbod van geoxydeerd vitamine C onder zeer onphysiologische omstandigheden. Slechts onder deze bijzondere omstandigheden bleek het reductievermogen van de lens uitputbaar te zijn. Met de uitkomsten van deze proef kunnen we ons het volgende denkbeeld vormen over de functie van het vitamine C.

In het kamervocht is het vitamine C hoofdzakelijk in gereduceerden vorm aanwezig. Het kan dus als waterstofdonator, of algemeen gezegd als redoxsysteem fungeren, waarbij het geoxydeerd wordt. De geoxydeerde vorm permeëert in de lens, wordt daar gereduceerd en verlaat in dezen vorm de lens en in het kamervocht kan het spel opnieuw beginnen.

In het kamervocht zijn ook in vivo en in situ de voorwaarden voor oxydatie van het vitamine C aanwezig. Het bevat zuurstof (de Haan, Friedenwald (5, 6) en er zijn sporen koper in aanwezig (Nitzescu en Georgescu (7); koper is de katalysator van de oxydatie van het vitamine C.

In het gepuncteerde kamervocht moet men zelfs groote voorzorgen nemen, om de snelle oxydatie van het vitamine C te voorkomen. We kunnen dus rustig aannemen, dat ook onder physiologische omstandigheden een deel van het gereduceerde vitamine C in het kamervocht geoxydeerd wordt. In de geschetste kringloop van het vitamine C wordt het geoxydeerde vitamine C in de lens weer gereduceerd.

In de onderlinge verhouding der snelheden van deze processen moet de verklaring gezocht worden van het feit, dat

het vitamine in het kamervocht hoofdzakelijk in den gereduceerden toestand voorkomt.

Met deze beschouwing is de grondslag gelegd voor een verdere analyse van functie en beteekenis van het vitamine C voor de lens.

Het geoxydeerde vitamine C, dat de lens binnendringt is een rijke energiebron, want bij de reductie in de lens wordt waterstof opgenomen en deze waterstof wordt door een andere stof afgegeven. Deze laatste stof wordt dus geoxydeerd. Er is geen reductie zonder oxydatie; deze twee processen zijn onafscheidelijk aan elkaar gekoppeld. Natuurlijk moet men goed voor oogen houden, dat oxydatie niet alleen beteekent de opname van moleculaire zuurstof door actieve groepen van de levende substantie. Moleculaire zuurstof immers heeft geen directe inwerking op de meeste stoffen, die in het organisme geoxydeerd worden. Hiervoor is een omzetting van de inactieve zuurstof in een actieven vorm noodig, respectievelijk moeten de stoffen, die geoxydeerd worden, zoo voorbereid worden, dat zij spontaan geoxydeerd kunnen worden. In dit laatste geval spreken we van auto-oxydabel worden van deze stoffen. Zooals we bij het vitamine C gezien hebben is ook het waterstof-armer worden een vorm van oxydatie. Het gaat dus bij deze beschouwing niet alleen om de zuurstof, maar vooral om de waterstof. Voor een oxydatie behoeft de zuurstof niet als gas ter beschikking te staan; het is voldoende, wanneer de zuurstof in gebonden vorm aanwezig is, b.v. als water. De zuurstof van het water gaat naar een te oxydeeren stof, de waterstof naar een andere, die gereduceerd wordt. In de biologische processen moet dus de waterstof geactiveerd en overgedragen worden op een stof, die in staat is waterstof op te nemen, een waterstofacceptor. Bij deze overdraging van waterstof wordt dus de eene stof door waterstofafgifte geoxydeerd, een andere stof, de waterstofacceptor, die waterstof opneemt, gereduceerd.



In deze reactie wordt de benodigde hoeveelheid energie

voor de hydreering gedekt door de energie, die bij dehydreeing vrijkomt. De groote hoeveelheid energie, die bij de processen, waarin zuurstof betrokken is, vrijkomt, stamt van de groote hydreeringsenergie van de zuurstof, en overal waar een oxydatie = hydreering geschiedt, vindt ook een reductie = hydreering plaats, want beide processen zijn onafscheidelijk met elkaar verbonden.

Bij reacties zonder zuurstof ontstaat de z.g. gereduceerde phase spontaan, de geoxydeerde phase onder energieverbruik. Hier komt het op aan. Niet de gepermeëerde stof heeft de lens noodig, maar wel de chemische energie van deze stof, die in een andere vorm van energie kan worden omgezet. Zoo wordt begrijpelijk, dat voor de lens de boven geschetste kringloop van het vitamine C een zeer belangrijke energiebron is.

Ik heb hier de eene zijde van het probleem van de functie van het vitamine C geschetst, waarbij het vitamine C geoxydeerd de lens binnendringt en gereduceerd de lens weer laat. De geoxydeerde vorm wordt steeds opnieuw door het kamervocht, waar het gereduceerde vitamine geoxydeerd wordt, geleverd.

In de lens zelf echter kan het gereduceerde vitamine ook geoxydeerd en weer gereduceerd worden. Dit is de tweede mogelijkheid van de werking als oxy-reductiesysteem van het vitamine C.

Nadere bijzonderheden over deze tweede werkingwijze zijn nog niet bekend, maar de feiten, dat de lens groote hoeveelheden glutathion bevat, dat het vitamine C kan reduceeren, en ook lactoflavine, dat grooten invloed heeft op de oxydatie van het vitamine bij belichting, pleiten er voor, dat deze drie oxyreductiesystemen onderling een levendige oxyreductieve wisselwerking onderhouden.

SAMENVATTING.

Nadat in het eerste hoofdstuk de eigenschappen en het voorkomen van het vitamine C beschreven zijn en zijn functie als oxyreductiesysteem, wordt uitvoerig de methode van de bepaling van het vitamine C, zooals zij bij de gedane proeven werd toegepast, beschreven. Er wordt op de groote beteekenis gewezen van de bewerking volgens Emmerie-van Eekelen.

In het tweede hoofdstuk wordt het vitamine C-gehalte van de deelen van het oog besproken, en de veranderingen van dit gehalte bij oogaandoeningen.

De in de literatuur aanwezige meeningen over de oorzaak van het hooge vitamine C-gehalte in het oog worden weergegeven. Daarbij wordt naar voren gebracht, dat uit de in de literatuur aanwezige feiten de gevolgtrekking mag worden gemaakt, dat de geheele reductiewaarde van kamervocht, lens en glasvocht gevonden met het reagens van Tillmans bij een p_H beneden 2.5 op rekening van het vitamine C geschreven mag worden.

Het derde hoofdstuk is een critische beschouwing der tot nu toe in de oogheelkunde toegepaste therapie met vitamine C bij cataract, intraoculaire bloedingen, chronische iridocyclitis en eenige andere oogaandoeningen.

In het vierde hoofdstuk worden eigen onderzoekingen beschreven over het vitamine C-gehalte van het bloed, het kamervocht en de lenzen bij cataractlijders, waarbij bleek, dat bij cataractlijders geen stoornis in de vitamine C-huishouding van het organisme bestaat, terwijl het vitamine C-gehalte van het kamervocht en de lens afneemt bij toename van de cataracteuze troebelingen. Hieruit blijkt het innige verband, dat er tusschen het vitamine C-gehalte van de lens en kamervocht bestaat en het voortschrijden van de staar. Door therapeutische toediening van vitamine C is het voortschrijden van de cataract niet te remmen. In het aphake oog bevat het kamervocht zeer weinig vitamine C, het ge-

halte is hier van dezelfde orde als de bloedwaarde, tenzij het tot de vorming van een kikkerritnastaar komt. Deze nastaar is n.l. samengesteld uit kleine, levende lensjes in tegenstelling met de membraneuze nastaar, waar nieuwgevormde lensvezels afwezig zijn.

Bij intraoculaire bloedingen, ook bij recidiveerende juveniele glasvochtbloedingen, is de vitamine C-voorziening van het organisme normaal, evenals de verzadigingswaarde. Hetzelfde werd bij iridocyclitis gevonden. Een gunstige uitwerking van de aangewende vitamine C-therapie werd niet gevonden.

In het vijfde hoofdstuk worden de resultaten van eigen onderzoek over het lensmetabolisme in verband met het vitamine C beschreven.

Ten eerste wordt aangetoond, dat de overlevende konijnen-, apen- en menschenlens in staat is vitamine C aan te maken. Verder werd nagegaan het zuurstofverbruik en de koolzuurproductie, het glucoseverbruik en de melkzuurproductie van de overlevende lens. De overlevende konijnenlens verbruikt per uur gemiddeld $24 \gamma \text{ O}_2$ en 120γ glucose en produceert gemiddeld per uur $33 \gamma \text{ CO}_2$ en 70γ melkzuur.

Uit het respiratorische quotiënt, waarvoor de waarde 1 gevonden werd, blijkt dat de zuurstof gebruikt wordt voor de oxydatie van koolhydraten.

De gasstofwisseling werd gemeten met den oxycombustiometer van Frederik, de glucosebepalingen werden verricht volgens de methode van Sankaran en Rajagopal, de melkzuurbepalingen volgens Mendel en Goldscheider.

De ijking van den oxycombustiometer geschiedde met behulp van vitamine C. De hoeveelheid zuurstof, die gebonden wordt bij de oxydatie van een bekende hoeveelheid vitamine C — deze hoeveelheid wordt titrimetrisch bepaald — werd berekend. Deze berekende hoeveelheid zuurstof geeft een bepaalden galvanometeruitslag van den oxycombustiometer. Dit principe kan voor ijking van toestellen voor gasanalyse gebruikt worden, en werd hier voor de eerste maal toegepast.

De metingen veroorloofden het opstellen van de volgende balans.

De verbruikte glucose wordt voor het grootste gedeelte geglycolyseerd. Dit gedeelte kan worden berekend uit de melkzuurproductie. Uit het zuurstofverbruik kan worden berekend, hoeveel van de niet-geglycolyseerde glucose geoxydeerd is, omdat bij de gevonden respiratorische quotiënt van 1 aangenomen mag worden, dat de zuurstof geheel voor verbranding van koolhydraten verbruikt wordt. Er blijft nu nog een koolhydraatoverschot, waaruit het vitamine C kan worden gevormd. Uit de hoeveelheid aangemaakte vitamine C wordt berekend, dat dit glucoseoverschot grooter is dan voor de vitamine C-productie noodig zou zijn. Het door de lens geproduceerde vitamine C mag dus als een bijproduct van de glucosafbraak beschouwd worden.

In hoofdstuk VI wordt de theorie van Goldmann en Buschke over het voorkomen van het hooge vitamine C-gehalte in het kamervocht proefondervindelijk nagegaan. Volgens deze theorie gaat het geoxydeerde vitamine C van het bloed gemakkelijk in de voorste oogkamer over; hier wordt het vitamine door de lenswerking gereduceerd en de barrière tusschen bloed en kamervocht is voor het gereduceerde vitamine C moeilijk doorgankelijk. Deze theorie is onhoudbaar, want:

1. het vitamine C komt in het bloedplasma hoofdzakelijk in den gereduceerden vorm voor;
2. de uitkomsten van de proeven van Goldmann en Buschke, waarbij zij na toediening van adrenaline geen verhooging van het vitamine-gehalte in het kamervocht vonden, moeten niet uitgelegd worden in dien zin, dat ondanks de vermindering van de permeabiliteit van de bloed-kamervocht-barrière het vitamine C-gehalte in het kamervocht niet stijgt, maar wel moet hier overwogen worden, dat door de directe oxydeerende werking van het adrenaline op vitamine C een stijging van dit gehalte als gevolg van de verminderde permeabiliteit van de barrière, tegengewerkt wordt;

3. bij de proeven, waarbij vitamine C intraveneus ingespoten werd, werd het bloedgehalte hooger dan het kamervochtgehalte. Door een onvolkomen techniek ontging dezen schrijvers deze zeer groote stijging van het bloedgehalte;
4. het gelukte aan te toonen, dat na een vermindering van de permeabiliteit van de barrière door atropine, het kamervochtgehalte steeg.

Het vitamine C van het kamervocht wordt dus niet door het bloed geleverd, maar moet uit andere bronnen komen. Hiervoor komt alleen de lens in aanmerking, waarop reeds het lage gehalte bij aphakie wijst. De mogelijkheid van een invloed van iris en netvlies werd onderzocht, maar kon niet aangetoond worden. Een berekening maakt aannemelijk, dat de vitamine C-productie door de lens in vitro ruim voldoende is om het hooge vitamine C-gehalte van het kamervocht op peil te houden.

In hoofdstuk VII wordt proefondervindelijk aangetoond, dat de lens in staat is zeer groote hoeveelheden geoxydeerd vitamine C te reduceeren. Dit reductievermogen is uitputbaar. Verder wordt aangetoond, dat het vitamine C in gereduceerden toestand de lens verlaat, en dat de geoxydeerde vorm de lens kan binnendringen. Het wordt aannemelijk gemaakt, dat het gereduceerde vitamine C in de voorste oogkamer voortdurend geoxydeerd wordt en dat deze geoxydeerde vorm de lens binnendringt en daar gereduceerd wordt. Deze kringloop, die naast de vitamine C-productie in en om de lens plaats vindt, beteekent voor de lens een belangrijke aanvoer van energie.

In de lens en kamervocht functioneert het vitamine C dus als een energie-leverend reversibel oxyreductiesysteem, een functie, die men weliswaar steeds ook in het levende weefsel aan het vitamine C toegeschreven heeft, maar die men nooit experimenteel heeft kunnen aantonen.

ZUSAMMENFASSUNG.

Nachdem im ersten Kapitel Eigenschaften und Chemie des C-Vitamins beschrieben wurden, sowie sein Vorkommen und seine Funktion als Oxy-reduktionssystem, werden ausführlich die Methoden der C-Vitaminbestimmung, sowie sie in meinen Versuchen angewandt wurden, dargelegt.

Es wird auf die grosse Bedeutung des Arbeitsgangs nach v. Eekelen-Emmerie hingewiesen.

Im zweiten Kapitel wird der C-Vitamingehalt der einzelnen Teile des Auges besprochen und dessen Veränderungen bei Augenkrankheiten. Die in der Literatur niedergelegten Meinungen über die Ursachen des hohen C-Vitamingehalts des Auges werden mitgeteilt und es wird aufgezeigt, dass die in der Literatur zu findenden Tatsachen den Schluss nahelegen, dass der gesamte Reduktionswert von Kammerwasser, Linse und Glaskörper, nachgewiesen mit dem Tillmans'schen Reagenz, durch das C-Vitamin verursacht wird.

Das dritte Kapitel gibt eine kritische Übersicht der bis jetzt in der Augenheilkunde angewandten C-Vitamintherapie bei Katarakt, intraocularen Blutungen, chronischen Iridocyklitiden und einigen anderen Augenerkrankungen.

Das vierte Kapitel befasst sich mit eigenen Untersuchungen über den C-Vitamingehalt des Blutes, des Kammerwassers und der Linse von Kataraktpatienten. Es zeigte sich, dass Kataraktpatienten keinen gestörten C-Vitaminhaushalt haben, während der C-Vitamingehalt des Kammerwassers und der Linse abnimmt mit zunehmender kataraktösen Linsentrübung. Dies beweist eine korrelative Verknüpfung des Fortschreitens der Katarakt mit dem C-Vitamingehalt von Linse und Kammerwasser. C-Vitaminmedikation kann die Entwicklung der Katarakt nicht aufhalten.

Im aphaken Auge hat das Kammerwasser einen geringen C-Vitamingehalt, wenn es nicht zur Ausbildung eines Kristallkugelnachstars kommt. Bekanntlich ist diese Nachstar-

form durch abortive Linsenbildung verursacht im Gegensatz zum membranösen Nachstar, der keine neugeformten Linsenfasern führt und bei dessen Anwesenheit man im Kammerwasser auch niemals höhere C-Vitaminskonzentrationen findet.

Bei intraokularen Blutungen, vor allem bei juvenilen rezidivierenden Glaskörperblutungen, ist die C-Vitaminversorgung des Organismus normal, ebenso die Sättigungswerte.

Ganz gleich verhalten sich die Iridocyklitiden. Ein günstiger Effekt einer C-Vitamintherapie konnte bei diesen Erkrankungen nicht erzielt werden.

Im fünften Kapitel werden die Resultate von Versuchen über den Linsenstoffwechsel im Zusammenhang mit C-Vitamin beschrieben. Experimentell wird nachgewiesen, dass die überlebende Kaninchen-, Affen- und Menschenlinse C-Vitamin zu produzieren vermag.

Ausführlich wird studiert der Sauerstoffverbrauch und die Milchsäureproduktion der überlebenden Linse. Die überlebende Kaninchenlinse verbraucht dabei pro Stunde im Mittel 24 γ Sauerstoff und 120 γ Glukose und produziert pro Stunde 35 γ CO₂ und 70 γ Milchsäure. Dass die Linse stoffwechselt auf Kosten der Kohlehydrate beweist ihr respiratorische Quotient, dessen Wert Eins beträgt. Der Gasstoffwechsel wurde gemessen mit dem Oxykombustimeter von Frederik, die Glukosebestimmungen wurden nach Sankaran und Rajagopal, die Milchsäurebestimmungen nach Mendel und Goldscheider ausgeführt. Zur Eichung des Oxykombustimeters wurde ebenfalls C-Vitamin verwendet, und zwar so, dass die in einer bestimmten Zeit oxydierte Menge C-Vitamin titrimetrisch bestimmt wurde, welches C-Vitamin den zur Oxydation notwendigen Sauerstoff aus dem den Oxykombustimeter speisenden Luftstrom entnahm. Da die zur Oxydation dieser C-Vitaminmenge nötige Sauerstoffmenge berechnet werden kann, kann jedem Galvanometerstand der zugehörige Sauerstoffwert zugeordnet werden. Diese Art der Eichung kann zur Eichung jedes Gasanalyseapparates verwendet werden, und wurde für diese Zwecke zum ersten Male angewendet.

Die Messungen gestatteten das Aufstellen der folgenden Bilanz. Von der verbrauchten Menge Glukose wird ein sehr grosser Teil glykolisiert. Ihn kann man aus der Milchsäureproduktion berechnen. Aus dem Sauerstoffverbrauch kann wiederum berechnet werden, wieviel vom Glukoseret oxydiert wird. Man kann nämlich, weil der respiratorische Quotient Eins ist, ohne weiters annehmen, dass der Sauerstoff zur Kohlehydratverbrennung verwendet wird. Es bleibt dann noch ein Kohlehydratüberschuss, aus welchem das C-Vitamin gebildet werden kann. Die C-Vitaminproduktion ist de facto kleiner als der Glukoseüberschuss. Das C-Vitamin erscheint demnach als ein Nebenprodukt des Kohlehydratabbaus in der Linse.

Das folgende Kapitel setzt sich experimentell auseinander mit der Theorie von Goldmann und Buschke über das Zustandekommen des C-Vitamingehalts des Kammerwassers, den diese Autoren als verursacht hinstellen durch den leichten Übergang des im Blut in oxydierter Form vorhandenen C-Vitamins aus dem Blut in die Vorderkammer, aus welcher das durch die Linse reduzierte C-Vitamin die Blutkammerwasserschranke nicht passieren kann. Diese Theorie muss abgelehnt werden, weil:

1. das C-Vitamin in Blutplasma beinahe vollständig in reduzierter Form vorhanden ist.
2. weil die Versuche von Goldmann und Buschke, in welchen sie die Blutkammerwasserschranke für den Übergang von C-Vitamin aus dem Blut in die Vorderkammer durch Adrenalin abdichteten, eine Verminderung des C-Vitamingehalts des Kammerwassers verursachten, nicht durch tatsächliche Verhinderung des Übergangs von C-Vitamin aus dem Blut ins Kammerwasser, sondern durch Oxydation des C-Vitamins des Kammerwassers durch direkt am Auge angewandtes Adrenalin.
3. weil Goldmann und Buschke bei ihren Injektionsversuchen so grosse Mengen C-Vitamin intravenös ein-

verleibten, dass der C-Vitamingehalt des Blutes den C-Vitamingehalt des Kammerwassers beträchtlich überstieg. Die Grösse der im Blut erzielten C-Vitaminskonzentration entging Goldmann und Buschke in Folge ihrer Technik.

4. weil ich nachweisen konnte, dass das die Blutkammerwasserschranke ebenfalls abdichtende Atropin die Kammerwasser-C-Vitamin-konzentration erhöht.

Das C-Vitamin des Kammerwassers wird also nicht vom Blute geliefert, sondern muss anderen Quellen entstammen. Hierfür kommt nur die Linse in Betracht, wie schon der C-Vitamingehalt im Kammerwasser im aphaken Auge anzeigt. Trotzdem wurde die Möglichkeit einer Beeinflussung durch Iris und Netzhaut untersucht, doch war diese nicht nachweisbar.

An einer Überschlagsberechnung wird demonstriert, dass die *in vitro* gefundene C-Vitaminproduktion der Linse den hohen C-Vitamingehalt des Kammerwassers zu unterhalten vermag.

Im letzten Kapitel wird schliesslich festgelegt, dass die Linse sehr grosse Mengen von oxydiertem C-Vitamin zu reduzieren imstande ist, dass ihre Reduktionskraft erschöpfbar ist, dass C-Vitamin aus der Linse in reduzierter Form austritt, und dass das oxydierte C-Vitamin in die Linse eintreten kann. Es wird dargelegt, dass das reduzierte C-Vitamin der Vorderkammer fortwährend oxydiert wird, als solches in die Linse geht und in ihr reduziert wird. Dieser Kreislauf, der neben der C-Vitaminproduktion in und um die Linse statthat, ist für die Linse eine wichtige Energiequelle.

In Linse und Vorderkammer funktioniert das C-Vitamin also als ein energielieferndes, reversibles Oxyreduktionssystem, eine Funktion, deren Bestehen auch im lebenden Organismus man zwar immer angenommen hat, aber die man bisher niemals experimentell nachzuweisen imstande war.

LITERATUUR.

HOOFDSTUK I.

1. Holst en Fröhlich. *Zeitschr. Hyg.* 72—1—1912.
- 2. Höjer. *Brit. Journ. Exp. Path.* 7—356—1926.
3. Tillmans, Hirsch, Jackisch, Dick, Vaubel, e.a. *Ztschr. Unters. Lebensm.* 60—34—1930.
4. Birch, Harris en Ray. *Bioch. Journ.* 27—590—1933.
5. Fujita en Iwatake. *Bioch. Zeitschr.* 277—293—1935.
6. Wachholder en Podestà. *Zeitschr. physiol. Chem.* 239—149—1936.
7. Mathiesen en Aschehoug. *Arch. f. Mathem. og Naturvidensk.* 41—8—1937 (norw.)
8. Martini en Bonsignore. *Biochem. Zeitschr.* 273—170—1934.
9. Bezssonoff. *Zeitschr. Vitaminforsch.* 5—193—1936.
10. Tauber en Kleiner. *Journ. biol. Chem.* 108—563—1935.
11. van Eckelen. *Diss. Utrecht 1936. Uitg. Schotanus & Jens.*
12. Emmerie en van Eckelen. *Bioch. Journ.* 28—1153—1934.
13. van Eckelen. *Acta brev. Neerl. Physiol.* 7—68—1937.
14. Tauber en Kleiner. *Journ. biol. Chem.* 110—559—1935.
- 15. Giroud en Leblond. *Presse méd.* p. 1085—1935.
16. E. Noyons. *Acta brev. neerl. Physiol.* 7—79—1937.
17. Meuwissen en Noyons. *Acta brev. Neerl. Physiol.* 8—85—1938.
18. van Eckelen. *Nature (L.)*. 136—144—1935.
19. Wachholder, Baucke en Podestà. *Pflüger's Archiv.* 241—495—1938.
20. Reedman en Mc. Henry. *Bioch. Journ.* 32—85—1938.

HOOFDSTUK II.

1. Harris. *Nature (L.)*. 132—27—1933.
2. Birch en Dann. *Nature (L.)*. 131—469—1933.
3. Nakamura en Nakamura. *Graefe's Archiv.* 135—87—1936.
4. Gurewitsch. *Arch. f. Augenheil.* 108—572—1934.
5. Glick en Biskind. *Arch. of Ophthalm.* 16—990—1936.
6. Evans. *Nature (L.)*. 180—1934.
7. Birch en Dann. *Bioch. Journ.* 28—638—1934.
8. Kawachi. *Hoppe—Seyler's Zeitschr.* 225—273—1934.
9. v. Euler en Malmberg. *Hoppe—Seyler's Zeitschr.* 225—230—1934.
10. Bietti en Carteni. *Boll. Soc. ital. Bioch. sper.* 9—983—1934.
11. Demole en Müller. *Bioch. Zeitschr.* 281—80—1935.
12. Bietti en Carteni. *Boll. Soc. ital. Bioch. Sper.* 9—1245—1934.
13. Johnson. *Bioch. Journ.* 30—1430—1936.
14. Monjukowa en Fradkin. *Graefe's Arch.* 133—328—1935.
15. v. Eckelen, Emmerie, Josephy en Wolff. *Klin. Wchnschr.* 13—564—1934.
16. v. Euler, Hellström, Schlenk, Günther. *Graefe's Arch. u. Arch. f. Augenheilk.* 140—116—1939.
17. Bellows en Rosner. *Am. Journ. of Ophthalm.* 16—248—1936.
- 18. Podestà en Baucke. *Graefe's Arch. u. Arch. f. Augenheilk.* 139—720—1938.
19. Müller en Buschke. *Arch. f. Augenheilk.* 108—368—1934.
20. Bietti. *Boll. ocul.* 14—938—1935.
21. v. Euler en Martius. *Hoppe Seyler's Zeits.* 222—6—1933.
22. Bietti en Carteni. *Boll. Soc. ital. Biol. Sper.* 9—283—1934.
23. Bietti. *Boll. Ocul.* 14—3—1935.
24. Kagawa. *Acta Soc. ophthalm. Jap.* 42—70—1938.

25. Müller. Arch. f. Augenheilk. 109—304—1935.
26. Franta Jiri. C. R. Soc. de Biol. 126—110—1937.
27. Gurewitsch. Arch. f. Augenheilk. 108—572—1934.
28. Müller en Buschke. Arch. f. Augenheilk. 108—592—1934.
29. Gala en Melka. Arch. f. Augenheilk. 109—726—1935.
30. Nordmann en v. Wien. Bul. Soc. ophth. Paris nr. 3—136—1934.
31. Smaltino. Boll. ocul. 14—934—1935.
32. Bellows. Arch. of Ophthalm. 16—58—1936.
33. Nakamura en Nakamura Chuo Ganka Iho. 28—77—1936.
Ref. in Zentralbl. Ophthalm. 37—271—1937.
34. Mouriquand en Rollet. C. R. Soc. biol. Paris. 122—1118—1936.
35. Moriyama. Journ. of biochem. 24—81—1936.
36. Brühl. Diss. Basel 1936.
37. Sai. Acta Soc. ophthalm. Jap. 40—1678, 1700 en 1713—1936.
38. Hradecká, Joachim en Kódicek. Ceskolov. Oftalm. 3—37 en 44—1937.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 39—365—1937.
39. Nastri. Boll. ocul. 16—504—1937.
40. Carteni. Boll. Soc. ital. Biol. sper. 12—686—1937.
41. Smaltino. Riv. Pat. sper. 7—304—1937.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 40—501—1938.
42. Lo Cascio. Ann. Ottalm. 65—801—1937.
43. Ehara. Chuo Ganka Iho. 30—1—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 42—269—1939.
44. Franta Jiri. Arch. f. Augenheilk. 110—574—1937.
45. Mizukawa. Chuo Ganka Iho. 29—34—1937.
Ref. Zentralbl. Ophth. 40—581—1938.
46. Murayama. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 41—74—1937.
47. Kobayastri. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 42—42—1938.
48. Goldmann en Buschke. Arch. f. Augenheilk. 109—314—1935.
49. Buschke. Arch. f. Augenheilk. 109—691—1936.
50. Tatsumi, Nagao, Okamura, Gamo. Klin. Wechnscr. 1007—1935.
51. Bonsignore. Bol. soc. ital. Biol. sper. 10—62—1935.
52. Ciotola. Atti Congr. Soc. Oftalm. ital. 271—1936.
Ref. Zentralb. Ophthalm. 37—270—1937.
53. Uchida. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 40—1723—1936.
54. Cella. Bioch. e Ter. sper. 24—483—1937.
Ref. Zentralbl. Ophth. 40—503—1938.
55. Hawley en Pearson. Arch. of Ophthalm. 19—95—1938.
56. Tutui. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 42—93—1938.
57. Uchida. Fol. Ophthalm. orient. 2—283—1936.
Zentralbl. Ophthalm. 39—251—1937.
58. Murayama. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 41—74—1937.
59. Bonsignore. Boll. Soc. biol. sper. 10—505—1935.
60. Bonsignore. Boll. soc. biol. sper. 10—62—1935.
61. Ciotola. Boll. ocul. 15—740—1936.
62. Galante. Atti Accad. Sci. med. Palermo. H1—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 42—399—1939.
63. Tatsumi, Okamura, Nagao en Gamo. Psychiatr. et neurol. Jap. 40—
23—1936.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 37—274—1937.
64. Cavallacci. Arch. Ottalm. 42—149—1935.
Ref. Zentrabl. 34—664—1935.
65. Kasahara. Scripta Soc. radiol. Jap. 5—283—1937.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 40—368—1938.
66. Mizukawa. Acta Soc. Ophthalm. Jap. 42—138—1938.
67. Bakker. Graefe's Arch. 136—166—1936.

68. **Bezssonoff, Nordmann en Reiss.** C. r. soc. biol. Paris. 123—1196—1936.
69. **Müller.** Arch. f. Augenheilk. 109—434—1935.
70. **F. P. Fischer.** Klin. Wchuschr. I—596—1934.
71. **F. P. Fischer.** Ergebn. d. Physiol. 31—507—1931.
72. **v. Euler en Klussmann.** Arkiv. f. Kemi. 11 B—nr. 17—1933.
73. **Bakker.** Graefe's Archiv. 135—581—1936.
74. **Goldmann en Buschke.** Arch. f. Augenheilk. 109—205—1935.

HOOFDSTUK III.

1. **Goldmann en Buschke.** Arch. f. Augenheilk. 109—205—1935.
2. **Monjukowa en Fradkin.** Graefe's Arch. 133—328—1935.
3. **F. P. Fischer.** Zentralbl. Ophthalm. 25—1—1931.
4. **Pavia.** Klin. Mntbl. Augenheilk. 99—292—1937.
5. **Mises—Reif.** Acta Ophthalm. orient. 1—170—1939.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 43—567—1939.
6. **Silva en Novais.** Arg. Clin. oftalm. e otol. 5—301—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 44—27—1939.
7. **Jeandelize en Bardelli.** Bul. Soc. Ophthalm. Paris. 4—287—1939.
8. **Alvaro.** Arg. Clin. oftalm. e otol. 5—104—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 43—311—1939.
9. **Derkac.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 100—236—1938.
10. **Josephson.** Science. 82—222—1935.
11. **Vogt.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 100—497—1938.
12. **Müller.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 101—143—1938.
13. **Vogt.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 101—530—1938.
14. **Krause.** Arch. of Ophthalm. 23—487—1940.
15. **Seefried.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 99—538—1937.
16. **Bellows.** Arch. of Ophthalm. 15—78—1936.
17. **Nastri.** Atti Congr. Soc. oftalm. ital. 445—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 43—104—1939.
18. **Kabacher.** Festschr. Vogt. 1939.
19. **Bertoldi.** Rass. ital. Ottalm. 8—572—1939.
20. **Hawley en Pearson.** Arch. of Ophthalm. 19—95—1938.
21. **Urbanek.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 101—670—1938.
22. **Shapiro en Hurwitz.** Arch. of pediat. 55—327—1938.
23. **Viallefond en Diacono.** Arch. d'Ophthalm. 52—730—1935.
24. **Urbanek en Albrecht.** Zeitschr. f. Augenheilk. 95—129—1938.
25. **Malling.** Med. Rev. 55—280—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 42—62—1939.
26. **Ruge.** Hippokrates. 66—1940.
Zentralbl. Ophthalm. 45—103—1940.
27. **Brecher.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 95—796—1935.
28. **Buschke.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 100—478—1938.
29. **de Wit.** Ned. T. v. Geneesk. 84—1468—1940.

HOOFDSTUK IV.

1. **Nastri.** Atti Congr. Soc. Oftalm. ital. 445—1938.
2. **Kabacher.** Festschr. Vogt. 1939.
3. **Bertoldi.** Rass. ital. Ottalm. 8—572—1939.
4. **Hawley.** Arch. of Ophthalm. 19—95—1938.
5. **Urbanek.** Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 101—670—1938.
6. **Seefried.** Graefe's Arch. 138—620—1938.
7. **Bellows.** Arch. of Ophthalm. 15—78—1936.
8. **Silva en Novais.** Arg. Clin. oftalm. e otol. 5—301—1938.

Ref. Zentralbl. Ophthalm. 44—27—1939.

9. Gala en Melka. Arch. f. Augenheilk. 109—726—1935.
10. Franta Jiri. Arch. f. Augenheilk. 110—574—1937.
11. Cella. Biochim. e Ter. sper. 24—483—1937.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 40—503—1938.
12. F. P. Fischer. Arch. f. Augenheilk. 108—527—1934.
13. Bakker. Graefe's Arch. 136—166—1936.
14. Franceschetti. Klin. Mntbl. f. Augenheilk. 100—478—1938.
15. Urbanek. Zeitschr. f. Augenheilk. 95—129—1938.
16. Malling. Med. Rev. 55—280—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 42—62—1939.

HOOFDSTUK V.

1. F. P. Fischer. Arch. f. Augenheilk. 108—80—1933.
2. Harden en Zilva. Bioch. Journ. 14—131—1920.
3. de Haan. Bull. Histol. Appl. 4—Nr. 8 1927.
4. Bakker. Graefe's Arch. 135—581—1936.
5. Sankaran en Rajagopal. The Ind. Journ. of Med. Res. 24—459—1936.
6. Shaffer en Williams. Journ. Biol. Chem. 111—707—1935.
7. Somogyi. Journ. Biol. Chem. 86—655—1930.
8. Mendel en Goldscheider. Bioch. Zeitschr. 164—163—1925.
9. Frederik. Diss. Utrecht 1939. Uitg. Bosch en Zn.
10. Hopkins en Morgan. Bioch. Journ. 30—1446—1936.
11. Barron, de Meio en Klemperer. Journ. of Biol. Chem. 112—625—1936.
12. Stotz, Harrer, King. Journ. of Biol. Chem. 119—511—1937.
13. Silverblatt en King. Enzymologica. 31—222—1938.
14. Kronfeld. Zeitschr. Augenheilk. 65—41—1928.
15. Friedenwald. Arch. of Ophthalm. 17—477—1937.
16. F. P. Fischer. Ergebn. d. Physiol. 31—507—1931.
17. Süllmann. Arch. f. Augenheilk. 110—303—1937.
18. Müller. Graefe's Arch. 140—171—1939.
19. Weekers. Arch. d'Ophthalm. 707—1937.
20. v. Euler en Klussmann. Ark. f. kemi 11B—m17—1933.
21. v. Euler e.a. Graefe's Arch. 140—116—1939.
22. Müller. Arch. f. Augenheilk. 110—321—1937.

HOOFDSTUK VI.

1. Goldmann en Buschke. Arch. f. Augenheilk. 109—205—1935.
2. Buschke. Arch. f. Augenheilk. 109—691—1936.
3. Kikai. Arch. f. Augenheilk. 104—134—1930.
4. Galante. Atti accad. Sci med. Palermo. H1—1938.
Ref. Zentralbl. Ophthalm. 42—399—1939.
5. Bonsignore. Boll. Soc. ital. Biol. sper. 10—62—1935.
6. Nakamura en Nakamura. Graefe's Arch. 135—87—1936.
7. Podesta en Baucke. Graefe's Arch. 139—720—1938.
8. Tutui. Arch. f. Augenheilk. 103—580—1930.

HOOFDSTUK VII.

1. Müller. Arch. f. Augenheilk. 108—592—1934.
2. Müller. Arch. f. Augenheilk. 108—50—1934.
3. Bonsignore. Boll. Soc. Biol. sper. 10—505—1935.
4. Fox en Levy. Bioch. Journ. 30—208—1936.
5. de Haan. Arch. Neerl. de Physiol. 7—245—1922.
6. Friedenwald. Arch. of Ophthalm. 17—477—1937.

I N H O U D.

	Pag.
Inleiding	1
HOOFDSTUK I.	
Het vitamine C.	
A. Physische en Chemische Eigenschappen	3
B. Bepaling van het vitamine C	5
C. Voorkomen van het vitamine C	16
D. Functie van het vitamine C	19
HOOFDSTUK II.	
A. Het vitamine C-gehalte van de deelen van het oog	21
B. Het gehalte aan vitamine C van de ooglens en het kamervocht bij oogandoeningen en de experimenteele beïnvloeding van dit gehalte	27
C. De herkomst van het vitamine C in kamervocht en ooglens	30
HOOFDSTUK III.	
Het vitamine C in de oogheekkundige therapie	39
HOOFDSTUK IV.	
Eigen onderzoek over het vitamine C-gehalte van het bloed bij gezonden en ooglijders, en van het kamervocht en de ooglens bij eenige oog-ziekten	46
HOOFDSTUK V.	
Een onderzoek over het lensmetabolisme in verband met het vitamine C.	
A. Onderzoek naar het vermogen van de lens om vitamine C te maken	60
B. Een proeve van een balans van de energie-huishouding van de lens	65

HOOFDSTUK VI.

Herkomst van het vitamine C in lens en kamervocht	99
---	----

HOOFDSTUK VII.

De functie van het vitamine C in lens en kamervocht	108
Samenvatting	114
Zusammenfassung	118
Literatuuroverzicht	122

STELLINGEN.

I.

Belichting van het oog beïnvloedt de stofwisseling van de lens.

II.

Bij de afbraak van koolhydraten door de lens ontstaan behalve vitamine C nog andere bijproducten.

III.

Er zijn nog mogelijkheden voor de vitamine C-therapie in de oogheekunde, die nader bestudeerd moeten worden.

IV.

Voor de behandeling van anaemie is de bepaling van de hoeveelheid ijzer in het serum van groote beteekenis.

V.

Voor de diagnose van de ziekte van Pick is het verrichten van encephalographie een belangrijk hulpmiddel.

VI.

De coxa vara adolescentium moet worden „gepend”.

VII.

Men verrichte bij de ziekte van Menière suboccipitale punctie.

VIII.

De ongunstige invloed van tabak-rooken op zware lichamelijke prestaties kan althans ten deele verklaard worden door het tijdens het rooken gevormde CO-haemoglobine.

IX.

Acrodynie (ziekte van Selter-Swift-Feer) is een infectieziekte.

X.

De argumenten van Deelman in zijn critiek op de theorie van Kögl over de aetiologie van tumoren zijn niet voldoende klemmend om deze theorie te verwerpen.

XI.

Een hartgebrek mag nooit een indicatie zijn voor het verrichten van keizersnede.

XII.

De uitreiking van een „gezondheidsboekje” aan de burgerbevolking verdient geen aanbeveling.

