Het phosphatiden- en cholesterinegehalte van het serum tijdens senium en puerperium en het eventueel verband met den stollingstjd van het bloed

Het Phosphatiden- en Cholesterinegehalte van het Serum tijdens Senium en Puerperium en het eventueel verband met den stollingstijd van het bloed

Het Phosphatiden- en Cholesterinegehalte van het serum tijdens Senium en Puerperium en het eventueel verband met den stollingstijd van het bloed.

Diss Utrecht 1941

HET PHOSPHATIDEN- EN CHOLESTERINEGEHALTE VAN HET SERUM TIJDENS SENIUM EN PUERPERIUM EN HET EVENTUEEL VERBAND MET DEN STOLLINGSTIJD VAN HET BLOED

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN WAARNEMEND RECTOR-MAGNIFICUS L. VAN VUUREN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG 19 DECEMBER 1941, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

JOHAN BERNARD PROOST

ARTS TE DEN HELDER

GEBOREN TE UTRECHT

N.V. DRUKKERIJ EN UITGEVERIJ V/H C. DE BOER JR. - DEN HELDER

Aan mijn Vrouw.

Aan mijn Vader.

Aan de nagedachtenis
van mijn Moeder.

5

Het verschijnen van dit proefschrift is een mijlpaal in mijn medische vorming. Allen, die aan deze vorming hebben bijgedragen, zeg ik hier gaarne dank.

U, die mijn leermeesters waren tijdens mijn academische opleiding, dank ik voor het van U genoten onderwijs.

Hooggeleerde HYMANS VAN DEN BERGH. *U, die een blijvende belangstelling voor de inwendige geneeskunde bij mij wist te wekken, blijf ik dankbaar voor wat ik tijdens mijn studententijd van U heb mogen leeren.*

Hooggeleerde DE LANGEN. *Hooggeachte Promotor. Hoewel geen oud-leerling van U, zijt ge mij met een niet genoeg te waardeeren welwillendheid en hulpvaardigheid tegemoet gekomen tijdens de voorbereiding van dit proefschrift. In een niet gemakkelijken tijd heeft uw stimuleerende leiding invloed gehad op het bereiken van mijn doel.*

Zeergeleerde DE JONGH. *Zeer veel hebt gij bijgedragen tot mijn medische vorming tijdens de jaren, die ik als uw assistent in het Haagsche Gemeente Ziekenhuis doorbracht. Uw groote kennis en nuchter inzicht in de vaak moeilijke vraagstukken, gepaard aan een juiste mate van vrijheid, die gij uw assistenten liet bij de behandeling der patienten, hebben gemaakt, dat deze jaren voor mij bijzonder waardevol zijn geweest. Ik zeg U hiervoor zeer hartelijk dank.*

Ook U, Zeergeleerde BIJNEN, *blijf ik dankbaar voor wat ik van U tijdens mijn assistententijd op de obstetrisch-gynaecologische afdeeling van het Haagsche Gemeente Ziekenhuis heb mogen leeren. Speciaal mijn gynaecologisch assistentschap heb ik in de algemeene praktijk in stijgende mate leeren waardeeren.*

Zeergeleerde HULST. *Vriendelijk dank ik U voor de welwillendheid, waarmee gij mij bij de bewerking van dit proefschrift bent tegemoet gekomen.*

Zeergeleerde VOGELENZANG. *Van uw groote kennis op chemisch en statistisch gebied heb ik in ruime mate mogen profiteeren. Ik blijf U hier zeer dankbaar voor.*

Toen zich tijdens mijn onderzoek moeilijkheden op chemisch gebied voordeden, waart gij, Zeergeleerde MULLER *en gij, Zeergeleerde* GROTEPASS, *terstond bereid mij te helpen. Ik heb dit zeer gewaardeerd.*

Gij, Zeergeleerde SIEMELINK, *waart mij een groote steun bij de opstelling van het apparaat voor de bepaling van den bloedstollingstijd. Ik blijf U hiervoor erkentelijk.*

Een belangrijk deel van mijn onderzoek is uitgevoerd bij patienten in de verloskundige kliniek van Prof. DE SNOO. *Dat dit mogelijk bleek, stel ik zeer op prijs. Voor de schier dagelijksche hulp, die gij, collega* KLOOSTERMAN, *mij hierbij hebt verleend, blijf ik U dankbaar.*

Zeergeleerde HINGST. *Door uw bemiddeling was het mogelijk, dat verpleegden uit het Bartholomeus Gasthuis in mijn onderzoek werden betrokken. Gij hebt mij hierdoor zeer aan U verplicht.*

Doordat gij, collega BOEKE, *onder moeilijke omstandigheden mijn praktijk waarnaamt, is het mogelijk geweest, dat dit proefschrift tot stand kwam. Voor wat gij presteerdet in duistere wintermaanden, zullen niet alleen mijn patienten, doch zal ook ik U dankbaar blijven.*

Uw hulp, mej. PLESSEN *en mej.* IJFFS, *waarmee kleine dagelijksche moeilijkheden werden opgelost of voorkomen, heb ik vele maanden bijna als vanzelfsprekend geaccepteerd. Ik zeg U voor deze hulp vriendelijk dank.*

Ook U, waarde VERHOEF *en U, waarde* KOENSE, *mijn dank voor uw hulp met uw technische bekwaamheid en jarenlange ervaring.*

INHOUD.

Inleiding.

In 1938 verscheen in de Geneeskundige Bladen (35e reeks, no. VII) een artikel van Dr. H. FESTEN, „Thrombose en Lipoïden". FESTEN wijst erop, evenals andere onderzoekers vóór hem deden, dat veranderingen in de samenstelling van het bloed een der factoren kunnen zijn, die, met andere factoren samenwerkend, thrombose kunnen veroorzaken.

Als bij een patient thrombose bestaat, m.a.w. als er zich ergens een thrombus heeft gevormd, die klinische verschijnselen geeft, dan is er practisch sprake van een voortgeleide thrombus. Aan een voortgeleide thrombus onderscheiden we een kop en een staart. De staart, de „roode thrombus", bestaat uit een netwerk van fibrine met daartusschen de cellige elementen uit het bloed, evenals dit bij een stolsel het geval is.

Men mag aannemen, dat de bloedstolling en de vorming van de roode thrombusstaart met elkaar in verband staan. De staart is een coagulatiethrombus (DEELMAN) [1].

FESTEN veronderstelt en maakt waarschijnlijk, dat onder bepaalde omstandigheden plaatselijke thrombi ontstaan, die we niet kunnen waarnemen; wanneer de omstandigheden gunstig zijn, met name wanneer de neiging van het bloed tot stollen maar groot genoeg is, dan ontstaan uit deze plaatselijke thrombi echte voortgeleide thrombosen.

De schrijver bespreekt verder den invloed, die een verhoogd phosphatidengehalte van het bloed heeft op den stollingstijd.

Deze beschouwingen waren voor mij aanleiding tot het volgende onderzoek.

Bij twee groepen personen, die, naar klinische ervaring leert, waarschijnlijk een verhoogde kans tot het krijgen van thrombose bezitten, werden de phosphatiden en het, zooals later zal blijken, antagonistisch werkende cholesterine quantitatief bepaald en werd

de bloedstollingstijd nagegaan. Om wisselingen in het lipoïdgehalte ten gevolge van pathologische veranderingen te elimineeren, werden voor dit onderzoek met opzet de volgende groepen gekozen:

a. normale mannen en vrouwen boven 65 jaar;

b. normale kraamvrouwen tusschen den achtsten en twaalfden dag na den partus. Ter vergelijking is dit onderzoek uitgebreid tot een aantal zwangeren aan het einde van de zwangerschap.

Na een korte bespreking van de phosphatiden in het serum, speciaal tijdens het senium en in de graviditeit, volgt de bepalingsmethode der phosphatiden in het serum. Hetzelfde geldt voor het cholesterine.

Zoo volgt na een bespreking van de bloedstolling en den invloed van de lipoïden op den stollingstijd, de methode van onderzoek.

Vervolgens worden de uitkomsten van het onderzoek en de conclusies vermeld.

HOOFDSTUK I.

Phosphatiden in het bloed.

De *lipoïden*, welke naam OVERTON aan de vetachtige stoffen in het bloed gaf, blijken steeds meer voor de physiologie van de cel van groote beteekenis te zijn. De lipoïden komen in het organisme overal voor; in alle cellen en lichaamsvochten zijn ze aantoonbaar. Vaak komen ze gelijktijdig met de vetten voor, hebben er physisch veel mee gemeen, maar hebben een geheel andere functie. De beteekenis der vetten moet in de eerste plaats gezocht worden in de energie, die bij de verbranding vrijkomt; die der lipoïden vooral in de physisch-chemische eigenschappen, die de celpermeabiliteit regelen en waarschijnlijk voor een groot gedeelte de stofwisseling van de cel beheerschen. Men stelt zich wel voor, dat de lipoïden in de wanden der tegen elkaar aan liggende cellen een membraan vormen. In den celwand zijn ze inderdaad aantoonbaar; in het inwendige der cel in mindere mate ook.

Een belangrijk aandeel hebben de lipoïden in de vetstofwisseling. De opgenomen vetten worden door de lipase in het darmkanaal gesplitst. Volgens VERZÀR [2]) vormen de ontstane vetzuren met de galzuren in water oplosbare complexen, die dan door den darmwand diffundeeren. Hier zou dan een binding aan glycerinephosphorzuur plaats hebben, die via de phosphatiden tot neutraalvet leidt.

SCHRAMM en WOLFF [3]) huldigen eveneens het tweede gedeelte van deze opvatting, kennen dus ook aan de phosphatiden een belangrijke rol in de vetresorptie toe. Zij zijn echter van meening, dat voor de diffusie van de vetzuren door de darmwandcellen niet alleen de galzuren noodig zijn. Het aanwezig zijn van vetten en phosphatiden in de darmlymphe na vetvoeding is begrijpelijk, maar het hiermede gelijktijdig voorkomen van cholesterine is niet verklaard. Volgens deze onderzoekers worden de vrije vetzuren

door een pancreasesterase met het in den darm, resp. aan de oppervlakte der darmcellen aanwezige cholesterine veresterd. Voor deze verestering nu zijn de galzure zouten noodig, zonder welke resorptie niet mogelijk is. In de darmcellen komen de cholesterine-esters in contact met een estersplitsend ferment. Het cholesterine wordt nu vrijgegeven en kan extracellulair weer cholesterine-esters vormen. De in de cel gevormde vetzuren worden dan overgedragen op glycerinephosphorzuur en via de phosphatiden tot neutraalvet omgevormd.

Bij het vettransport spelen de lipoïden volgens de theorie van SCHRAMM en WOLFF een soortgelijke rol als bij de vetresorptie (zie pag. 21).

De lipoïden vormen een chemisch vaag begrip, dat nog al eens van omvang gewisseld heeft. Als we afzien van het verschil in uitgebreidheid van dit begrip in den loop van den tijd, evenals van de verschillende benamingen als lipinen, lipiden, liposen, dan kan men zeggen, dat hieronder verstaan worden die stoffen, die oplosbaar zijn in aether, alcohol, petroleumaether. Wel maakt HAMMARSTEN [4]) bezwaar tegen deze ruime omlijning, waardoor theoretisch ook melkzuur, alcaloïden, extractiefstoffen van verschillenden aard tot de lipoïden zouden zijn te rekenen, maar practisch heeft deze omschrijving zich toch gehandhaafd.

Hoewel BANG ook de vetten tot de lipoïden rekent, kan men zeker onder de lipoïden verstaan:

1e. Phosphatiden, die stikstof en phosphor bevatten en waartoe lecithine en cephaline behooren.

2e. Sterinen, die geen stikstof en phosphor bevatten en waartoe cholesterine behoort.

3e. Cerebrosiden, die alleen stikstof bevatten.

4e. Sulphatiden, die zwavel en phosphor bevatten en phosphatidzwavelzure cerebrosiden zijn.

De *phosphatiden* zijn evenals de vetten, glycerineësters, die niet alleen vetzuren, doch ook orthophosphorzuur bevatten, waaraan weer een of meer aminobasen zijn gebonden. Naar gelang van het aantal phosphorzuurradicalen wordt deze groepsnaam uitgebreid tot monophosphatiden, diphosphatiden, waarin men het aantal

stikstofatomen kan aangeven door te spreken van momoaminomonophosphatide, momoaminodiphosphatide, diaminomonophosphatide, enz. De vetzuren, die in de phosphatiden voorkomen, kunnen onverzadigd zijn zooals het oliezuur. Anderen hebben een verzadigd vetzuurradicaal.

De onverzadigde vetzuren kunnen zuurstof uit de lucht opnemen en leveren energie. Zij geven een positieve reactie van PETTENKOFER (purperverkleuring na toevoegen van suiker en sterk zwavelzuur).

Als basisch bestanddeel komt in de phosphatiden het meest *choline* voor; echter kan zoowel bij dierlijke als bij plantaardige phosphatiden ook aminoaethylalcohol de base zijn.

Het oudste, tevens een der belangrijkste der phosphatiden is het *lecithine*, dat GOBLEY reeds in 1846 uit eidooier isoleerde. THUDICHEM vond in hersenweefsel behalve lecithine, cephaline, paramyeline en myeline, waarin één phosphor- en één stikstofatoom voorkomen. Bovendien kon hij eenige stoffen isoleeren met één phosphor- en twee stikstofatomen (amidomyeline, amidocephaline, sphingomyeline, apomyeline) en substanties, die geen stikstof en slechts phosphor bevatten.

Het lecithine komt voor in een reeks in aether oplosbare stoffen, waarin phosphor organisch gebonden is. THIERFELDER en KLENK [5]) geven hiervan de volgende indeeling:

lecithine } P : N = 1 : 1
cephaline }
phosphatidezuren N-vrij
sphingomyeline P : N = 1 : 2.

Als basisch bestanddeel komt ook bij lecithine *choline* voor, te isoleeren door een uur te verhitten met 10 % zwavelzuur; bij cephaline is het aminoaethylalcohol *colamine* te isoleeren door twee tot drie uur te koken met 6 % zoutzuur.

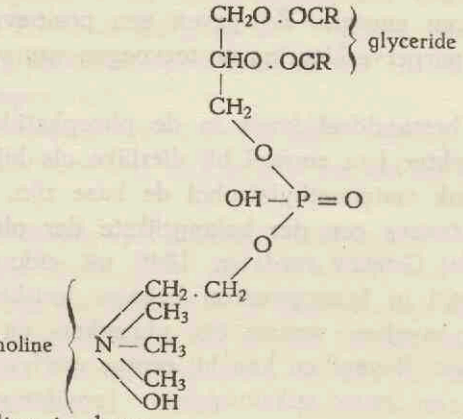
Als vetzuren komen althans in lecithine voor stearinezuur, palmitinezuur en oliezuur; in cephaline stearinezuur, het specifieke cephalinezuur en mogelijk ook palmitinezuur.

De phosphatiden zijn meestal oplosbaar in alcohol, aether en chloroform. Ze kristalliseeren niet uit, vormen een amorphe substantie, zijn brandbaar, hygroscopisch, kleurloos en reukloos.

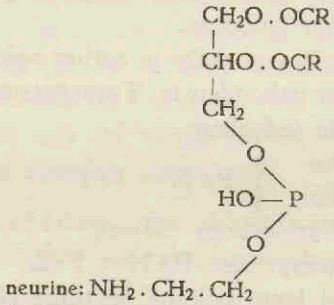
Lecithine lost niet op in aceton, wat ter herkenning van andere phosphatiden van belang is. Het is wel oplosbaar in alcohol;

cephaline echter moeilijker. Uit een alcoholische oplossing zijn beide phosphatiden met cadmiumchloride neer te slaan, waarbij het cadmiumzout van cephaline oplosbaar is in alcohol, het cadmiumzout van lecithine echter niet.

We mogen ons de structuurformule van lecithine als volgt voorstellen:



Van cephaline is deze:



De cerebrosiden en de sulphatiden komen niet in het bloed voor. Voor nadere gegevens omtrent de chemie der lipoïden in het algemeen, zoowel als voor die der phosphatiden verwijs ik naar: THIERFELDER en KLENK: Die Chemie der Cerebrosiden und Phosphatiden.

Langen tijd is lecithine beschouwd als het eenige in het menschelijk organisme voorkomende phosphatide. Dit is zeker niet juist, maar bovendien hebben MC.LEAN [6]) zoowel als THIERFELDER aangetoond, dat lecithine in verschillende organen en bij verschillende diersoorten niet identiek zijn, m.a.w. er is een orgaanspecificiteit en een dierspecificiteit.

Wat de wijze van ontstaan der bloedlipoïden betreft, kunnen we een *exogene* en een *endogene* fractie onderscheiden.

Als men een reeks percentages van cholesterine in verschillende voedingsmiddelen nagaat, zooals HUECK aangeeft:

vrouwenmelk	0,014 %
volle melk	0,013 %
ondermelk	0,0023 %
ei	0,024 %
eidooier	1,342 %
boter	0,185 %
levertraan	0,488 %
roggemeel	0,061 %
rijst	0,026 %
rundvleesch	0,046—0,048 %
kalfsvleesch	0,084—0,088 %

dan valt op hoe sterk wisselend deze hoeveelheden zijn. Over het phosphatidengehalte van voedingsmiddelen kon ik geen voldoende opgaven vinden, doch het is waarschijnlijk, dat het phosphatidengehalte resp. lecithinegehalte der voedingsmiddelen binnen dergelijke grenzen schommelt. Opmerkelijk is hoe het lipoïdgehalte in den celwand desniettegenstaande constant gehouden kan worden.

Toch vervullen de phosphatiden uit de voeding afkomstig een belangrijke rol, zooals KNAUER [7]) bleek bij proeven op konijnen, waarbij na acht weken voeden uitsluitend met hooi en wortelen het phosphatidengehalte van het bloed tot op de helft gedaald was.

BLOOR [8]) vermeldt, dat bij een alimentaire lipaemie het bloedvet niet alleen toeneemt, doch ook in volgorde eerst de phosphatiden en veel later het cholesterine. Bij het afnemen der lipaemie verminderen deze lipoïden in dezelfde volgorde.

Een eenzijdige lipoïdrijke voeding heeft invloed op andere lipoïden in het bloed. Zoo deelen HUECK en WALTER [9]) mede, dat een langdurige cholesterinerijke voeding bij konijnen een verhooging van phosphatiden- en vetgehalte van het bloed tot gevolg had. Omgekeerd heeft ook een eenzijdige voeding met groote hoeveelheden vet en cholesterine, opgelost in olie en per os toegediend, niet alleen een verhooging van het vet- en cholesterinegehalte van het bloed ten gevolge, maar ook een verhoogd phosphatidengehalte (KNUDSON [10]), LEITES [11])).

Het gelukte echter niet, door voedsel, rijk aan phosphatiden, het phosphatidengehalte van het bloed op te voeren (LEITES [12])).

Hoewel we ons van deze wisselwerking der lipoïden nog geen goede voorstelling kunnen maken, blijkt wel in het organisme de neiging te bestaan de onderlinge verhouding der phosphatiden constant te doen zijn. (Zie coëfficient, pag. 20).

Wat de *endogene* factor betreft, blijkt er na de onderzoekingen van MAXWELL en FINGERLING [13]) zeker een phosphatiden-, althans een lecithinesynthese te bestaan. FINGERLING toonde aan, dat eenden in staat zijn uit anorganische phosphor, organische phosphorzuurverbindingen als lecithine en nucleinezuren samen te stellen. Ook hier bleek de dierspecificiteit der phosphatiden, evenals uit de onderzoekingen van STEPP [14]). Het blijkt bij diens onderzoekingen, dat duiven met lipoïdvrije voeding in leven blijven, terwijl op dergelijke wijze gevoede muizen en honden sterven, terwijl avitaminosen hier uitgesloten geacht mogen worden.

Ook ROSENFELD [15]) bespreekt de mogelijkheid van lecithinesynthese uit de aanwezig zijnde componenten.

Het aandeel, dat de phosphatiden als deel der lipoïden hebben in de stofwisseling, is gebleken van groot belang te zijn. Daar ze de eigenschap hebben zich met zeer uiteenloopende stoffen te kunnen binden, noemt GLIKIN de phosphatiden het „Zement des Körpergebäudes".

De phosphatiden zijn bij mensch en dier voornamelijk gebonden aan eiwitten, waaraan de oplosbaarheid is toe te schrijven (ERLANDSEN) [16]). Wil men ze van de eiwitten isoleeren, dan moet het gepulveriseerde weefsel eerst worden bewerkt met alcohol, waarbij de albuminen coaguleeren; de phosphatiden worden daardoor losgemaakt uit hun verbinding en zijn dan eerst oplosbaar in aether.

GARDNER en GAINSBOROUGH [17]) deelen mede, dat groote hoeveelheden cholesterine en lecithine aan fibrinogeen en albuminen zijn gebonden. De phosphatiden en eiwitten verlagen de oppervlaktespanning; cholesterine heeft geen oppervlakteactieve eigenschappen (BRINKMAN en V. DAM) [18]). Ten gevolge van de geringe oppervlaktespanning concentreeren zich de phosphatiden in den wand van de cel en regelen hier de water- en ionenuitwisseling. EICHHOLZ [19]) komt tot de conclusie, dat de eiwitten zich hierbij naar de oppervlakte dringen en daar een vliesje vormen, terwijl de lipoïden de

eigenschap hebben te trachten deze eiwitten van het oppervlak weg te trekken en er zich aan te hechten. Deze adsorptie leidt tot ontschuiming, wat het sterkst is bij lipaemisch serum.

Verhoogd phosphatidengehalte heeft als onderdeel van de vermeerderde lipoïden wellicht invloed op de *bezinkingssnelheid* der erythrocyten. Hieraan zou misschien zijn toe te schrijven de verhoogde bezinkingssnelheid der erythrocyten bij hyperlipaemie met verschillende oorzaak; mogelijk is hier de verhoogde bezinkingssnelheid bij gravidae aan toe te schrijven.

GYÖRGI [20]) toont aan, dat lecithine een vermindering der bezinkingssnelheid tot gevolg heeft.

GROSZMANN [21]) heeft in het experiment bij konijnen kunnen aantoonen, dat cholesterinerijke voeding aanleiding was tot een hypercholesterinaemie, en een toename van de bezinkingssnelheid tot gevolg had.

De *haemolyse* wordt voor een groot deel door phosphatiden, vooral lecithine, en door cholesterine beheerscht (KYES [22]) en RANSOM [23])). Zoo toont KYES aan, dat adsorptie van cobragif aan lecithine plaats heeft, waardoor de zeer giftige toxolecithiden ontstaan. Ook hier blijkt de antagonistische werking, daar dit de cobragifhaemolyse remt. In het algemeen zouden de phosphatiden een haemolyseerende werking, cholesterine een beschermende werking hebben.

BRINKMAN en WHASTLE [24]) zijn van oordeel, dat de phosphatiden alleen de haemolyse tot stand brengen.

BRINKMAN en v. DAM [25]) konden door eenzijdige lecithinevoeding bij konijnen een intravitale haemolyse tot stand brengen en wel in die mate, dat haemoglobinaemie optrad. Ook hier blijkt cholesterine een beschermenden invloed te hebben.

Evenals bij de haemolyse, blijkt ook bij het nagaan van de resistentie der erythrocyten het belang van de lecithinefunctie.

BRINKMAN en v. DAM konden aantoonen, dat na uitwasschen der erythrocyten met physiologische zoutoplossing de resistentie verhoogd bleek te zijn, doordat het lecithine was weggewasschen. Voert men het wasschen uit met een isotonische rietsuikeroplossing, waardoor lecithine niet wordt uitgewasschen, dan blijft de resistentie onveranderd.

Omgekeerd bleek aan PRIBRAM [26]), dat cholesterine, de antagonist van lecithine, de resistentie der erythrocyten kon verhoogen.

NEILSON en WHEELON [27]) verwachtten en zien ook bevestigd, dat het cholesterinegehalte verhoogd is bij die ziekten, waarbij de resistentie der erythrocyten is verhoogd, b.v. bij stuwingsicterus, terwijl b.v. bij haemolytische icterus, waarbij de resistentie verlaagd is, ook het cholesterinegehalte verlaagd blijkt.

Op pag. 15 vermeldden wij, dat de onverzadigde vetzuren zuurstof uit de lucht kunnen opnemen; KOCH [28]) deelt mede, dat de onverzadigde vetzuren een rol spelen als zuurstofoverdrager.

Alvorens verder te gaan met de bespreking van de eigenschappen der phosphatiden, een enkel woord over de *onderlinge verhouding van cholesterine en phosphatiden.*

In het bovenstaande was reeds sprake van de antagonistische werking van phosphatiden en cholesterine.

Dit functioneele antagonisme uit zich:

1e. in de haemolyse door cobragif. Cholesterine remt de haemolyse, in tegenstelling met lecithine.

Aan BRINKMAN en v. DAM bleek bij resistentiebepalingen de antagonistische werking van cholesterine en lecithine bij de haemolyse. Physiologisch verlaagt lecithine de resistentie. Zeer kleine hoeveelheden cholesterine werken reeds antagonistisch en verhoogen de resistentie.

2e. in de stolling van bloed. Hierbij blijkt cholesterine het proces te vertragen; lecithine en cephaline, door ZAK uit runderhersenen bereid, blijken de stolling te versnellen.

3e. in het phagocytaire vermogen der leucocyten, dat door cholesterine wordt geremd, zooals STUBER [29]) mededeelt. Lecithine laat het phagocytaire vermogen onbeïnvloed, is echter in staat de cholesterineremming op te heffen.

4e. in de bezinkingssnelheid der erythrocyten. Deze wordt volgens KÜRTEN's [30]) onderzoekingen door cholesterine versneld, terwijl lecithine deze remt. Het lecithine verlaagt daarbij de lading der erythrocyten, het cholesterine isoleert de cel en ontlaadt deze.

5e. het quotient $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$.

De onderlinge verhouding der lipoïden vertegenwoordigen een

belangrijk begrip in de physiologie van cel en weefsels. Terwijl cholesterine en phosphatiden chemisch zeer ver van elkaar af staan, komen ze steeds tezamen voor en wel zoo constant, dat men ze samen aanduidde met den naam lipoïden.

MAIJER en SCHAEFFER [29]) beschouwen het protoplasma als een mengsel van bepaalde hoeveelheden eiwitten, lipoïden en water. Dit zijn de „constantes cellulaires". Deze constanten bepalen een zeker cel- en weefseltype.

Het karakteristieke van een bepaald weefsel, dus ook het bloed, is niet gelegen in de absolute waarden der lipoïden, maar in de onderlinge verhouding. MAIJER en SCHAEFFER spreken dan van den „coefficient lipocytique".

In het bloed onderscheidt men (TERROINE [30])):

a. „l'indice lipémique": het totale lipoïdgehalte.

b. den „coefficient lipémique": de verhouding $\frac{\text{cholesterine}}{\text{vetzuren}}$.

Het is opvallend, dat het organisme onder zeer verschillende physiologische en waarschijnlijk ook pathologische omstandigheden tracht den coëfficient lipocytique, den coëfficient lipémique en het quotient $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ constant te houden.

Dit laatste quotient, waarbij teller en noemer uiteraard zijn uitgedrukt in gelijksoortige eenheden (mg %), is bij dit onderzoek nagegaan, zoowel wat betreft normalen, oude menschen, gravidae en puerperae.

BRINKMAN en WHASTLE [24]) doen uitkomen, dat de verhouding $\frac{\text{cholesterine}}{\text{lecithine}}$ zeer constant wordt gehouden en dat de oppervlakte der erythrocyten van dezelfde samenstelling moet zijn.

Speciaal voor de voeding is de neiging dit quotient constant te houden van belang.

Hiermede in verband staat het *vettransport*. SCHRAMM en WOLFF [3]) geven hiervan de volgende voorstelling.

Steriel serum, aan zichzelf overgelaten, wordt voor 90 % veresterd. In het levende organisme heeft dit slechts voor 70 % plaats, doordat steeds een estersplitsing optreedt, waarvoor een celesterase wordt aangenomen. Een serumesterase verestert nu het aan de oppervlakte der lichaamscellen en in het serum zelf aanwezige cholesterine met de vetzuren. In het serum komen geen vrije vet-

zuren voor, daar deze haemolytisch werken. Het vetzuur ontstaat uit het in het bloed aanwezige neutraalvet, dat na afsplitsing van het vetzuur overgaat in diglyceride. Uit dit diglyceride ontstaat vermoedelijk door binding van een amide en phosphorzuur een phosphatide. De cholesterineëster diffundeert nu door den celwand en wordt door de cel opgenomen.

In het inwendige der cel wordt de cholesterineëster gesplitst, waarbij phosphatiden beschikbaar zijn voor het binden der vrijkomende vetzuren. Hieruit ontstaat dan het neutraalvet, dat voor de depôts bestemd is.

Het vrijkomende cholesterine wordt weer naar buiten afgesplitst en komt weer in het bloed. In het serum bestaat zoo steeds een constante verhouding tusschen cholesterine en cholesterineësters.

De geresorbeerde vetzuren gaan nu via de longen en via de lever naar de depôts. Een deel verlaat het lichaam via den dikken darm en via de huid. Bij rijkelijke vetvoeding stijgt de hoeveelheid cholesterine evenredig met het neutraalvet. Wanneer dus veel vetzuren aan de cellen worden aangeboden, kan het komen tot een overmatig verbruik van phosphatiden. Zoodoende kunnen niet alle cholesterineësters ontleed worden, er ontstaat een daling van het cholesterine en het quotient wordt kleiner. Omgekeerd blijkt bij inanitie het quotient aanvankelijk grooter te worden.

Van groot belang zijn de phosphatiden voor de functie van het centraal zenuwstelsel. Wellicht staat hiermee in verband het hooge gehalte aan phosphatiden, dat in de hersenen gevonden wordt, nl. 20 %, terwijl vlg. BANG in ander spier- of orgaanweefsel het percentage lager dan 10 is.

De phosphatiden hebben een ontgiftende werking. Morphine, strychnine, campher en digitalis vertoonen, indien tevens lecithine wordt toegediend, een verzwakte of opgeheven werking. Het sterkst blijkt dit, als lecithine tegelijk wordt gegeven (LAWROW [33]); LEO [34])).

BACHEM [35]) wijst op de beïnvloeding van de veronaluitscheiding door lecithine. ZIGANOW [36]) bespreekt de verzwakte verschijnselen van strychninevergiftiging onder invloed van lecithine.

In overeenstemming hiermee bleek aan LOEWE en MOLJAWKO-WYSSOTSKI [37]) een duidelijk verhoogde opneming van narcotica in het lipoïdrijke hersenweefsel, in tegenstelling met het lipoïdarme spierweefsel.

Op grond van de experimenteele gegevens raadt MAGISTRIS [38]) aan bij deze soort vergiftigingsverschijnselen het gebruik van lecithineëmulsies, zooals deze in den handel verkrijgbaar zijn.

Vooral van Fransche zijde is gewezen op den invloed, dien de phosphatiden hebben op de vorming van afweerstoffen. Deze invloed is merkbaar bij huidallergie. Zoo deelt GYÖRGI [39]) mede, dat bij percutane tuberculinetherapie sterker reactie optreedt, als aan de zalf een uit eidooier bereid phosphatide was toegevoegd.

In het experiment blijkt bij een anaemie, veroorzaakt door verbloeden of door injectie met hydroxylamine, het lipoïdgehalte van het bloed verhoogd. Bij een haemoglobinegehalte van 40 % treedt nl. een snelle verhooging op.

DE LANGEN [40]) wijst in dit verband op een centrale regulatie vanuit het mesencephalon. KEPINOW [41]) kon door injectie van bloedlipoïden de bloednieuwvorming aanzienlijk versterken.

Het is mijn bedoeling niet hier in te gaan op qualitatieve en quantitatieve veranderingen in de bloedlipoïden bij pathologische toestanden. Echter overeenkomstig het medegedeelde in de inleiding een enkel woord over de phosphatiden in het bloed tijdens *senium, puerperium* en *graviditeit*.

Over de physiologie op hoogen leeftijd is in het algemeen weinig bekend; de resultaten over het onderzoek van de bloedphosphatiden op dien leeftijd zijn uiteraard gering.

BASTAI en DOGLIOTTI [42]) geven de meeningen van eenige Italiaansche onderzoekers weer. BAGNARESI vermeldt een vermeerdering van het cholesterinegehalte in den ouderdom, dat gepaard gaat met een vermindering van het lecithinegehalte; vandaar dat het quotient $\frac{\text{cholesterine}}{\text{lecithine}}$ aanzienlijk is verhoogd. Bij mijn onderzoek heb ik dit niet kunnen bevestigen.

PUXEDDI vermeldt een vermeerdering van alle serumlipoïden, behalve de zeepen.

JONA vermeldt als andere onderzoekers een verhooging van het cholesterinegehalte in het serum; de andere lipoïden gedragen zich zeer wisselend. Het phosphatidengehalte vond hij vaak verhoogd. BASTAI en DOGLIOTTI bespreken kort den verkorten stollingstijd en de verhoogde bezinkingssnelheid der erythrocyten; zij geven echter geen cijfers.

Tot de physiologische lipoïdaemieën moet ook de graviditeitslipoïdaemie genoemd worden, die, evenals de graviditeitslipaemie, reeds langeren tijd bekend is.

De onderzoekingen zijn ook hier practisch beperkt gebleven tot die van cholesterine en cholesterineësters, al konden HERMANN en NEUMANN [43]) reeds in 1912 vermelden, dat zij in het phosphatidengehalte van totaalbloed bij neonati, zwangere en niet-zwangere vrouwen slechts geringe verschillen vonden.

Het vermeerderde vet- en lipoïdgehalte van het bloed in de graviditeit schrijft v. NOORDEN voor een groot gedeelte toe aan exogene oorzaken (verhoogde voedselopname en verhoogde rust). Dit zijn echter zeker niet de eenige oorzaken. Menige vrouw voldoet niet aan de genoemde voorwaarden en toch neemt het lichaamsgewicht meer toe dan met den groei van de uterus verwacht mag worden.

Mogelijk is ook dit terug te brengen tot een lipoïdaemie, noodig voor vettransport naar het foetus.

Dit komt overeen met de resultaten van LINDEMANN [44]), die de klieren met interne secretie als endogene oorzaak aanneemt, speciaal het ovarium en het corpus luteum en met de gegevens van HERMANN en NEUMANN [45]), die door injecties met corpus luteumextract in isotonische keukenzoutoplossing in eenige uren de lipoïdaemie konden doen verminderen.

In dit verband moet echter ook genoemd worden de voorkwab van de hypophyse die door haar tijdelijke hypertrophie aanleiding geeft tot een voorbijgaande meerdere lichaamsontwikkeling, zonder dat dit alles mag worden teruggebracht tot een vermeerderde vetophooping.

In dit verband moet gewezen worden op de bijnierschors, die met de ovaria veranderingen in de graviditeit ondergaan.

SCHMITZ en KÜHNEN [46]) vestigen de aandacht op het aandeel van de bijnierschors bij de lipoïdstofwisseling. Door hen werd uit de bijnier geïsoleerd:

1e. een factor A, die het phosphatidengehalte van het bloed verhoogt;

2e. een factor B, die het cholesterinegehalte van het bloed verhoogt;

3e. een factor C, die het phosphatidengehalte van het bloed doet dalen.

De endocrine organen hebben zeker ook buiten de graviditeit grooten invloed op het bloedlipoïdgehalte. Aangezien dit echter buiten mijn onderwerp valt, en de vele meeningen op dit jonge gebied der physiologie en pathologie een beknopte uitweiding onmogelijk maken, is er hier niet nader op ingegaan.

Ook DECIO [47]) beschrijft het verhoogde lipoïd- resp. phosphatidengehalte van het bloed aan het einde van de graviditeit. Mogelijk is het verhoogde bloedvetgehalte van de moeder op te vatten als een transportlipaemie.

BOYD [48]) constateert, dat het phosphatidengehalte en in het algemeen het lipoïdgehalte in de bloedcellen tijdens de graviditeit onveranderd is, dat echter aanzienlijke verschillen in plasma en serum zijn aan te toonen.

Schr. komt tot het resultaat, dat phosphorlipoïden en cholesterine beginnen te stijgen in de tweede drie maanden van de zwangerschap, tot aan het einde van de graviditeit het stijgingspercentage 25 % bedraagt.

VIGNES [49]) heeft een verhoogd lecithinegehalte in het bloed van gravidae kunnen vaststellen. Het is echter niet duidelijk of dit is terug te brengen tot een verhoogde lecithinevoorraad of tot een verbruiken van lecithinedepôts. In het experiment bleek nl., dat de weefsels van zwangere muizen aanzienlijk minder lipoïdphosphor bevatten dan die der foeti en contrôledieren. Wellicht staat in de graviditeit de lipoïdaemie in verband met den groei en in dit geval vooral met den groei der vrucht, daar HOFBAUER kon aantoonen, dat de lipoïden gemakkelijk de chorionvlokken konden passeeren. Bij die multiparae, waarbij de kinderen bij de geboorte zwaarder waren dan de vorige, bleek ook het lipoïdgehalte van het bloed steeds grooter dan tijdens een vorige graviditeit.

Het quotient $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ vindt BOYD tijdens de zwangerschap weinig veranderd, evenals de verhouding $\frac{\text{cholesterineëster}}{\text{totaal cholesterine}}$. Op grond van deze twee verhoudingen plaatst hij de zwangerschapslipaemie in dezelfde groep der persisteerende lipaemieën als die bij diabetes en experimenteele anaemieën.

TYLER en UNDERHILL [50]) bevestigen de constante waarde van het cholesterine-lecithinequotient en vinden dit binnen de gevonden waarden bij niet-gravidae.

POLANO [50a]) heeft een opgave van het phosphorlipoïdgehalte van het plasma uit de literatuur verzameld:

BLOOR	7 mg %
PETERS en v. SLYKE	7—14 mg %
RUNDLESS en KNUDSON	8 mg %
MARSMAN	8,3 mg %
LEWIS	8,3—11 mg %
POLANO	8,57 mg %

Het cholesterine- en phosphatidengehalte van de erythrocyten wisselt uiterst weinig.

Bij het onderzoek is dan ook alleen het gehalte aan cholesterine en phosphatiden nagegaan in het serum. De vraag of aan bepalingen in het plasma de voorkeur gegeven moet worden, verdient overweging.

BÜRGER en GRÜTZ deelen mede, dat bij de bloedstolling minder veranderingen in het bloed zouden optreden dan bij toevoeging van stollingwerende stoffen.

SCHREINER en BILGER [51]) vermelden bij gebruik van oxalaatbloed lagere waarden dan bij gebruik van hirudine.

BURKENS [52]) bepleit het gebruik van natriumfluoride voor het onstolbaar maken van bloed, daar er mogelijk een organische phosphorverbinding in het bloed voorkomt, die alleen in fluorideplasma onveranderd bestaan blijft.

KNAUER [53]) constateert, dat het serum een hooger phosphatidengehalte heeft dan de overeenkomstige hoeveelheid plasma, wat ik met eenige bepalingen kon bevestigen, welke hieronder volgen.

	cholesterine ‰		phosphatiden mg %	
	plasma	serum	plasma	serum
Mej. v. M. 19 j.	2,00	2,65	11,90	14,2
Mej. v. d. H. 25 j.	2,00	2,40	11,6	12,9
Mej. J. 23 j.	2,05	2,05	9,4	9,3
Mej. v. Z. 32 j.	2,20	2,46	9,0	12,1
Mej. v. d. H. 23 j.	1,35	1,50	9,0	10,4
Mej. W. 39 j.	1,65	1,85	10,4	10,5
Mej. v. d. H. 26 j.	—	2,05	8,8	10,0

LEENDERTS [54]) is van meening, dat anti-stollingschemicaliën water uit de erythrocyten onttrekken, waardoor veranderingen in de procentueele samenstelling van het phosphor ontstaat. Dat het oxalaat invloed heeft blijkt wel, doordat bij defibrineeren van het bloed door slaan deze verandering niet optreedt. Hetzelfde geldt voor citraatoplossingen.

Ik heb dan ook gemeend het best mijn vergelijkende bepalingen in het serum uit te voeren, wat het geval is zoowel voor phosphatiden- als cholesterinebepalingen.

HOOFDSTUK II.

Bepaling van het phosphatidengehalte van het bloedserum.

De wijze, waarop het phosphatidengehalte in het serum is bepaald, behoort tot de reeks der methoden, die alle berusten op de bepaling van de hoeveelheid phosphor, die bij de destructie der phosphatiden vrijkomt, nadat deze uit het serum geïsoleerd zijn.

Phosphor komt in het bloed in anorganischen en organischen vorm voor. De organisch gebonden phosphor is gedeeltelijk in zuren oplosbaar, gedeeltelijk in alcohol en aether. Men mag aannemen, dat de phosphatiden tot deze laatste groep behooren, deze volledig omvat en practisch uitsluitend omvat. Hoogstens blijven er dan nog sporen organisch gebonden phosphor over, die tevens in het alcohol/aethermengsel worden opgelost. Deze zijn afkomstig van de nucleoproteiden der leucocytenkernen.

Het isoleeren der phosphatiden heeft plaats door serum te extraheeren met het alcohol/aethermengsel van BLOOR [55]) (drie deelen alcohol 96 %, één deel aether).

Het alcoholaetherextract blijkt dan geen anorganischen phosphor te bevatten. De organisch gebonden phosphor wordt nu gedestrueerd tot anorganischen phosphor.

Hiervoor zijn verschillende methoden gebruikt.

TAYLOR en MILLER [56]) bepaalden het gehalte aan phosphor door phosphorzuur neer te slaan als ammoniumphosphomolybdaat, dat werd opgelost en gereduceerd met phenylhydrazine, waardoor een blauwe verkleuring ontstond. De methode, die BELL en DOISY [57]) eenige jaren later beschreven, heeft hiermede veel gemeen, maar hierbij wordt voor reductie hydrochinon gebruikt en natriumsulfiet. Men heeft hierin een specifiek reductiemiddel voor phosphomolybdeenzuur, maar niet voor molybdeenzuur zelf, zoodat overmaat hiervan niet schaadt.

BRIGGS [58]) verbeterde deze methode door de reactie uit te voeren in zuur milieu, waardoor een betere blauwverkleuring optrad. Deze

verandering wordt nog verbeterd door BENEDICT en THEIS [59]), waarbij gekookt wordt met molybdeenzuur en zwavelzuur, waarna gereduceerd wordt met hydrochinon en natriumsulfiet.

Deze methoden berusten op een reductie van phosphomolybdeenzuur tot molybdeenoxyde, dat blauw van kleur is en vergeleken wordt met een op dezelfde wijze behandelde standaardoplossing van monokaliumphosphaat.

ROE, IRISH en BOYD [60]) wijzen erop, dat het voor de kleurreactie van belang is aandacht te schenken aan de concentratie van het molybdeenzuur en van die van de reduceerende stof. Zij gebruikten voor de destructie een mengsel van zwavelzuur, salpeterzuur en waterstofperoxyde, een combinatie van de destructiemiddelen van BLOOR [61]) en van BAUMANN [62]), die waterstofperoxyde bij het verasschingsproces aangeeft. Deze verassching is noodig voor de ontleding van de organische phosphor bevattende stof.

FESTEN is van oordeel, dat het niet van veel belang is, welke wijze van ontleding men kiest, indien men zorgt, dat niet door te weinig vloeistof oververhitten kan plaats vinden, waardoor phosphor ontwijkt.

De methode van KUTTNER en COHEN [63]), die wij voor onze bepalingen gebruikten, berust ook op de reductie van phosphomolybdeenzuur met tinchloride, waardoor een blauwe verkleuring ontstaat van molybdeenoxyde. De intensiteit van deze blauwe kleur is evenredig met de hoeveelheid phosphor, wat colorimetrisch met een standaardoplossing kan worden vergeleken. In afwijking met KUTTNER en COHEN werd de intensiteit van deze blauwe kleur bij dit onderzoek met ZEISS' Stufenphotometer bepaald.

De *bepaling* van het phosphatidengehalte in het serum van nuchtere proefpersonen heeft op de volgende wijze plaats.

1 cm^3 serum wordt in een Erlenmeijer kolfje gebracht, waarna 50 cm^3 van het mengsel van BLOOR (3 deelen alcohol 96 %, 1 deel aether) wordt toegevoegd. Men laat het kolfje, afgedekt en eenige keeren omgeschud, een half uur staan. De nu neergeslagen eiwitten worden door een klein filter in een maatkolfje van 50 cm^3 afgefiltreerd.

Kolfje en filter worden nagespoeld met mengsel van BLOOR en met dit mengsel aangevuld tot 50 cm^3.

Hiervan wordt 10 cm^3 afgepipetteerd in een wijde buis van JENA-glas (25 × 180 mm), die op 10 cm^3 gemerkt is. Nadat in de

buis een kookparel is gebracht, wordt deze in een waterbad (electrisch waterbad tegen brandgevaar) met aanvankelijk koud water tegen het overspatten, verwarmd op kooktemperatuur.

Als de inhoud nagenoeg geheel verdampt is, wordt met een 1 cm^3-pipet met nauw lumen 1 cm^3 0,9 N . H_2SO_4 toegevoegd. De inhoud wordt nu boven een microbrander verascht tot witte dampen opstijgen en het mengsel bruinzwart begint te worden. Dan moet het verhitten gestaakt worden, daar anders met de dampen phosphor ontwijkt. De ontwijkende dampen worden met een klein waterstraalluchtpompje verwijderd.

Nadat de buis wat afgekoeld is, worden in de los tusschen de vingers hangende verticaal gehouden buis 5 tot 7 druppels H_2O_2 30 % (pro analyse, MERCK) gedruppeld tot onder in de buis, zonder dat een druppel den wand raakt. Mocht dit wel het geval zijn, dan wreekt zich dit later, doordat na het toevoegen van het molybdaat de vloeistof iets geel gekleurd blijft en een kleurbeoordeeling tenslotte onmogelijk wordt.

Na het toevoegen van het waterstofperoxyde, wordt opgekookt tot de vloeistof kleurloos is en geen waterstofgasbelletjes meer ontwijken. Zoo noodig wordt nog een enkele druppel waterstofperoxyde toegevoegd, indien de vloeistof nog geel gekleurd blijkt.

Om het waterstofperoxyde te verdrijven, wordt daarna minstens viermaal opgekookt, telkens met slechts enkele druppels aq. dest.

Blijkt dan de vloeistof kleurloos, dan wordt met aq. dest. aangevuld tot 10 cm^3. Hierna wordt 1 cm^3 natriummolybdaat 7,5 % bijgevoegd en goed gemengd, daar anders de blauwe verkleuring ten slotte te donker wordt.

1 cm^3 tinoplossing wordt druppelsgewijs toegevoegd en telkens gemengd. Deze tinoplossing wordt als volgt bereid.

Eerst wordt een stockoplossing gemaakt door 10 gram tinchloride onder verwarmen op te lossen in 25 cm^3 HCl 25 %. Deze stockoplossing blijkt, in een bruine flesch in de ijskast bewaard, zes weken houdbaar te zijn. Voor de te gebruiken tinoplossing wordt 0,5 cm^3 van deze stockoplossing verdund op 100 cm^3 aq. dest.

De nu ontstane lichtblauw gekleurde vloeistof is direct bruikbaar (reeds na 15 sec) voor een quantitatieve kleurwaardeering in ZEISS' Stufenphotometer *).

*) Een uitvoerige bespreking van het gebruik van den Stufenphotometer voor deze soort bepalingen is te vinden in het Academisch Proefschrift van M. K. POLANO (Leiden, 1934).

Een photometercuvette van ½ cm diameter wordt eerst met de bepalingsvloeistof omgespoeld en daarna geheel gevuld en in de linker buis van den photometer geplaatst. De vergelijkingscuvette in de rechter buis, gelijk aan die in de linker, wordt gevuld met de blanco vloeistof (d. i. de beschreven hoeveelheden zwavelzuur, aq. dest., natriummolybdaat, en tinchloride).

Wij gebruikten filter no. 9 van den photometer (S. 66). Na draaien van de linker trommel op 00, werd de rechter trommel gedraaid tot in het oculair beide helften van het rood verlichte vlak gelijk zijn.

Op deze wijze is dus de gevonden extinctie die van de te onderzoeken vloeistof, verminderd met die van de blanco.

We deden bij iedere bepaling drie aflezingen en namen het gemiddelde als gevonden extinctie.

Het verband tusschen de gevonden extinctie en de hoeveelheid phosphor wordt gevonden met behulp van een ijkcurve, die te voren gemaakt was van een standaardoplossing. Deze was op de volgende manier bereid.

10 cm^3 van een oplossing, die 0,1 mg P per cm^3 bevat, wordt verdund tot 100 cm^3 en hiervan afgepipetteerd 1, 2, 3 en 4 cm^3 enz. Natriummolybdaat, zwavelzuur en tinchloride worden toegevoegd en het eindvolume gebracht op 10 cm^3. Hiervan wordt de extinctie gemeten en in curve gebracht. Op de ordinaat worden de extincties aangegeven, op de abscis de concentraties in mg %. Met behulp van de curve van deze standaardoplossing wordt nu nagegaan welke phosphorconcentratie correspondeert met de gevonden extinctie van de lipoïdphosphor uit $^1/_5$ cm^3 serum. Immers, oorspronkelijk was 1 cm^3 serumphosphatide geëxtraheerd in 50 cm^3 mengsel van BLOOR. Hiervan was afgepipetteerd 10 cm^3, zoodat de bepaling eigenlijk werd verricht in $^1/_5$ cm^3 serum. De uitkomst moet dus nog vermenigvuldigd worden met 5.

Bij de beschreven methode moet rekening worden gehouden met verschillende factoren, die invloed hebben op de nauwkeurigheid van de bepaling en waarop KUTTNER en COHEN, later ook KUTTNER en LICHTENSTEIN [65]) gedeeltelijk wijzen.

Alle bepalingen worden uitgevoerd met glaswerk, dat ontvet is door het 24 uur te plaatsen in kaliumbichromaat en zwavelzuur.

Tijdens het extraheeren met het mengsel van BLOOR en het

filtreeren moet verdampen zooveel mogelijk worden tegengegaan door afdekken van kolfje en filtreertrechter.

Bij het indampen in het waterbad is het gevaar voor overspatten groot. Vandaar het langzaam verhitten in een vol waterbad. Wellicht verdient een electrisch verwarmd waterbad met bovenverwarming, als door POLANO gebruikt, aanbeveling.

De concentratie van het zwavelzuur is van belang, zoodat zeer nauwkeurig afpipetteeren met een pipet met nauw lumen gewenscht is. De kleurintensiteit neemt nl. tot een bepaald punt toe met de verhooging van de zuurconcentratie. Daarna volgt een phase, waarin bij toename van de concentratie de kleurintensiteit niet toeneemt, waarna een phase komt, waarin dit wel het geval is. De middelste phase moet worden benut en ligt tusschen 0,9 en 1,2 N . H_2SO_4. Beneden 0,9 N . H_2SO_4 wordt het molybdeenzuur zelf ontleed en wel des te meer, naarmate de concentratie lager is.

Ook de tijd, waarna men mag rekenen een maximum kleurintensiteit te hebben bereikt, is verschillend in de verschillende phasen. Bij een normaliteit van het zwavelzuur tusschen 0,9 en 1,05 is deze het snelst maximaal, nl. reeds na 15 sec. Vandaar, dat de concentratie van het zwavelzuur moet liggen tusschen 0,9 en 1,05 N . H_2SO_4. Met het oog op het verdampen tijdens de verassching werd de laagste waarde gekozen.

De betrouwbaarheid van de methode eischt, dat zeer nauwkeurig het waterstofperoxyde wordt toegevoegd en daarna weer uitgekookt. Blijven resten waterstofperoxyde achter, dan blijkt later, na het toevoegen van het natriummolybdaat, dat een lichtgele verkleuring is gebleven, die geen betrouwbare uitkomsten geeft.

Het natriummolybdaat vervangt het eerder gebruikte ammoniummolybdaat, omdat het een betere blauwkleuring geeft.

Wat het natriummolybdaat betreft, blijkt de concentratie invloed te hebben op de kleurvorming en geeft een concentratie van 0,73—0,75 % de meest stabiele blauwverkleuring.

Zoo ook het tinchloride: hier moet de concentratie liggen tusschen 0,02 % en 0,022 %. Sterker concentraties reduceeren zoowel molybdeenzuur als phosphormolybdeenzuur.

Van belang is ook het goed mengen met molybdaat zoowel als met tinchloride. Is dit onvoldoende geschied, dan wordt de blauwe verkleuring te donker.

HOOFDSTUK III.

Cholesterine in het bloed.

Terwijl omtrent de phosphatiden in het bloed betrekkelijk zeer weinig bekend is, heeft het cholesterine, de voor den mensch belangrijkste vertegenwoordiger der sterinen, een belangstelling van meer dan een eeuw. Hier zal dan ook alleen besproken worden het cholesterine van het bloed, meer in het bijzonder van het serum, onder physiologische omstandigheden.

Het cholesterine, met een waarschijnlijke samenstelling $C_{27}H_{48}O$ is een onverzadigde alcohol met één dubbele binding en één verzadigde koolstofring. Het komt in iedere cel en in alle lichaamsvochten voor, is een integreerend bestanddeel van de celmembraan en heeft als zoodanig een belangrijk aandeel in de stofwisseling van de cel.

Het cholesterine komt voor als vrij cholesterine en als cholesterineester. De cholesterineësters splitsen zich na lang koken met alkali, bij voorkeur in een alcoholisch milieu, in cholesterine en vetzuren. Cholesterine en de -esters zijn oplosbaar in aether en chloroform. In water opgelost zijn ze niet voor diffusie geschikt. Cholesterine kristalliseert uit in eigenaardige vormen van trapezium of parallelogram met a.h.w. uitgeslepen hoekjes.

Het is niet de bedoeling een beeld te geven van het metabolisme van het cholesterine. Dit is trouwens ook niet mogelijk door de groote lacunen, die er in onze kennis van de intermediaire stofwisseling van het cholesterine bestaan. Een enkele mededeeling, hierop betrekking hebbend, gaat vooraf aan de bespreking van het cholesterinegehalte van het bloed en de wisselingen, die zich in het bloed resp. serum voordoen.

Voor het *ontstaan* van het cholesterine is een exogene en een endogene oorzaak aanwezig.

De exogene factor is de voeding. Verhoogen van de cholesterinetoevoer per os, indien tevens voldoende vetten als zoogenaamd oplosmiddel aanwezig zijn, geeft een, zij het passagere, verhooging van het bloedcholesterine. Omgekeerd heeft ook een vermindering

van het cholesterine in de voeding een verlaging van het gehalte in het bloed ten gevolge.

ROSENTHAL en PATRZEK [66]) konden dit aantoonen tijdens ondervoeding in den wereldoorlog, waarbij een daling van het bloedcholesterine tot 0,005 mg % werd waargenomen.

DE LANGEN [67]) kon bij de inheemsche bevolking in Ned. Indië, bij wie de voeding vergeleken bij den Europeaan cholesterinearm is, een daling tot soms de helft van het normale bloedcholesterine waarnemen. Het is echter ook mogelijk, dat bij deze en eerder genoemde vermindering van het bloedcholesterine de verandering niet uitsluitend is toe te schrijven aan een verlaagde cholesterineopname, maar wellicht de getijktijdig veranderde vetopname tevens een oorzaak is. VERHOEFF [68]) vond bij Indonesiërs in Holland normale cholesterinewaarden.

In het dierexperiment blijkt, dat met het verhoogen resp. verminderen der cholesterinehoudende voeding het cholesterinegehalte van het bloed slechts tot op zekere hoogte stijgt of daalt. Buiten deze grenzen moeten endogene factoren verantwoordelijk worden gesteld, die een regulatiemechanisme als het verhoogen van of het vrijmaken uit de depôts, kunnen aanvullen. Gegeven sterinen worden bovendien niet als zoodanig opgenomen, doch slechts na te zijn omgevormd tot den voor den mensch juisten vorm van sterine. Dit is bij phytosterine, dat in groote hoeveelheid in plantaardig voedsel voorkomt, het geval.

Hoewel het bekend is, dat het cholesterinegehalte van ons voedsel zeer sterk wisselt, blijkt toch individueel een nagenoeg constante cholesterinewaarde te bestaan, waarin de voeding wel tijdelijke wisselingen brengt, doch bij cholesterinerijke als -arme voeding blijft de cholesterinebalans negatief, m.a.w. wordt meer cholesterine uitgescheiden dan met het voedsel wordt opgenomen.

Hierbij komen we tot den *endogenen* oorsprong van het cholesterine. Door CHAUFFARD werd hierbij aan bijnierschors en corpus luteum een groot aandeel, waarschijnlijk te groot aandeel, toegekend.

Evenzeer was dit het geval met de rol, die door GOEBEL en GNOWSKI, ABELOUS en SOULA aan de milt was toegeschreven. Veel meer dan hoogstens een parallel gaan van het cholesterinegehalte van het bloed met dat van eenige lipoïdrijke organen blijkt echter niet.

Het is dan ook niet waarschijnlijk, dat enkele organen de cholesterinesynthese zouden beheerschen; aannemelijker is het, dat de synthese een eigenschap is van alle groeiende cellen.

BEUMER [69]) en ook WACKER BECK [70]) constateerden, dat een gezonde zuigeling 0,016—0,018 gram cholesterine meer uitscheidt dan wordt opgenomen.

BEUMER toonde bovendien aan bij kinderen tot 1½ jaar, die aan zeer verschillende ziekten waren overleden, dat er een aanzienlijk toenemen van cholesterine in de hersenen bestond.

TANNHAUSER [71]) vond bij twee gezonde vrouwen een negatieve cholesterinebalans na veertien dagen vet- en cholesterinearm dieet.

BEUMER en LEHMANN [72]) toonden in het dierexperiment niet alleen een negatieve balans aan, maar bovendien bleek, dat het totale cholesterinegehalte van ieder dier na vier weken cholesterinearm dieet twintig maal zoo groot was geworden.

Toch moeten de resultaten van deze balansproeven met voorzichtigheid worden beschouwd, daar niet alleen in de faeces de uitscheiding van cholesterine is na te gaan, maar ook de mogelijkheid van een cholesterineafbraak buiten beschouwing is gelaten.

Als men echter denkt aan de hypercholesterinaemie in de graviditeit en het feit, dat men bij hongeren of voeden met cholesterinearm voedsel een stijgen van het serumcholesterine waar kan nemen door verbruik uit de depôts (vetweefsel, bijnier), dan mogen we besluiten tot een endogenen naast een exogenen oorsprong van het cholesterine.

De *afscheiding* geschiedt grootendeels met de gal en is als koprosterine in de faeces terug te vinden.

Bovendien scheidt de darm zelf cholesterine af. Het oxycholesterine, dat in het bloed kan worden aangetoond, wordt klinisch wellicht van meer belang. Momenteel van meer belang is de rol, die het cholesterine speelt bij de vorming van de galzuren (LIFSCHÜTZ). Het oxycholesterine en de galzuren worden zeer waarschijnlijk gevormd in de lever, al bestaat de mogelijkheid, dat de phase cholesterine-oxycholesterine elders plaats heeft en alleen de phase oxycholesterine-galzuren zich in de lever afspeelt.

Hoe dit ook zij, de lever is in ieder geval een belangrijk orgaan der *cholesterolyse*. Afhankelijk van deze cholesterolyse is het cholesterolytisch vermogen van het bloedserum. Welke de be-

teekenis hiervan is, is niet goed duidelijk. Op zich zelf is reeds vreemd, dat het onoplosbare cholesterine in het serum in opgelosten toestand voorkomt.

Volgens BENHOLD komt cholesterine in het serum gebonden aan eiwitten voor.

ROEPER en LEMAIRE toonden aan, dat het serum bovendien nog cholesterine kan opnemen.

SCHÖNHOLZER [73]) deed hieromtrent waarnemingen.

Hij verdeelt serum in twee hoeveelheden. In de eerste hoeveelheid wordt het cholesterine bepaald. Aan de tweede hoeveelheid wordt 0,02 g cholesterine per cm^3 toegevoegd, geschud en 24 uur in de broedstoof bewaard. Het wordt daarna door een gehard filter gefiltreerd en in het filtraat wordt opnieuw het cholesterine bepaald. Er doen zich nu drie mogelijkheden voor:

1e. beide cholesterinewaarden zijn gelijk;

2e. de tweede bepaling geeft een hoogere waarde dan de eerste, m.a.w het serum is in staat meer cholesterine op te nemen;

3e. de tweede bepaling geeft een lagere waarde dan de eerste en er wordt cholesterine neergeslagen.

Het cholesterolytisch vermogen van het serum is in deze gevallen 0, positief of negatief.

SCHÖNHOLZER's ervaring is, dat tot 30 jaar het cholesterolytisch vermogen zeker positief is, op ouderen leeftijd minder wordt.

Bij eenige bepalingen in serum van nuchtere proefpersonen kon ik dit niet volledig bevestigen.

Het belasten van het serum met cholesterine geschiedde als door SCHÖNHOLZER beschreven.

	cholest. ‰	cholest. ‰ na 24 uur belasten met cholest.
R. 26 j., lumbago	1.30	1.75
W. 31 j., ulc. ventric.	1.70	2.00
P. 66 j., gezond	1.70	2.42
B. 68 j., gezond	1.90	2.40
v. d. S. 77 j., gezond	2.00	2.50
Mej. T. 81 j., gezond	2.05	2.88
Mej. O. 85 j., gezond	2.85	2.50
N. 86 j., gezond	1.85	1.80
Mej. v. B. 87 j., vit. cordis	2.00	2.30
D. 90 j., gezond	1.55	3.00

Vooral bij eenige ouden van dagen bleek het meerendeel een positief cholesterolytisch vermogen te hebben behouden.

In ieder geval bleek ook hier, dat het cholesterolytisch vermogen onafhankelijk is van de absolute cholesterinespiegel van het serum.

Ook de belastingproef volgens BÜRGER met 5 g cholesterine op 100 g ol. olivarum gaf volgens SCHÖNHOLZER geen verhooging.

De samenstelling en hoeveelheid der overige serumlipoïden zal van belang zijn, evenals de samenstelling der serumeiwitten. Een verklaring is echter nog niet te geven.

Na deze uitweiding over de cholesterolyse terugkeerend tot de uitscheiding van het cholesterine, moet vermeld, dat een deel van het cholesterine met de gal in den darm afgescheiden, weer wordt teruggeresorbeerd. De beteekenis van den kringloop darm-chylus-lever-gal-darm is hiermee echter nog niet geheel verklaard; wel maakt de rol, die het cholesterine speelt bij de vetresorptie en het vettransport, een en ander duidelijker (zie pag. 13 en 21).

Bovendien moet aan een ontgiftende functie worden gedacht. BEUMER [74]) kon althans een levenverlengende werking van cholesterine aantoonen bij caviae, die met een letale dosis diphtherietoxine waren ingespoten.

Ook is de functie voor een deel gelegen in den opbouw van de cel. Er komt geen cel zonder cholesterine voor. Toch moet het cholesterine, gezien het zeer wisselend gehalte der verschillende organen, nog een andere beteekenis hebben. Bovendien komt het als slakkenstof voor in weefsels met weinig of geen bloedvaten en capillairen, zooals de cornea, de lens, het kraakbeen en de wand van sommige groote vaten.

Zooals reeds medegedeeld, wordt behalve door de gal, ook door den darm zelf cholesterine uitgescheiden. Daar komen nog bij de sterinen, afkomstig van het groote darmoppervlak en van de darmbacteriën; alles tezamen een vrij aanzienlijke hoeveelheid.

Niet onbelangrijk is de hoeveelheid cholesterine, door de huid en de huidklieren afgescheiden. De „celvetten" (opperhuidsvet, nagelvet, vernix caseosa, oorsmeer) zijn rijker aan vrij cholesterine dan de „secreetvetten" (comedonenvet, zweet), die rijker zijn aan cholesterineësters en waarbij bovendien een ontleding van de cholesterineësters in vetzuren en vrij cholesterine plaats heeft. Zoo bevat colostrum 50 % vrij cholesterine, terwijl de melk bijna uitsluitend cholesterineësters bevat. De hoeveelheid cholesterine met

de melk uitgescheiden is aanzienlijk (0,15 g per liter). KEHRER wijst dan ook op de sterke schommeling in de cholesterinehuishouding bij zogstuwing of plotseling beëindigen der borstvoeding. De *resorptie* van vrij cholesterine zoowel als van cholesterineësters geschiedt vanuit den darm, voornamelijk vanuit het duodenum. Hierbij spelen de gal en wel speciaal de galzuren een rol, evenals het pancreassap. Na hetgeen vermeld is over de mogelijke rol, die het cholesterine speelt bij de vetresorptie en het vettransport, is het de vraag of HOPPE SEYLER's uitspraak: „de vetten banen bij de resorptie den weg voor het cholesterine," in dezen vorm juist is.

Het cholesterinegehalte van het bloed.

We mogen aannemen, dat er individueel een vrijwel constant gehalte aan cholesterine in het bloed bestaat en dat er physiologische schommelingen zijn, veroorzaakt door voeding, leeftijd, menstruatie en graviditeit.

Wat echter het cholesterinegehalte van het bloed, resp. serum van den mensch in nuchteren toestand is, is moeilijk te zeggen. In de mededeelingen betreffende het cholesterinegehalte van het bloed komen uitgebreide, meestal dezelfde opgaven voor van verschillende waarden door verschillende onderzoekers met verschillende methoden gevonden. Het komt mij niet zeer verwonderlijk voor, dat deze waarden niet overeenstemmen. ROSENTHAL en PATRZEK geven een overzicht der cholesterinewaarden van het serum van gezonde menschen volgens

CHAUFFARD, LAROCHE en GRIGAUT	0,150—0,180 %
WIDAL, WEIL en LANDAU	0,174—0,195 %
BACKMEISTER en HENES	0,110—0,180 %
HENES	0,110—0,182 %
KLINKERT	0,140—0,240 %
STEPP	0,130—0,170 %

BLOOR en BANG vonden echter waarden, varieerend tusschen 0,190 en 0,300.

In het bloed komen vrij cholesterine zoowel als cholesterineësters voor. BÜRGER [75]) vond in bloed 30 % van het totale cholesterine als vrij cholesterine en 70 % als cholesterineësters.

HENES [76]) bevestigt, dat de verdeeling van cholesterine in serum en bloedvetten niet gelijk is. 53—62 % van de totale hoeveelheid

komt in het serum voor, de rest in de erythrocyten. Aan de grootere physiologische en de pathologische schommelingen doen de verschillende bloedbestanddeelen niet in gelijke mate mee; de bloedcellen doen nauwelijks mee.

Men bepaalt dan ook in den regel alleen het cholesterine in het serum, wat ook door mij is gedaan.

Indien niet anders vermeld, wordt onder cholesterinegehalte van het bloed resp. serum het totale cholesterinegehalte bedoeld, dus nadat het cholesterine uit de esters is vrijgemaakt.

De reeks methoden in gebruik of in gebruik geweest voor het bepalen van het cholesterinegehalte van het bloed worden in ieder boek of dissertatie betreffende dit onderdeel uitvoerig besproken, zoodat ik meen hiernaar te mogen verwijzen (zie b.v. Dissertatie POLANO, Leiden 1934).

Quantitatieve bepaling.

Bij mijn onderzoek gebruikte ik de colorimetrische methode van GRIGAUT. Deze berust op de methode van LIEBERMANN en BURCHARD, waarbij ik echter de colorimetrische bepaling verving door een extinctiebepaling met ZEISS' Stufenphotometer.

Bij de bepaling volgde ik grootendeels de beschrijving van Dr. P. MULLER: Klinische Methoden, Scheikunde en Microscopie. Het principe hiervan is, dat uit een mengsel van alcoholische loog en serum het cholesterine (met de cholesterineësters) door eenmaal extraheeren met aether quantitatief hierin wordt overgebracht. Het cholesterine wordt opgelost in droge chloroform en hiermee wordt de reactie van LIEBERMANN en BURCHARD uitgevoerd.

In een scheitrechter van 50 cm^3 brengt men 1 cm^3 serum en 13 cm^3 alcoholische loog. Alcoholische loog is:

alcohol 96 %	100 cm^3
water	57 cm^3
NaOH 10 %	7,5 cm^3

Dit mengsel schudt men om, voegt dan 15 cm^3 aether toe.

Voorzichtig omzwenken, waarna men minstens 5 minuten laat staan, zoodat een volledige scheiding der lagen optreedt. Dit is te verduidelijken door van te voren een druppel phenolphtaleïne toe te voegen, zoodat het serumlooggedeelte paars gekleurd wordt.

Dit gedeelte tapt men af. De aether wordt gewasschen door voorzichtig 20 cm^3 aq.dest. langs den wand te doen toevloeien. Daarna weer 5 minuten laten staan, de onderste laag weer aftappen en het wasschen nog eenmaal herhalen.

De aether moet nu in een porceleinen schaaltje met een kooksteentje op een electrisch waterbad worden ingedampt.

In een droge, verdeelde reageerbuis van 10 cm^3 wordt het residu opgelost in droge chloroform en wel zoo, dat na drie extracties het volume juist 5 cm^3 bedraagt.

Men voegt nu toe met een droge pipet 2 cm^3 azijnzuuranhydride en 0,1 cm^3 sterk zwavelzuur.

Men mengt en laat het buisje gedurende een half uur in het donker staan. Daarna wordt op dezelfde wijze als beschreven bij de phosphatidenbepaling de extinctie bepaald met den photometer. Als vergelijkingsvloeistof gebruikte ik hier chloroform. Zooals bij de phosphatidenbepaling beschreven, is ook hier een ijkcurve gemaakt. Hiervoor wordt van een reeks chloroformoplossingen van cholesterine de extinctie bepaald. Door op ordinaat en abscis deze waarden uit te zetten, wordt een curve gemaakt. Omgekeerd is nu bij een bepaalde extinctie na te gaan het cholesterinegehalte van het serum, opgelost in chloroform.

De waarden zijn uitgedrukt in $^0/_{00}$, waarbij was uitgegaan van 5 cm^3 chloroformoplossing van cholesterine. Gaat men nu uit van 1 cm^3 serum, zooals bij deze bepalingen het geval was, dan moet de uitkomst dus nog met 5 vermenigvuldigd worden. Bovendien was de curve gemaakt op een dikte van de vloeistoflaag van 1 cm. Daar ik een cuvette van 0,5 cm laagdikte gebruikte, moet dus nog met 2 worden vermenigvuldigd. Zoodoende moest dus de einduitkomst met 10 worden vermenigvuldigd.

De schommelingen in de physiologische cholesterinaemie hebben verschillende oorzaken. In het algemeen blijkt eerder een hyperdan een hypocholesterinaemie aanwezig.

De wel eens gemeende invloed, die lichamelijke inspanning, rust en slaap op het cholesterinegehalte van het bloed zouden hebben, is waarschijnlijk niet juist. Wel kan een aanhoudende dorst tot een lichte hypercholesterinaemie leiden.

Onweer en verlaging van den barometerstand geven een geringe daling van het bloedcholesterine.

De invloed van de normale voeding is wel eens overschat; dit mag nog geen aanleiding zijn deze te verwaarloozen, zooals sommige onderzoekers meenen te mogen doen. GRIGAUT wijst reeds op de aanzienlijke stijging, die kleine hoeveelheden cholesterine in de voeding op het bloedcholesterine hebben, een invloed grooter dan de hoeveelheid cholesterine in de voeding op zich zelf kan veroorzaken. Hierbij moet wel gewezen worden op het met het cholesterine gelijktijdig toegediende vet.

Het leek mij dan ook noodig vergelijkende bepalingen steeds in nuchter bloed uit te voeren. Bepalingen, uitgevoerd bij polikliniekpatienten, die niet nuchter waren gehouden, leidden tot uitkomsten aan den hoogen kant.

Bij dierproeven blijkt bij cholesterinerijke voeding de invloed zoowel bij carnivoren, herbivoren en omnivoren.

BÜRGER en HABS [77]) toonden aan, dat 5 gram cholesterine in 100 gram ol. olivarum na 4 uur een verdubbelde waarde van het bloedcholesterine geeft. Na 8 uur treedt geleidelijk een daling in en na 24 uur is de oorspronkelijke waarde weer bereikt.

GARDNER en GAINSBOROUGH [78]) ontkennen een duidelijke alimentaire hypercholesterinaemie: alleen wordt invloed erkend van voldoende lang doorgevoerde cholesterinerijke, tevens vethoudende, voeding. Kleine wisselingen in het bloedcholesterine worden verklaard door een niet nader toegelichte endogene oorzaak. Zij komen tot de conclusie, dat de cholesterineësters ongeveer parallel gaan met de voeding; het vrij cholesterine echter niet.

Omgekeerd blijkt bij een verminderen van het voedingscholesterine een daling van het bloedcholesterine het gevolg te zijn. Dit dalen heeft slechts plaats tot een zeker minimum. Bij verdere vermindering volgt vaak een aanzienlijke stijging. Dit moet waarschijnlijk toegeschreven worden aan een door endogenen oorzaak aanvullen van het cholesterineverlies, hetzij door mobilisatie van de cholesterinedepôts, hetzij door een verhoogde cholesterinesynthese.

Merkwaardig is het verloop bij *inanitie*. Hier komt het snel tot een hypercholesterinaemie, die wellicht te verklaren is door het vrijworden van cholesterine uit de dadelijk aangesproken depôts en noodig voor het vettransport. Hierna komt het tot een verlaging van het cholesterine in het bloed, die blijft tot de dood intreedt. Dit komt overeen met het stadium, dat er geen vettransport meer is.

Bij den volwassen mensch vertoonen de hoeveelheden der lipoïden in het bloed slechts geringe schommelingen.

Behalve de reeds vermelde geringe schommelingen zijn de voornaamste die tijdens de menstruatie, tijdens de zwangerschap en tijdens den ouderen leeftijd.

Het bleek aan MÜHLBOCK en KAUFMANN [79]), dat tijdens de menstruatie een duidelijke daling van het bloed optreedt na een aanvankelijk praemenstrueele stijging.

OKEY en BOYDEN [80]) komen tot een dergelijke bevinding.

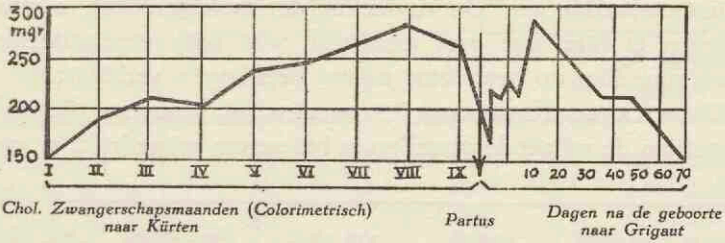
MÜHLBOCK en KAUFMANN geven een voorbeeld van een 26-jarige vrouw, waarbij het cholesterinegehalte van het bloed tijdens de menstruatie is aangegeven in mg %, welk voorbeeld hieronder volgt.

datum	vrij chol.	chol. esters	totaal chol.
13.3	105	68	173
18.3	102	64	166
21.3	100	60	160
25.3	104	64	168
28.3	105	61	166
1 .4	112	80	192
5. 4 menses	78	34	112
7. 4 menses	110	32	142
8 .4 menses	108	32	140
11.4	98	64	162

Ook hierin blijkt de daling van het totale cholesterinegehalte van het bloed tijdens de menstruatie; nog sterker is de daling van de cholesterineësters.

Tijdens de zwangerschap heeft een geleidelijke stijging van het cholesterine in het bloed plaats met een optimum in de 8e maand. Hierop volgt een daling kort voor en tijdens den partus tot bijna normale waarden. Daarna treedt een snelle stijging op op den 5en tot 7en dag, met een nieuwe stijging op den 10en dag post partum. Deze staat waarschijnlijk in verband met de lactatie. Hierna volgt een daling van het cholesterine in het bloed, die zich geleidelijk voortzet, tot na 2—3 maanden de norm weer bereikt is (KÜRTEN [81])).

BÜRGER stelt dit aldus graphisch voor:



Ongeveer tegelijkertijd publiceeren HERMANN en NEUMANN [82]) en CHAUFFARD, GUY LAROCHE en GRIGAUT [83]) verhoogde cholesterinewaarden, gevonden in het bloed van gravidae.

CHAUFFARD, GUY LAROCHE en GRIGAUT gingen het totaal cholesterine na in de verschillende stadia der zwangerschap, uitgedrukt in ‰.

1e— 2e maand.	2.50	2.70		
2e— 3e „	2.10	1.60	2.20	1 70
4e— 5e „	1.90	2.10		
5e— 7e „	1.60	3.0	4	
8e—10e „	van 32 vrouwen hebben slechts 2 een lagere waarde dan 2 ‰, gemiddeld 2.5 ‰, doch in het algemeen constant.			

Het is jammer, dat dit laatste niet nader gepreciseerd is, evenals het wisselend aantal onderzochte vrouwen in de verschillende maanden een nauwkeurige vergelijking belemmert.

MÜHLBOCK en KAUFMANN hebben de bepalingen in het serum uitgevoerd en uitgedrukt in mg %, gesplitst in vrij cholesterine, cholesterineësters en totaalcholesterine:

	aantal	vrij chol.	chol. esters	tot. chol.
1e— 3e maand	9	53 (31—71)	120 (83—141)	173 (114—213)
4e— 8e „	9	70 (54—85)	150 (112—215)	220 (166—300)
9e—10e „	14	82 (39—117)	186 (126—224)	268 (166—316)

De tusschen haakjes geplaatste getallen geven de minimum- en maximumwaarden aan. De verdeeling der zwangerschap in maandrubrieken is hier wat grof genomen, wat voor een gedeelte de groote spreiding op het kleine aantal bepalingen verklaart.

MÜHLBOCK en KAUFMANN [79]) vonden bij vrouwen tijdens het puerperium de volgende waarden in het serum, uitgedrukt in mg %:

dag van kraambed	aantal	vrij chol.	chol. esters	tot. chol.
1	5	95 (79—107)	199 (172—240)	294 (252—347)
2	5	93 (71—114)	208 (139—270)	301 (210—384)
3	5	90 (74—99)	203 (154—226)	293 (228—320)
4	5	86 (64—100)	197 (138—246)	283 (202—342)
5	5	85 (55—97)	188 (107—223)	273 (162—320)

In de eerste dagen na den partus blijken het vrij cholesterine, zoowel als de cholerineësters verhoogd. Daarna treedt een daling op. Of deze zich na den 5en dag voortzet, is niet nagegaan.

In tegenstelling met GRIGAUT (zie graphiek, pag. 43) deelt HUFFEMANN [84]) mede, dat na 8—10 dagen de normale cholesterinewaarden in het bloed weer zijn bereikt.

TYLER en UNDERHILL [44]) stellen den duur van deze herstelphase op twee weken.

Bij mijn onderzoek werd het cholesterine in het serum nagegaan tusschen den 8en en 12en dag post partum. Hier werden in het algemeen nog duidelijk verhoogde waarden gevonden, weinig verschillend van die, kort voor den partus nagegaan (zie later).

TYLER en UNDERHILL wijzen tevens op de constante waarde van de verhouding $\frac{\text{cholesterine}}{\text{lecithine}}$ in de graviditeit, welk quotient blijft binnen de waarden van niet-gravidae.

Het cholesterinegehalte van het serum blijkt op ouderen leeftijd verhoogd te zijn. BEQEREL en ROSIER wisten dit reeds in 1844.

BÜRGER en MÖBIUS [85]) gingen het totaal cholesterinegehalte van

het serum na op verschillenden leeftijd. Zij vonden de volgende waarden, uitgedrukt in grammen per 100 cm^3 serum.

	aantal	cholesterine	min. en max. waarde
13—20 jaar	9	1,49	1,58—2,06
21—30 „	11	1,68	1,15—2,36
31—40 „	10	2,14	1,92—2,41
41—50 „	10	2,12	1,78—2,43
51—60 „	11	1,99	1,40—2,48
61—70 „	11	1,89	1,52—2,45
71—80 „	4	1,78	1,44—1,93
81—90 „	2	1,62	1,51—1,72

Behalve een daling op ouderen leeftijd blijkt hier een verhoogd cholesterine tusschen 31 en 50 jaar. Ik heb deze daling nergens bevestigd gevonden. In de door mij gevonden waarden blijkt eerder een stijging.

BRODIN, AUBIN en GRIGAUT [86]) vinden bij 61 personen van 80—93 jaar eveneens een daling van het bloedcholesterine.

PARHON en MARIE PARHON [87]) geven een reeks waarnemingen op, waarbij een regelmatige stijging parallel met den leeftijd tot uiting komt. Hier is echter niet duidelijk of boven 80 jaar het cholesterinegehalte weer daalt.

PAGE, KIRK, LEWIS, TOMPSON en V. SLIJKE [88]) konden geen duidelijk verband aantoonen tusschen leeftijd en cholesterinegehalte van het plasma bij een onderzoek van het bloed van 61 mannen van 20—90 jaar.

MÜHLBOCK en KAUFMANN [79]) vonden bij een onderzoek van het serum van vrouwen een stijging parallel met den leeftijd en een daling bij de groep van 70—80 jaar. (Het aantal van deze groep bedraagt slechts 1!) Het cholesterine is berekend als mg %. De tusschen ( ) geplaatste getallen zijn minimum en maximumwaarde. (Zie tabel op pag. 46.)

Het ligt voor de hand bij een verklaring van het verloop van het cholesterinegehalte gedurende het leven verband te zoeken met de sexueele functies. Hier zijn echter nog geen conclusies te trekken. De bepalingen, door MÜHLBOCK en KAUFMANN [79]) na castratie bij dieren verricht, konden geen verband aantoonen.

	aantal	vrij chol.	chol. esters	totaal chol.
20—30 jaar	22	64 (38—92)	136 (72—170)	200 (160—260)
30—40 „	22	67 (50—91)	146 (100—226)	211 (150—294)
40—50 „	24	68 (49—84)	145 (98—199)	213 (147—295)
50—60 „	17	74 (155—98)	187 (124—199)	261 (187—286)
60—70 „	11	80 (46—95)	180 (153—230)	260 (211—322)
70—80 „	1	56	128	184

HOOFDSTUK IV.

De lipoïden en de bloedstolling.

Alvorens den invloed van de lipoïden op de bloedstolling te bespreken, eerst nog een enkel woord over de bloedstolling zelf.

Vangt men door venapunctie verkregen bloed op in een vat, dan zal na een zekeren tijd het bloed stollen. Hierbij verandert het *fibrinogeen* in *fibrine* onder invloed van een ferment, het *thrombine*. Deze overgang duurt slechts enkele secunden.

De *bloedstollingstijd*, d.i. de tijd, verloopen tusschen de venapunctie en het volledig gestold zijn van het bloed, bedraagt normaal 4—6 minuten, althans in ons land. Deze stollingstijd wordt grootendeels ingenomen door het vormen van *thrombine*. Het thrombine komt niet als zoodanig in het bloed voor, doch ontstaat uit het in het bloed circuleerende *prothrombine*. De thrombocyten uit het opgevangen bloed leggen zich tegen den glazen wand aan, waarbij een stof vrijkomt, de *thrombokinase*.

De tijd, noodig voor het vormen der thrombokinase, maakt het grootste gedeelte van den bloedstollingstijd uit.

Thrombokinase, calciumionen en prothrombine vormen samen het trombine; deze vormingstijd duurt normaal ongeveer 30 secunden.

Het *fibrinogeen*, een eiwit, behoorende tot de globulinen, wordt in de lever gevormd. De normale waarde varieert tusschen 200 en 400 mg %. Veranderingen in deze waarden beïnvloeden de stolling niet; eerst bij een gehaltevermindering tot $^1/_{200}$ wordt de stollingstijd langer.

Het *prothrombine*, een eiwit, behoorende tot de pseudoglobulinen, wordt in het bloed in oplossing gehouden door neutrale zouten. Volgens MORAWITZ [89]), HOWELL [90]) en NOLFF [91]) is het afkomstig uit de thrombocyten.

BORDET is van meening, dat niet de bloedplaatjes zelf thrombine bevatten, maar hierin wel de lipoïdfactor voor de bloedstolling aan-

wezig is. Deze factor, de thrombokinase, wordt door BORDET *cytozym* genoemd. Hij onderscheidt het cytozym, een door alcohol te extraheeren thermostabiele stof van een door waterige extractie uit verschillende organen te verkrijgen thermolabiele stof, die bij de stolling gemist kan worden, maar haar zeer versnelt.

BORDET en DELANGE beschrijven, dat prothrombine, door hen *serozym* genoemd, in het bloed als voorstadium aanwezig is als *proserozym*, een adsorptieverbinding met de bloedcolloïden.

Hoe de overgang van proserozym tot serozym plaats vindt, is niet goed bekend; wellicht heeft het bevochtigen van den wand of het cytozym zelf invloed. Zooals MORAWITZ reeds aangaf: prothrombine geeft met thrombokinase en calcium thrombine, zookomen ook BORDET en DELANGE tot dezelfde conclusie: serozym en cytozym geven met calcium dadelijk thrombine.

RETTGER [92]) meent, dat het prothrombine eerst gevormd wordt, als het bloed uit de vaten is getreden en wel tengevolge van het te gronde gaan van de vormelementen, die in het bloed aanwezig zijn.

Omtrent de wijze, waarop prothrombine tot thrombine wordt geactiveerd, staan naast elkaar drie meeningen.

1e. De meening van HOWELL [93]), waarbij de thrombinevorming afhankelijk wordt gesteld van de calciumionen. De thrombokinase werkt slechts neutraliseerend op het *antithrombine*, een stof, gebonden aan prothrombine, die de omzetting in thrombine verhindert.

2e. De meening van MELLANBY [94]), die aan het calcium slechts een versnellen van de reactie toeschrijft, doch in de thrombokinase de oorzaak ziet van de omzetting van prothrombine in thrombine.

3e. De meening van BORDET en DELANGE, die thrombine beschouwen als een verbinding van serozym en cytozym.

ALEXANDER SCHMIDT, die reeds in 1892 een fermentwerking als het essentieele der bloedstolling aangaf, stelde vast, dat alcoholische orgaanextracten de bloedstolling bevorderen en dat deze extracten rijk zijn aan lecithine. Deze alcoholische extracten van organen of bloedcellen bleken thermostabiel; de waterige extracten, waarmee MORAWITZ werkte echter niet. Thans is bekend, dat de thrombocyten de voornaamste bron der thrombokinase vormen. Wanneer thrombocyten te gronde gaan, wat het geval reeds is, als de wand van het proefbuisje bevochtigd wordt door het bloed, komt

thrombokinase vrij. Leucocyten en een gelaedeerd weefsel leveren in mindere mate ook thrombokinase.

ZAK, HOWELL en BORDET en DELANGE bewezen onafhankelijk van elkaar, dat thrombokinase tot de lipoïden behoort.

ZAK [95]) bereidde een colloïdale phosphatidenoplossing uit runderhersenen en kon hiermee de stolling van rundercitraatplasma, dat tevoren gerecalcificeerd was, versnellen. Bovendien bleek hem, dat na de lipoïden uit citraatplasma verwijderd te hebben met petroleumaether, door het toevoegen van calcium het plasma niet meer tot stollen was te brengen; wel echter indien men ook iets van de colloïdale phosphatidenoplossing toevoegde.

Tevens werd duidelijk, dat fermentatieve splitsing van de plasmalipoïden door lipasebevattende mengsels z.a. steapsine, pancreatine Rhenania en takadiastase (PARKE DAVIS) een verlengden stollingstijd gaven. Invloed van het calcium van het plasma kon hierbij worden geëlimineerd.

Het feit, dat bepaalde alcaloïden, zooals morphine, atropine en pilocarpine een colloïdale oplossing van lipoïden niet neerslaan, terwijl dit met chinine, strychnine en cocaïne wel het geval is, bleek ook met de plasmalipoïden te geschieden.

ZAK [96]) deed soortgelijke waarnemingen met plasma, dat nu phosphatidearm was gemaakt door centrifugeeren en filtreeren. Ook nu kon de ontbrekende schakel worden ingenomen door een phosphatidenemulsie. Dit was in overeenstemming met de waarnemingen van CRAMER en PRINGLE [97]), die het plasma filtreerden door een Berkefeldfilter. Hierdoor houdt men met zekerheid resten van cellen en thrombocyten tegen, die pas bij destructie thrombokinase vrijgeven. ZAK gaat dan na of uitsluitend de phosphatiden het genoemde effect hebben en gebruikt hiervoor een petroleumaetherextract van erythrocyten, dat rijk is aan cholesterine. Dit nu bleek de stolling te vertragen, wat te verwachten was door de antagonistische werking van het cholesterine (zie pag. 20).

Tot dezelfde resultaten als ZAK komen BORDET en DELANGE [98]). Het cytozym, door hen uit thrombocyten en spierweefsel bereid door extractie met alcohol en na het verdampen der alcohol op te lossen in water, is thermostabiel, oplosbaar in alcohol, petroleumaether, chloroform en onoplosbaar in aceton. Gerecalcificeerd oxalaatplasma stolt na toevoegen van een weinig van dit cytozym na korten tijd volledig. Chemisch werd deze stof gelijk gesteld met lecithine.

HOWELL [99]) doet een onderzoek naar den aard der thromboplastische stof of thrombokinase. Hij extraheert hiertoe gedroogde hersenen of thymus met alcohol, aether of chloroform. Na zuiveren en mengen met water ontstaat uit dit extract een colloïdale oplossing. Deze oplossing is in staat de stolling van gerecalcificeerd oxalaatplasma te versnellen. Het werkzame bestanddeel blijkt *cephaline* te zijn, zooals GRATIA en LEVENE [100]) konden bevestigen. Dit lipoïd zou gebonden zijn aan eiwit, wat een verklaring zou kunnen zijn voor de thermolabiliteit.

ZUNZ en LA BARRE [101]) konden het cytozym splitsen in een phosphatide, waarschijnlijk cephaline en een eiwitsplitsingsproduct, wat FREUND [102]) kon bevestigen. De eiwit- zoowel als de lipoïdcomponent zouden volgens MILLS [103]) bloedstollende eigenschappen bezitten.

VAN LOOKEREN CAMPAGNE [104]) oppert zelfs de mogelijkheid, dat dit eiwit het prothrombine zou kunnen zijn.

Evenals HOWELL komt ook CLOWES tot de conclusie, dat lecithine in al zijn waarnemingsgevallen onwerkzaam is, terwijl de werking der cephalinepreparaten evenredig is met het aantal onverzadigde bindingen.

De experimenten van ZAK en BORDET leverden op, dat de phosphatiden de rol der thrombokinase vervulden. Dit is echter zeker niet juist, zooals RUMPF [105]) kon aantoonen. Deze bereidde een phosphatidenemulsie uit runderhersenen en thrombokinase uit runder- en paardenlever. Bij gerecalcificeerd oxalaatplasma van paarden- en runderbloed heeft de stolling onder invloed van de lipoïden wel sneller plaats, doch in veel geringer mate dan de thrombokinase. Het blijkt RUMPF bovendien, dat lipoïdarm plasma ook na toevoegen van versch serum, waar dus geformeerd thrombine in aanwezig is, niet stolt, zooals hij bij herhaling kon aantoonen. Wanneer RUMPF plasma van paardenbloed extraheert met petroleumaether, kon dit ontvette plasma weer tot stollen gebracht worden door phosphatiden toe te voegen, terwijl dit mislukte met thrombokinase. Hij concludeert hieruit, dat de phosphatiden wel een rol spelen bij de stolling, zij het dan ook niet die van de thrombokinase.

Ook PEKELHARING [106]) komt tot deze conclusie. Hij kon met petroleumaether geëxtraheerd plasma weer tot stollen brengen door lucht en CO_2 door te leiden zonder phosphatiden toe te voegen.

PEKELHARING verklaarde dit door met het CO_2 de fijne petroleumaetheremulsie op te heffen. Hij is van meening, dat de vormelementen van het bloed bij de stolling nucleoproteiden afstaan, die met calciumzouten fibrineferment vormen. De stollingversnellende werking van lecithine berust dan op een neutraliseeren van de stollingremmende stoffen, niet op een thrombokinetische werking. Zijn conclusie is: „Die phosphatide wirken nur in so weit, als Sie im Stande sind Hindernisse gegen die Bildung des Thrombins aus Nucleoproteiden und Kalksalzen und gegen die Bildung oder die Ausscheidung des Fibrins auszuräumen. Sie sind also nicht als „Kinasen" im geläufigen Sinne des Wortes zu betrachten."

Van belang zijn de onderzoekingen van MC. LEAN [107]). Hij toonde aan, dat zuivere cephaline den stollingstijd aanzienlijk verkort, lecithine echter onwerkzaam is. Tevens wees hij op de moeilijkheden, die zich voordoen om cephaline in voldoend zuiveren toestand te krijgen, waarmee hij verklaarde, dat andere onderzoekers met lecithine een verkorten stollingstijd kregen. Tot dusverre was steeds een kleine hoeveelheid lecithine met cephaline gemengd gebleken. Dit werd nog des te waarschijnlijker, toen bleek, dat cephaline, dat zeer moeilijk oplosbaar is in alcohol, gemakkelijker oplost bij aanwezigheid van een kleine hoeveelheid lecithine. Hij toonde ook aan, dat de werkzaamheid van cephalinepreparaten afhankelijk is van het aantal onverzadigde bindingen. Dit blijkt, als men de cephaline verzadigt door oxydatie of reductie, waarbij de werkzaamheid vermindert.

Ook WASHMANN [108]) kon de bloedstolling versnellen door cephalinepreparaten. Het gebonden zijn van cephaline aan eiwit, zooals MILLS zich dit voorstelt, noemt hij dan weefselfibrinogeen. MILLS en GUEST zien fibrine ontstaan uit bloedfibrinogeen + cephaline van het weefselfibrinogeen + calcium.

In vorige hoofdstukken is sprake geweest van de antagonistische werking van cholesterine en phosphatiden. Ook bij de stolling is dit antagonisme merkbaar (DEGKWITZ [109])).

ZAK is van oordeel, dat de bloedstolling, die wordt vertraagd door een petroleumaetherextract van erythrocyten, deze eigenschap bezit door haar hoog cholesterinegehalte.

DÖRLE [110]) vond, dat de bloedstolling wordt vertraagd, als cholesterine in ol. olivarum wordt toegediend en dat deze werking evenredig is aan de stijging van het cholesterine van het bloed.

HERMANSDORFER [111]) kon eveneens den invloed van de lipoïden bij de stolling aantoonen door de stollingsvertragende werking van aether, saponine of aceton. Het gelukte hem echter niet hierbij een antagonistische werking van cholesterine te constateeren.

Uit deze onderzoekingen blijkt, dat de phosphatiden een rol spelen in de eerste phase van de bloedstolling en dat zij in staat zijn de bloedstolling te verkorten.

Als we willen nagaan den invloed van de lipoïden op de bloedstolling en hierbij de phosphatiden in haar geheel beschouwen, is het aan te bevelen dien invloed op de geheele bloedstolling in dit onderzoek te betrekken en den totalen stollingstijd, eventueel reactietijd en stollingstijd na te gaan.

Onder *reactietijd* verstaat men den tijd, verloopen tusschen het oogenblik van de venapunctie en het begin van de stolling.

De *stollingstijd* is de tijd, verloopen tusschen het moment van de venapunctie en het volledig gestold zijn van het bloed.

Uit de waarnemingen in Hoofdstuk V blijkt, dat de reactietijd en stollingstijd tot op zekere hoogte parallel gaan. In het algemeen wordt alleen de stollingstijd bepaald en heeft deze ook practisch de meeste waarde.

In 1878 beschreef VIERORDT reeds een methode, waarbij een gereinigde witte paardenhaar langzaam door een glazen capillair met bloed wordt getrokken. Het oogenblik, waarop de haar niet wit, maar rood gekleurd te voorschijn komt, geeft het oogenblik van de stolling aan. Hij vond hiermee stollingswaarden van ongeveer 9 minuten.

Sindsdien zijn er vele methoden beschreven ter bepaling van den stollingstijd. Het is niet mijn bedoeling deze hier na te gaan, temeer daar ze alle berusten op het visueel beoordeelen van het moment der volledige stolling. Is het begin der stolling met het bloote oog reeds moeilijk nauwkeurig te beoordeelen (de reactietijd dus), nog meer is dit het geval met het beoordeelen van het volledig gestold zijn.

FONIO zegt met betrekking tot de door hem gevolgde methode: „Der Begriff ist natürlich willkürlich gewählt, indem ja nachher das Koagulum noch fester würde." Dit geldt ook thans nog bij de stollingstijdbepalingen. Het is dan ook mijn bedoeling geweest met de door mij gevolgde methode deze moeilijkheid zooveel mogelijk te ondervangen.

Gevolgde methode ter bepaling van den bloedstollingstijd.

In dit hoofdstuk is reeds uiteengezet, waarom voor de bepaling van den bloedstollingstijd niet een der gangbare methoden gevolgd is.

De uitvlokking van fibrine gaat gepaard met een troebeling. De mate van troebeling is evenredig met de vordering van het stollingsproces.

WOLVIUS [112]) heeft de stolling als troebelingsverschijnsel en den stollingstijd als onderdeel hiervan nagegaan met behulp van den extinctiemeter van MOLL. Hij onderbreekt door middel van een cuvette met plasma de stralende warmte van een electrisch lampje, welk warmteverschil wordt nagegaan met een thermozuil en geregistreerd met een spiegelgalvanometer. Naarmate het plasma stolt, wordt het minder doorgankelijk voor warmtestralen; de hierdoor verminderde thermostroom wordt dan gemeten.

FESTEN [113]) heeft, naar het principe van WOLVIUS, onderzoekingen gedaan over het verloop der bloedstolling. Hij elimineerde echter de warmtestraling en ging de lichtdoorgankelijkheid na door middel van een photocel. Een photoëlectrisch potentiaalverschil wordt dan teweeggebracht door verandering in de hoeveelheid toe te voeren licht door een troebel wordende laag stollend plasma.

Gebaseerd op deze onderzoekmethoden is het door mij gebruikte apparaat opgesteld *).

Het blijkt niet doelmatig bloed als zoodanig voor de bepalingen te gebruiken. De stollingstijd begint dan op het oogenblik van de venapunctie, hetgeen een nauwkeurige waarneming niet mogelijk maakt. Bovendien gaat in dit geval dermate veel licht door absorptie en verstrooiing door de erythrocyten verloren, dat ook dit moeilijk te ondervangen bezwaren geeft. Daarom is uitgegaan van oxalaatplasma.

Hierbij heeft men het dubbele voordeel het oogenblik van het begin der stolling in de hand te hebben en geen belemmering bij de bepaling te ondervinden door de licht absorbeerende en dispergeerende eigenschappen van de erythrocyten.

Alle bepalingen, ook die betreffende den stollingstijd, zijn uit-

*) De physisch meest juiste opstelling verkreeg ik door de hulp van Coll. SIEMELINK, wien ik hier hartelijk dank zeg.

gevoerd in bloed van nuchtere proefpersonen. BÜRGER en SCHRADE [114]) wijzen nog eens op de noodzakelijkheid hiervan. Zeer sterk geaccentueerd wordt dit dan, doordat een gift van 100 gram ol. olivarum 35 % van de nuchterwaarde der reactietijd geeft. De schrijvers merken op, dat de olie zelf de stolling niet beïnvloedt, maar dat het secundair de phosphatiden doet toenemen, die de stolling versnellen.

De bepaling heeft nu op de volgende wijze plaats.

In een droge steriele LUERsche spuit wordt opgezogen 1 cm^3 van een steriele oplossing: { K-oxalaat 1 %. / NaCl 0.85 %.

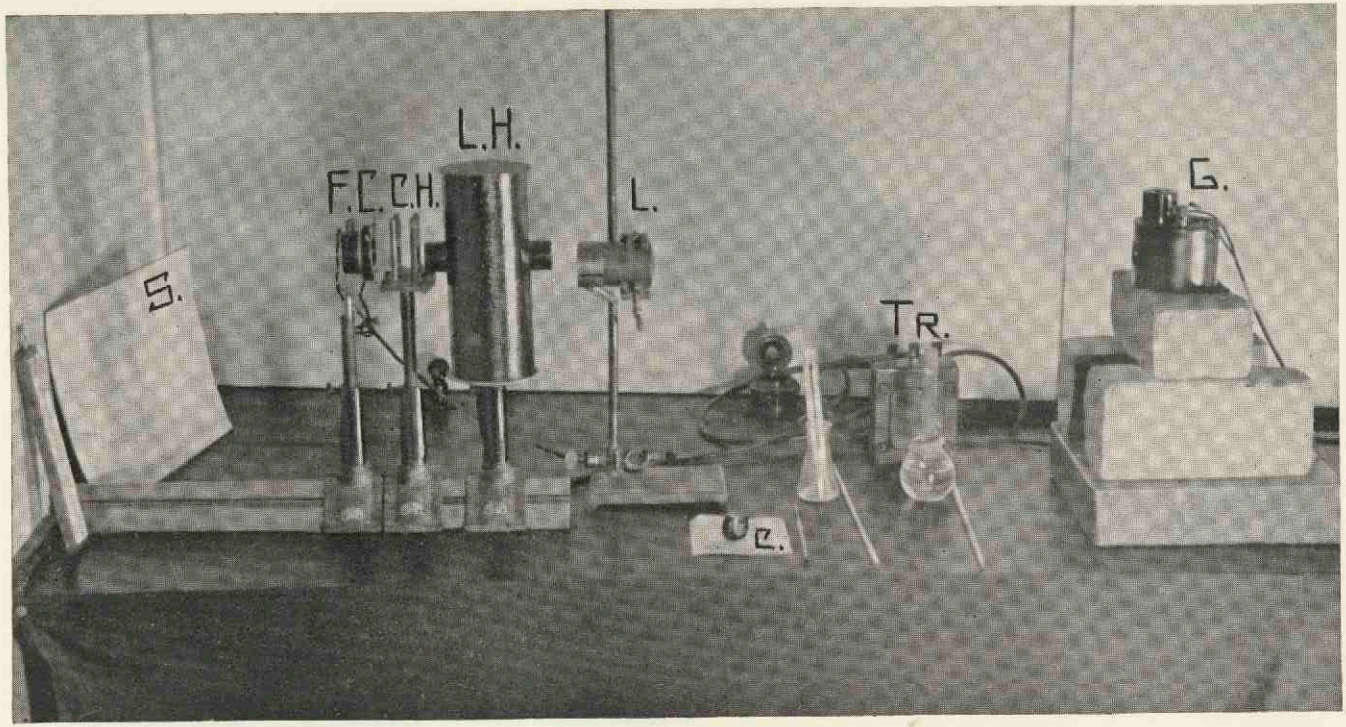
Met een niet te dunne naald, verbonden aan deze spuit, waarin geen lucht meer aanwezig is, wordt nu de V. cubiti gepuncteerd en en laten we het bloed in de spuit stroomen tot 10 cm^3, zoodat een verdunning ontstaat van bloed: oxalaat = 9 : 1. Het bloed moet uit zich zelf toestroomen; door opzuigen bestaat kans, dat lucht wordt meegezogen of de vaatwand onnoodig wordt gelaedeerd. Hierdoor zou tevens een onnoodig celverval plaats hebben, waardoor het thrombokinasegehalte verhoogd en de stolling verkort wordt. Om dezelfde reden mag ook bij de venapunctie geen haematoom ontstaan. Bloed, rijk aan CO_2, zou langzamer stollen (stikkingsbloed). Om deze reden wordt de arm weinig gestuwd.

De inhoud van de spuit wordt in een droog, te voren met kaliumbichromaat en zwavelzuur vetvrij gemaakt centrifugebuisje leeggespoten en dadelijk door omkeeren gemengd. Dit oxalaatbloed wordt gedurende 15 minuten gecentrifugeerd (3000 toeren per minuut). Het oxalaatplasma wordt afgepipetteerd en in een thermostaat op 37° gebracht. Een van te voren gemaakte oplossing van calciumchloride wordt eveneens in den thermostaat op 37° gebracht. Rekening houdend met de hoeveelheid kristalwater van het calciumchloride bleek een oplossing van 625 mg $CaCl_2$ 6 aq. per 100 cm^3 aq. dest. het meest geschikt.

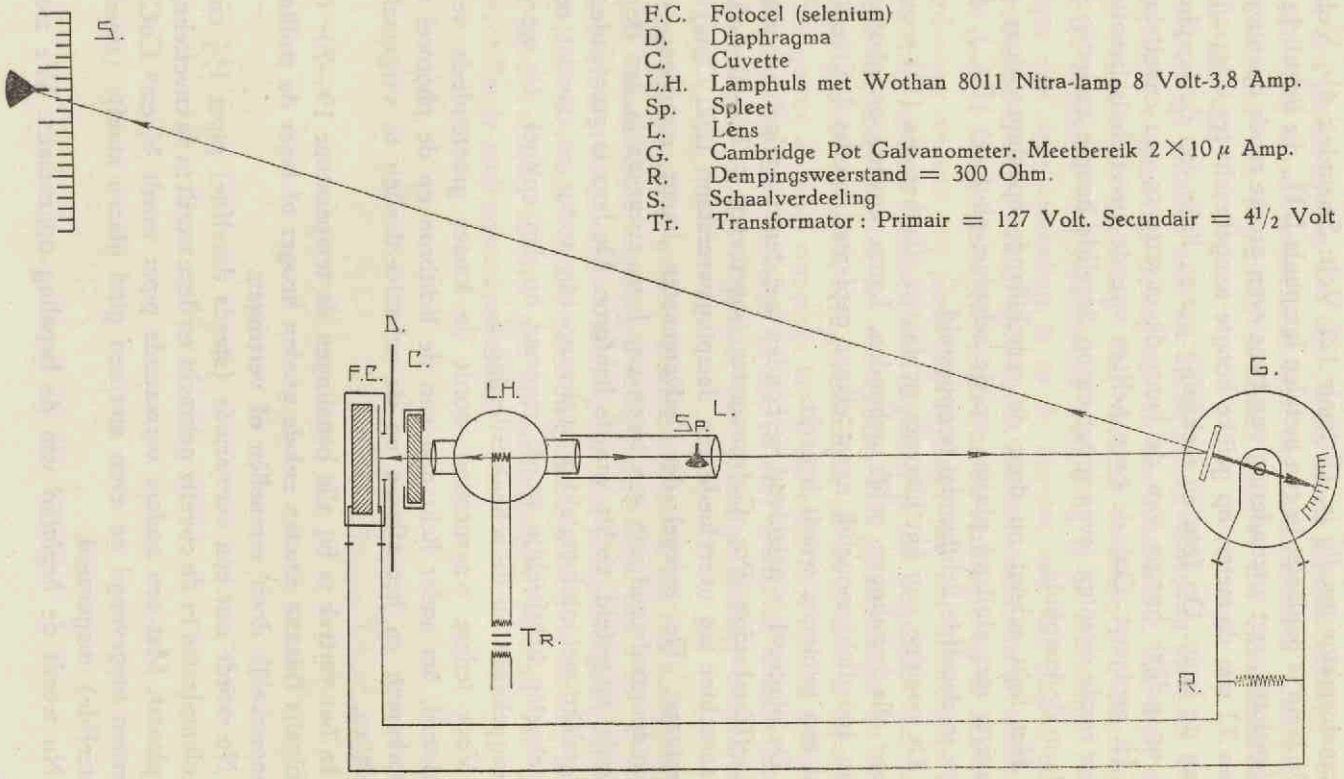
Voor alle bepalingen is dezelfde cuvette gebruikt. Dit bakje met twee parallel loopende glazen wanden, op een afstand van 10 mm van elkaar en een inhoud van 2½ cm^3, wordt, evenals de te gebruiken pipetten, in de broedstoof op een temperatuur van 37° gebracht.

Het apparaat is op de volgende wijze opgesteld.

Een electrische lamp (Wotan 8011 Nitralamp 8 Volt-3,8 Amp.)



Opstelling van de photocel ter bepaling van den bloedstollingstijd.



F.C. Fotocel (selenium)
D. Diaphragma
C. Cuvette
L.H. Lamphuls met Wothan 8011 Nitra-lamp 8 Volt-3,8 Amp.
Sp. Spleet
L. Lens
G. Cambridge Pot Galvanometer. Meetbereik $2 \times 10\,\mu$ Amp.
R. Dempingsweerstand = 300 Ohm.
S. Schaalverdeeling
Tr. Transformator: Primair = 127 Volt. Secundair = $4^1/_2$ Volt

is met het stadsnet (120 Volt) verbonden, in welke verbinding een transformator noodig is. (Primair 127 Volt; Secundair 4½ Volt). De lamp is geplaatst in een metalen lamphuls L.H., die lichtdicht is afgesloten, met uitzondering van twee even groote ronde openingen van 22 mm diameter, op gelijke hoogte aangebracht ter weerszijde van de lamp. Op foto en teekening gezien links van de lamphuls is op gelijke hoogte van de lamp de cuvette in een cuvettehuls C.H. geplaatst. Ook de twee helften van de cuvettehuls bevatten een ronde opening, even groot en op dezelfde hoogte aangebracht als in de lamphuls.

Het licht schijnt nu door de verschillende openingen door de cuvette met stollend plasma op de selenium-photocel (F.C.), die ook in dezelfde lichtbundel is opgesteld.

De opening van het hiervoor geplaatste diaphragma (D) wordt voor alle bepalingen gelijk gehouden. Lamp, cuvette en photocel zijn zoo dicht mogelijk naast elkaar geplaatst, zoodat lichtverlies tot een minimum wordt beperkt.

De photocel is geleidend verbonden met den spiegelgalvanometer G. (Cambridge Pot Galvanometer, meetbereik $= 2 \times 10\ \mu$ A), waarachter ten overvloede een dempingsweerstand (300 Ohm) is geplaatst. De spiegel der galvanometer hangt nagenoeg op brandpuntsafstand van een biconvexe lens, eveneens in den lichtbundel opgesteld, rechts van de lichtbron. De lens is grootendeels afgedekt met ondoorzichtig papier op één sector na, zoodat een driehoekig lichtbeeldje wordt gevormd op den spiegel, dat wordt teruggekaatst op de schaalverdeeling S.

Voor iedere waarneming wordt de kamer grootendeels verduisterd, om ander licht dan van de lichtbron op de photocel te voorkomen en het aflezen op de schaalverdeeling te vergemakkelijken.

In het vertrek is bij alle bepalingen de temperatuur 19—20° C. Volgens BÜRKER zouden enkele graden hooger of lager de stolling aanmerkelijk doen versnellen of vertragen.

Nu wordt met een verwarmde (steeds dezelfde) pipet 1½ cm^3 oxolaatplasma in de cuvette gebracht en deze wordt in de cuvettehuls geplaatst. Met een andere verwarmde pipet wordt ¾ cm^3 $CaCl_2$ hieraan toegevoegd en even met een glad glazen staafje (steeds hetzelfde) omgeroerd.

Nu wordt de *begintijd* van de bepaling opgenomen. We zien

in de cuvette al gauw een sterke troebeling optreden, die zich met een groote uitslag van 60—70 cm op de schaalverdeeling verraadt. Deze wordt veroorzaakt door het calciumoxalaat. Dan blijft de toestand een oogenblik stationair, m.a.w. het calciumoxalaat slaat niet neer.

Na eenige minuten zien we op de schaalverdeeling opnieuw een langzame, regelmatige beweging van het lichtbeeldje, die wijst op een toenemende troebeling. Het verschil tusschen den begintijd en dit oogenblik van toenemende troebeling is de *reactietijd*. Het begin van deze troebeling is in de cuvette met het bloote oog nauwelijks waar te nemen en zeker is zoo het einde van de stolling niet goed te beoordeelen. Het einde van de stolling is op de schaalverdeeling als een vrij plotseling stilstaan van het lichtbeeldje te zien. Het verschil tusschen den begintijd en dit oogenblik van het einde der troebeling is de *stollingstijd*. Het plasma blijkt nu ook geheel gestold en is als een geleiklompje uit de cuvette te nemen.

De groote afstand, waarover het lichtbeeldje zich tijdens reactietijd en stollingstijd beweegt (4 tot 18 cm) maakt de waarneming nauwkeuriger en het oogenblik van volledige stolling duidelijker waar te nemen.

Opmerkelijk is het groote verschil in afstand, die het lichtbeeldje bij de verschillende bepalingen aflegt, en wisselt van 4 tot 18 cm. Dit heeft met react:ietijd en stollingstijd niet te maken, geeft echter blijkbaar zeer verschillende troebelingsintensiteit bij de stolling aan en moet verband houden met het quantitatieve verschil van de verschillende stollingscomponenten.

HOOFDSTUK V.

Uitkomsten van het onderzoek.

Volgens de methoden, in de vorige hoofdstukken beschreven, werden quantitatieve bepalingen uitgevoerd van het totale cholesterine van het serum en van zijn phosphatiden. Verder werd hun onderlinge verhouding Q, d. i. $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ nagegaan. Vervolgens werden bepaald de reactietijd en de stollingstijd van het bloed door recalcificeeren van het oxalaatplasma.

Ter vergelijking zijn de bepalingen van cholesterine en phosphatiden allereerst uitgevoerd in het serum, van reactietijd en stollingstijd in het plasma van een aantal „normalen". Hieronder worden verstaan in het ziekenhuis opgenomen patienten, waarbij volgens de gestelde diagnose geen veranderd cholesterine- en phosphatidengehalte mocht worden verwacht. Tot de „normalen" zijn ook gerekend patienten met ulcus ventriculi en ulcus duodeni. In tegenstelling met OFFENKRANTZ en FERARU [116]) werden hier geen waarden gevonden, duidelijk lager dan normaal. Zooals bij het geheele onderzoek, werden ook hier de venapuncties verricht 's morgens tusschen 8u.45 en 9u.30 en was de patient nuchter gehouden.

Onder „ouderen" worden verstaan mannen en vrouwen boven 65 jaar, die hetzij gezond zijn, hetzij pathologische afwijkingen vertoonen, die niet verantwoordelijk gesteld mogen worden voor een eventueel veranderd lipoïdgehalte van het serum.

Voor normalen en ouderen werden de volgende waarden gevonden:

Normalen en andere zieken	reactie-tijd (min)	stollings-tijd (min)	cholest. ‰	phosphat. mg %	Q
H. 34 j. . . . . ulc. ventric.	—	—	1,45	5,3	27
H. 42 j. . . . . ulc. ventric.	3	5	1,45	4,4	33
W. 31 j. . . . . ulc. ventric.	4	8	1,7	7,2	23
V. 32 j. . . . . ulc. ventric.	3	8	2,0	7,3	27
K. 36 j. . . . . ulc. duodeni	3	10	2,45	—	—
t. G. 51 j. . . . . ulc. duodeni	2	7	1,6	8,6	19
V. 21 j. . . . . ulc. duodeni	2	6′30″	1,8	7,5	24
H. 46 j. . . . . ulc. ventriculi	2′30″	7	1,55	7	22
K. 34 j. . . . . ulc. ventriculi	2′30″	7	1,8	7,6	23
C. 46 j. . . . . ulc. ventriculi	2′30″	7′30″	2,35	8,2	28
R. 44 j. . . . . ulc. ventriculi	3	9′30″	2,45	8,6	28
de W. 26 j. . . . . ulc. duodeni	4	9	1,6	5,3	30
v. d. B. 14 j. . . . . postdiphth. verl.	3	15	2,0	7,6	26
R. 26 j. . . . . lumbago	4′30″	9′40″	1,30	5,6	23
v. L. . . . . oxyuriasis	3′30″	8′30″	1,85	4,5	41
O. 34 j. . . . . angina pectoris	3′30″	9′30″	1,6	2,10	76
K. 24 j. . . . . pleuritis exsud.	2	7	1,55	6,8	23
E. 15 j. . . . . glom. nephritis	5′30″	11′30″	1,35	6,9	19
S. 46 j. . . . . hypertensie	3	8′30″	2,2	9,5	23
v. D. 54 j. . . . . apoplexie	3	8	2,1	7,9	26
Mej. B. 48 j. . . . . arthrit. deform.	2′30″	6	2,5	7,6	32
Mej. M. 32 j. . . . . ess. hypertensie	1′30″	7	1,75	10,9	16
K. 36 j. . . . . hyperthyreoidie	2′30″	15	1,48	7,9	18

Ouderen	reactie-tijd (min)	stollings-tijd (min)	cholest. ‰	phosphat. mg %	Q
Mej. H. 83 j. . . . . diabetes mellit.	—	—	3,15	7	45
Mej. K. 58 j. . . . . diabetes mellit.	—	—	3.4	6,8	50
Mej. K. 61 j. . . . . Menière	—	—	2,75	7	39
v. d. B. 66 j. . . . . diabetes mell., phlebitis	—	—	2,7	6,7	40
S. 64 j. . . . . schedeltrauma	—	—	2,0	10,3	19
v. G. 81 j. . . . . carc. ventriculi	—	—	1,76	6,4	27
N. 74 j. . . . . carc. oesophagi	—	—	3,75	10,8	34
S. 70 j. . . . . ziekte v. Weil	—	—	2,4	6,7	36
v. D. 64 j. . . . . potator, pneumonie	—	—	2,4	7,8	30
v. d. M. 66 j. . . . . diabetes mellit.	—	—	2,9	10,9	26
H. 92 j. . . . . hypertrophia prost.	—	—	2,1	11,3	19
v. P. 89 j. . . . . dementia senilis	—	—	2,4	6,7	36
Mej. N. 82 j. . . . . arteriosclerose	—	—	1,65	8,8	19
Mej. O. 85 j. . . . . gezond	—	—	2,85	7,2	39
K. 72 j. . . . . carc. oesophagi	2	5′30″	1,8	9,3	19
v. d. Z. 82 j. . . . . gezond	1	4	2,0	9,4	20
S. 69 j. . . . . gezond	1′30″	10	2,3	9,4	21
D. 90 j. . . . . gezond	2	6	1,55	10,0	15
v. H. 86 j. . . . . gezond	1′30″	3	2,4	10,2	23
N. 86 j. . . . . gezond	1′30″	6′30″	1,85	7,6	24
Mej. ten H. 76 j. . . . gezond	1	4	1,85	7,9	24
Mej. B. 80 j. . . . . gezond	2	5	2,5	9,7	27
Mej. v. E. 86 j. . . . . gezond	1	5	2,5	10,9	23
Mej. J. 88 j. . . . . gezond	2	3′30″	1,8	7,0	25
Mej. v. B. 87 j. . . . . vitium cordis	1	4	2,0	8,2	22

Ouderen	reactie-tijd (min)	stollings-tijd (min)	cholest. ‰	phosphat. mg %	Q
Mej. T. 81 j. . . . . gezond	2	3′30″	2,05	8,03	22
Mej. S. 74 j. . . . . uraemie	1	6	1,55	7,1	22
B. 81 j. . . . . diabetes mellit.	—	—	1,95	7,0	27
O. 76 j. . . . . gezond	0′30″	4	1,8	7,9	23
v. d. B. 79 j. . . . . gezond	1′30″	4′30″	1,6	8,3	19
V. 61 j. . . . . gezond	1	5′30″	2,45	8,2	29
P. 66 j. . . . . gezond	2′30″	6′30″	1,7	7,9	21
v. S. 77 j. . . . . gezond	1′30″	3′30″	2,45	10,2	23
v. d. S. 77 j. . . . . gezond	2	5	2,0	8,7	23
Mej. v. R. 68 j. . . . . gezond	1	4′30″	2,6	9,0	28
v. M. 77 j. . . . . gezond	1′30″	4	1,65	7,6	21
J. 76 j. . . . . gezond	2	5	1,75	7,0	25
v. O. 78 j. . . . . gezond	1	4	1,48	7,0	21
J. P. 79 j. . . . . gezond	2′30″	5′30″	1,85	8,5	22
B. 68 j. . . . . diabetes mellit.	3	5′30″	1,9	7,3	26
S. 67 j. . . . . diabetes mellit.	1′30″	3′30″	1,85	5,5	33
B. 83 j. . . . . apoplexie	1′30″	5′30″	1,4	6,4	22
Mej. v. D. 64 j. . . . . ulc. duodeni	1	7	2,2	10,1	21
Mej. B. 76 j. . . . . diabetes mellit.	2	5	1,6	8,7	19
Mej. v. L. 74 j. . . . . carc. ventriculi	1	4	2,5	10,1	24

Gezien de tamelijk uiteenloopende waarden bij een betrekkelijk beperkt aantal waarnemingen, leek het mij niet juist de uitkomsten van ouderen en normalen te vergelijken door hun rekenkundig gemiddelden te bepalen en deze te vergelijken.

Daarom werden de bepalingen van cholesterine, phosphatiden en hun quotient ingedeeld naar leeftijdsgroepen van een ongeveer gelijk aantal personen en werd van iedere groep de rekenkundig

gemiddelde van leeftijd, cholesterinegehalte, phosphatidengehalte en hun quotient bepaald. We vonden dan:

leeftijds-groep	aantal personen	gemidd. leeftijd	cholesterine ‰	phosphatiden mg %	Q
14—34 j.	13	26½ j.	1,67	6,5	29
36—61 j.	14	49 j.	2,21	7,6	29
64—72 j.	13	67 j.	2,23	8,45	26½
74—80 j.	14	76½ j.	2,02	8,55	23½
81—92 j.	15	85 j.	2,06	8,1	25½

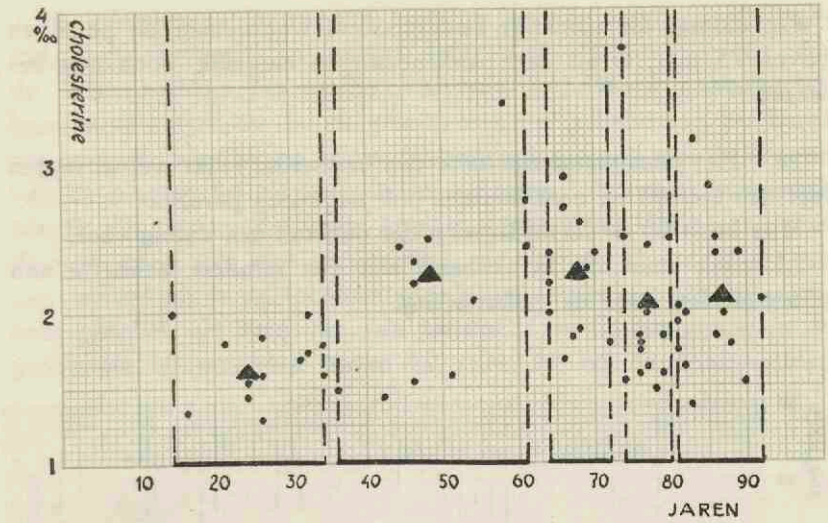
leeftijds-groep	aantal personen	gemidd. leeftijd	reactietijd (min)	stollingstijd (min)
14—32 j.	10	25 j.	3,3	9,0
34—48 j.	10	41 j.	2,8	8,5
51—72 j.	10	64 j.	1,85	6,3
74—78 j.	10	76 j.	1,25	4,4
79—90 j.	11	84 j.	1,7	5,0

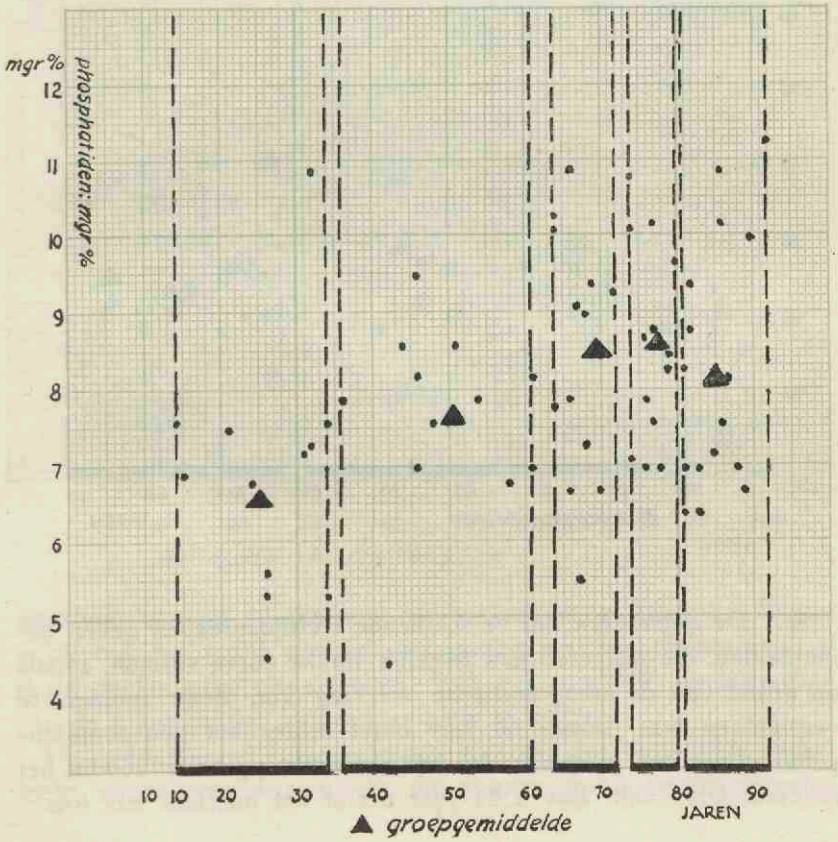
We stellen dit graphisch voor, door op de horizontale as de leeftijd in jaren aan te geven en de leeftijdsgroepen door den geheelen graphiek met stippellijnen aan te duiden. Op de verticale as worden resp. het cholesterine in ‰, het phosphatidengehalte in mg %, het quotient, de reactietijd en de stollingstijd in minuten aangegeven.

Iedere waarneming wordt aangegeven met ⊛, iedere groepgemiddelde met ▲, waarbij de basis van het driehoekje de waarde aangeeft.

Uit de getallenreeksen en de grafieken blijkt nu:

1e. het *cholesterinegehalte* van het serum is in de groep van 14—34 jaar aanzienlijk lager dan in de andere leeftijdsgroepen. In deze andere groepen treedt wel een verhooging van het cholesterinegehalte op, doch dit gaat niet parallel met den leeftijd, zooals Bürger en Möbius en ook Parhon aangeven.


4
‰
cholesterine
3
2
1
10
20
30
40
50
60
70
80
90
JAREN

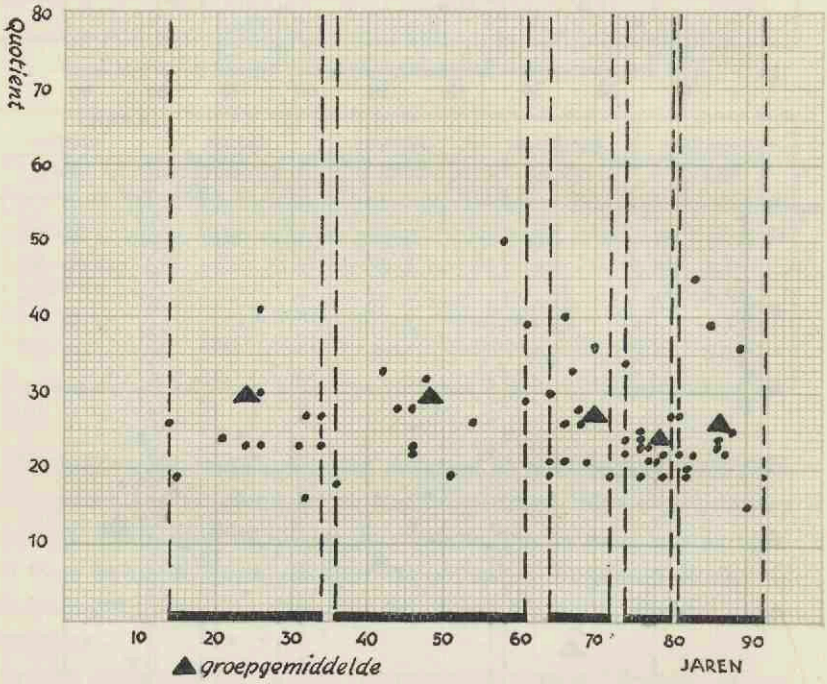

mgr %
phosphatiden: mgr %
12
11
10
9
8
7
6
5
4
10
10
20
30
40
50
60
70
80
90
JAREN
▲ groepgemiddelde

De daling, die sommige onderzoekers waarnemen bij personen boven 75 jaar, is uit deze waarnemingen mogelijk, doch niet bewezen.

2e. Het *phosphatidengehalte* van het serum blijkt wel te stijgen met den leeftijd en gaat hiermee ook nagenoeg parallel.

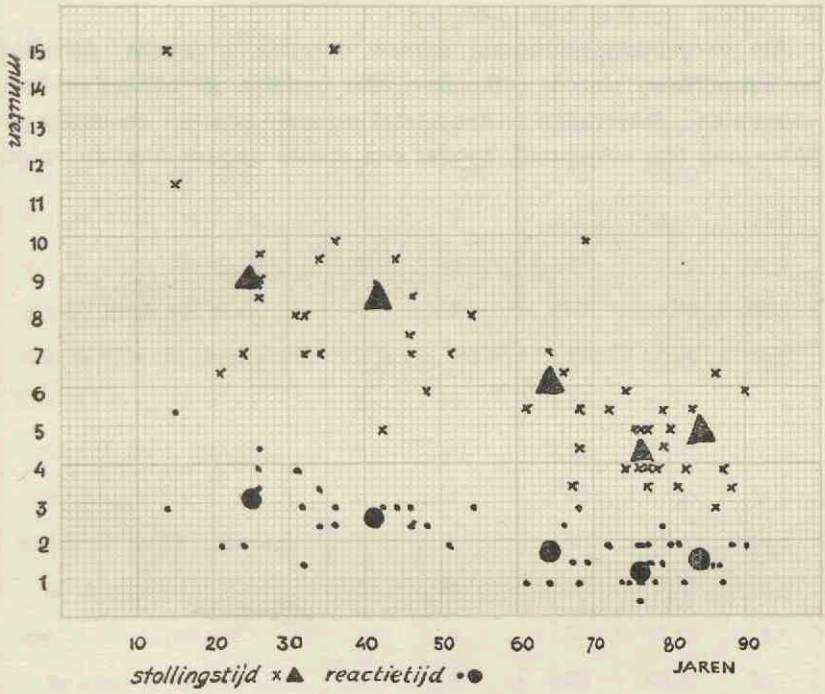
Hier komt bij de leeftijdsgroep der oudsten een daling voor.

Mogelijk staat dit in verband met een mindere behoefte aan phosphatiden voor de verbranding.



3e. De *quotienten* der verschillende leeftijdsgroepen geven gemiddelden, die uiteraard een tamelijk vlakke curve vormen, zooals op grond van de antagonistische werking van deze lipoïden te verwachten was. Boven 60 jaar blijkt echter het phosphatidengehalte meer toe te nemen dan het cholesterinegehalte, zoodat het quotient iets daalt. Boven 81 jaar neemt het quotient iets toe.

4e. Een duidelijk verband blijkt te bestaan tusschen *stollingstijd*, resp. *reactietijd* en *leeftijd*. FESTEN[115]) is van meening, dat de „phosphatiden den stollingstijd van het bloed aanmerkelijk kunnen verkorten en dat de grootte van het gehalte van het bloed aan phosphatides tot op zekere hoogte evenredig is met de grootte van de neiging tot stollen". Naar aanleiding van mijn onderzoek zou ik dit niet zonder meer kunnen bevestigen. Weliswaar gaat de verkorting van den stollingstijd parallel met de toename van den leeftijd en is de toename van het phosphatidengehalte eveneens parallel met dien van den leeftijd. Ook de teruggang in de progressie bij personen boven 80 jaar, die bij de phosphatiden



merkbaar is, gaat parallel met een verlengden stollingstijd. Echter is dit ook het geval met den antagonist, met het cholesterine, al is dit veel minder uitgesproken. Van een mogelijk overheerschen van de phosphatiden valt echter niets te zeggen.

De *zwangeren* en *kraamvrouwen*, waarvan het bloed werd onderzocht, waren gezonde vrouwen, die wegens sociale omstandigheden

of te verwachten moeilijkheden bij den partus in de obstetrische kliniek waren opgenomen. Vrouwen met temperatuursverhooging, anaemische patienten en zij, die een albuminurie in de graviditeit vertoonden, werden niet in het onderzoek betrokken.

De bepalingen bij de gravidae geschiedde kort voor den partus; bij de kraamvrouwen tusschen den achtsten en twaalfden dag post partum. Niet bij alle vrouwen was gelegenheid tot bloedonderzoek aan het einde der zwangerschap; daarom komt een aantal bepalingen uitsluitend tijdens het puerperium voor.

De leeftijd varieerde tusschen 16 en 45 jaar, de normalen ter vergelijking behoorden tot een overeenkomstige leeftijdsgroep.

Ook hier werd 's morgens vroeg venapunctie verricht, terwijl de patient nuchter was gebleven.

Als vergelijkingsmateriaal dienen dezelfde gegevens, gebruikt ter vergelijking met de uitkomsten der ouderen en aangeduid met „normalen". Bovendien is het aantal normale reactie- en stollingstijden nog iets uitgebreid, zoodat een aparte opgave hiervan volgt.

	reactie-tijd (min)	stollings-tijd (min)	cholest. ‰	phosphat. mg %	Q
Mej. W. 39 j., 10e d.p.p. . .	2	15	1,85	10,50	17,6
Mej. K. 27 j., 10e d.p.p. . .	2	9′30″	1,80	9,00	20,0
Mej. G. 26 j., 10e d.p.p. . .	2′30″	9	1,85	8,50	21,7
Mej. v. E. 40 j., 12e d.p.p. .	3	8′30″	2,75	11,10	24,9
Mej. v. D. 22 j., 10e d.p.p. .	5	10	2,40	11,6	20,7
Mej. de L. 24 j., 11e d.p.p. .	—	—	2,25	9,5	23,6
Mej. N. 32 j., 11e d.p.p. . .	—	—	2,40	10,10	23,7
Mej. K. 31 j., 10e d.p.p. . .	5	15	2,90	12,55	23,2
Mej. v. I. 18 j., 10e d.p.p. .	2′30″	10	2,60	11,20	23,2
Mej. R. 29 j., 10e d.p.p. . .	5	14	2,10	10,60	19,9
Mej. M. 36 j., 8e d.p.p. . .	2	7	2,75	10,80	25,4
Mej. H. 39 j., 11e d.p.p. . .	2	7	2,46	12,00	20,5
Mej. R. 21 j., 11e d.p.p. . .	4	13	2,25	9,60	22,3
Mej. K. 31 j., 10e d.p.p. . .	3	8	2,60	10,90	23,8
Mej. S. 45 j., 8e d.p.p. . .	2′30″	9′30″	3,15	10,40	30,2
Mej. K. 40 j., 12e d.p.p. . .	3	10	2,25	10,50	21,4
Mej. v. Z. 32 j., gravida . .	4	11	2,20	9,00	23,3
8e d.p.p.	6	20	2,90	11,20	25,9
Mej. v. d. H. 23 j., gravida .	3	9	1,50	10,40	14,4
8e d.p.p.	9	20	2,25	10,20	22,0
Mej. H. 29 j., gravida . . .	3	9	1,65	11,70	14,1
8e d.p.p.	2	9	2,28	10,80	21,1
Mej. v. T. 16 j., gravida . .	5	9	2,45	11,00	22,2
8e d.p.p.	2	14	2,30	8,80	20,6
Mej. K. 23 j., gravida . . .	—	—	2,90	13,10	26,9
8e d.p.p.	2	6	2,15	10,85	19,9

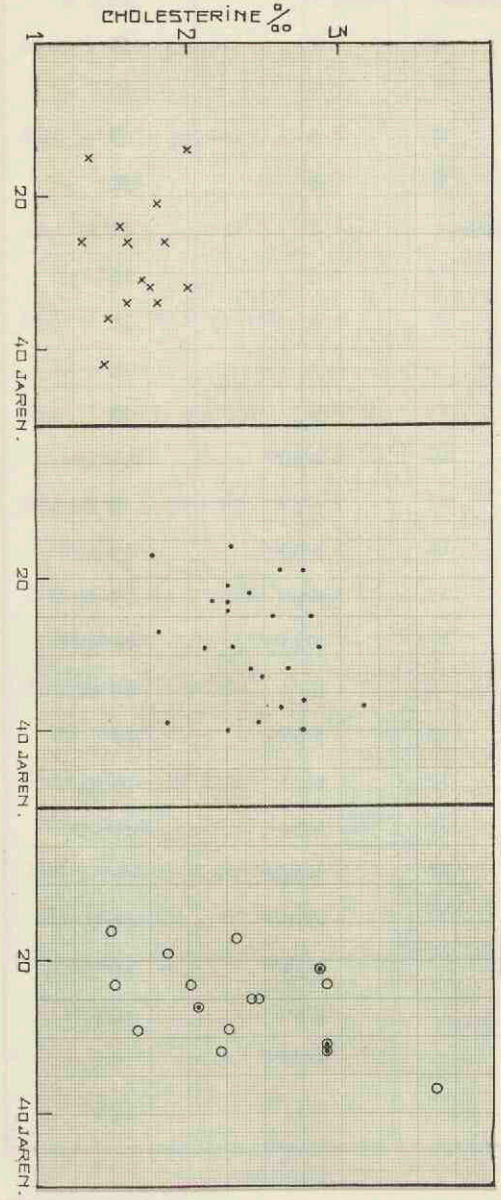
	reactie-tijd (min)	stollings-tijd (min)	cholest. ‰	phosphat. mg %	Q
Mej. v. d. H. 25 j., gravida	2′30″	6	2,40	11,60	20,7
8e d.p.p.	2′30″	8	2,55	10,50	23,8
Mej. G. 37 j., gravida . .	2	11	3,65	12,60	28,9
8e d.p.p.	3	8	3,15	12,20	25,8
Mej. S. 33 j., gravida . .	5	18	2,00	10,90	18,3
10e d.p.p.	2	9	2,48	10,20	24,3
Mej. V. 25 j., gravida . .	—	—	2,45	10,10	24,2
8e d.p.p.	4	12	1,80	7,90	22,7
Mej. de C. 29 j., gravida	4	15	2,25	10,30	21,8
10e d.p.p.	2	11	1,85	8,00	23,1
Mej. H. 19 j., gravida .	4′30″	19	1,85	10,30	17,9
11e d.p.p.	2	10	1,75	8,40	20,8
Mej. S. 32 j., gravida . .	4	14	2,90	11,50	25,2
9e d.p.p.	7	20	1,65	10,90	15,1
Mej. H. 21 j., gravida .	3	12	2,85	11,10	25,6
9e d.p.p.	3	9	2,85	10,10	28,2
Mej. K. 31 j., gravida . .	3	20	2,90	12,40	23,3
10e d.p.p.	3	15	2,90	12,55	23,2
Mej.P. 17 j., gravida . .	4	14	2,30	10,50	21,9
10e d.p.p.	2′30″	8	1,75	8,20	21,3
Mej. v. d. H. 26 j., gravida	3	13	2,05	10,00	20,5
10e d.p.p.	3	8	2,05	9,40	21,8

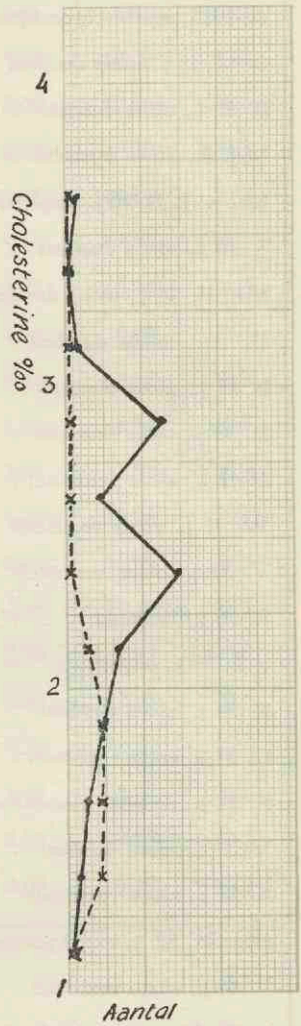
Reactietijd en stollingstijd bij normalen.

	reactietijd (min)	stollingstijd (min)
Mej. v. E. 21 j., congen. vit. cordis . .	7	15
de J. 25 j., lichte bronchitis	7	15
de M. 25 j., ulcus duodeni	5	15
B. 33 j., ulcus duodeni	3	13
Mej. R., 26 j., hysterie	8	20
Mej. v. d. B. 26 j., vage buikklachten .	8	19′30″
S. 30 j., ulcus duodeni	4	15
Mej. H. 26 j., ulcus duodeni	6	16
H. , ulcus duodeni	4	16
S. 19 j., ulcus duodeni	5	15
H. 35 j., ulcus duodeni	4′30″	11′30″
N 42 j., ulcus ventriculi	5′6″	8′30″
W. 31 j., ulcus ventriculi	6′50″	13′40″
V. 32 j., ulcus ventriculi	5′6″	13′40″
R. 26 j., lumbago	7′40″	16′10″
v. L. 26 j., oxyuriasis	6	14′30″
K. 36 j., ulcus duodeni	5′6″	17
O. 34 j., angina pectoris	6	16′10″
K. 24 j., pleuritis exsudativa	3′24″	11′55″
V. 21 j., ulcus duodeni	3′24″	11
K. 34 j., ulcus ventriculi	4′15″	11′55″
Mej. M. 32 j., ess. hypertensie . . .	2′33″	11′55″
R. 44 j., ulcus ventriculi	5′6″	16′10″
d. W. 26 j., ulcus duodeni	6′50″	15′20″
K. 36 j., hyperthyreidie	4′15″	25′5″

Ook hier zijn de bepalingen grafisch voorgesteld met de volgende teekens:

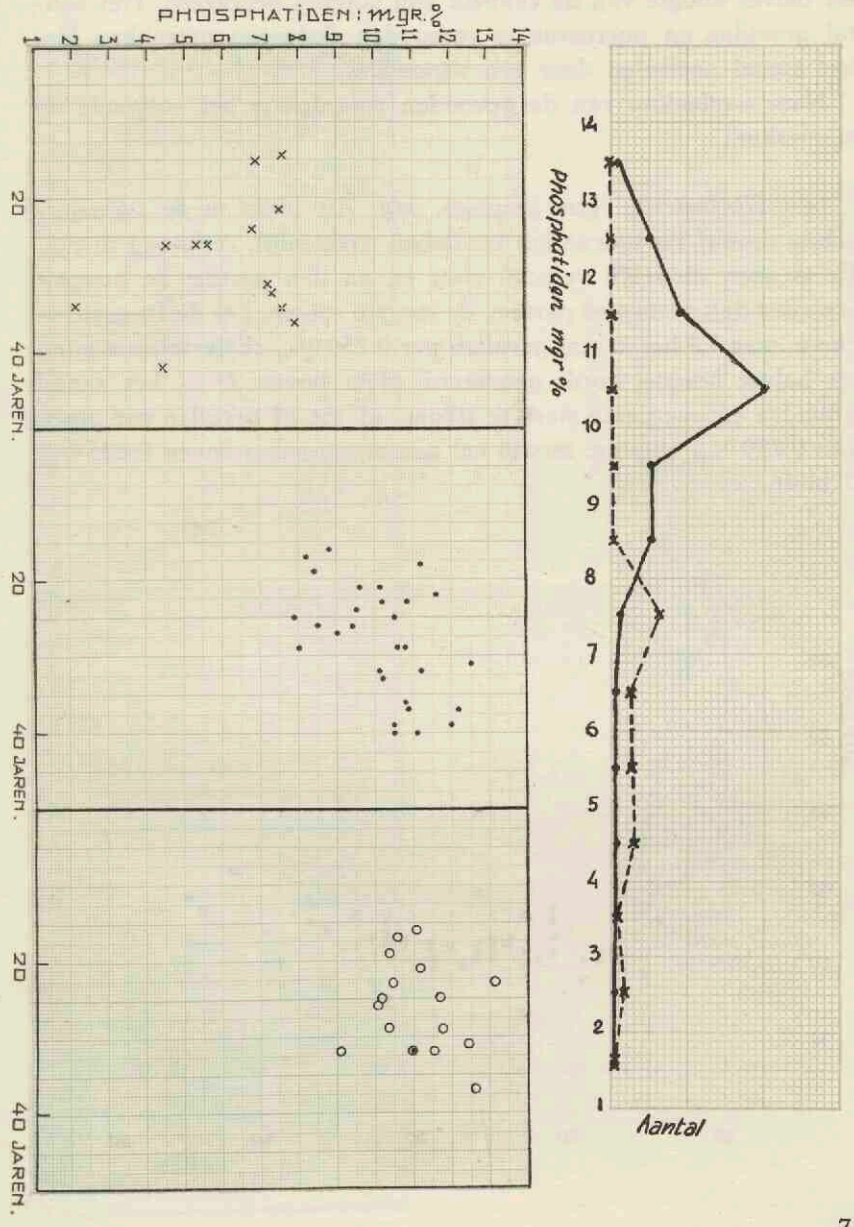
× bij normalen
. post partum (afgekort p.p.)
o bij zwangeren.





Bovendien is een frequentiecurve gemaakt van de waarden bij kraamvrouwen en normalen.

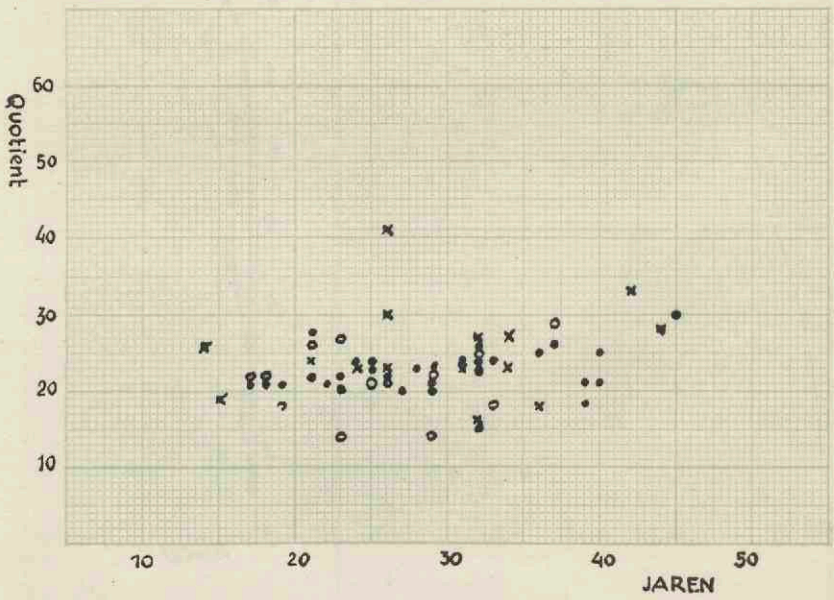
Hierbij wordt op de verticale as resp. cholesterine, phosphatiden, reactietijd en stollingstijd aangegeven. Bij een willekeurig aan-



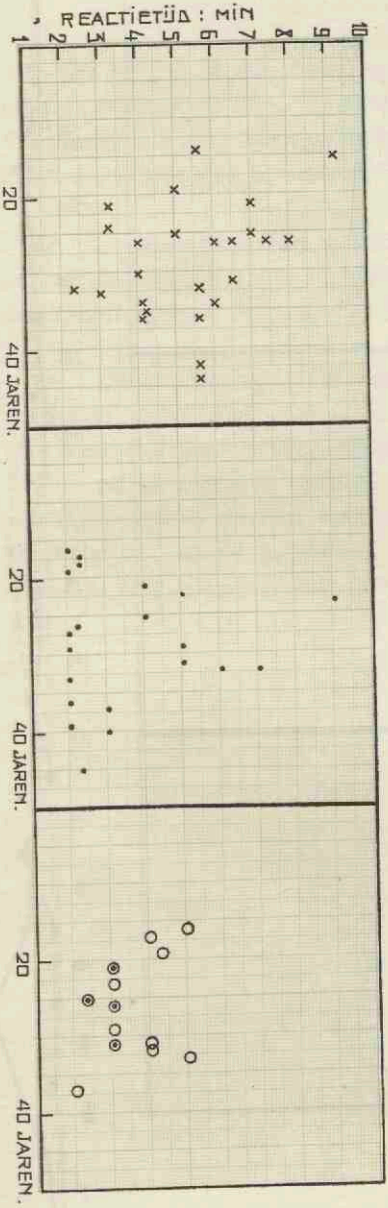
genomen eenheid van stijging, b.v. 0,250 ‰ cholesterine, 1 mg ‰ phosphatide, 1 minuut reactietijd en 1 minuut stollingstijd wordt telkens het aantal gevallen geteld bij gravidae en puerperae tesamen en bij de vergelijkingspersonen en de gevonden aantallen ter halver hoogte van de eenheid van stijging genoteerd. Het aantal gravidae en puerperae is verbonden door een getrokken lijn, het aantal normalen door een stippellijn.

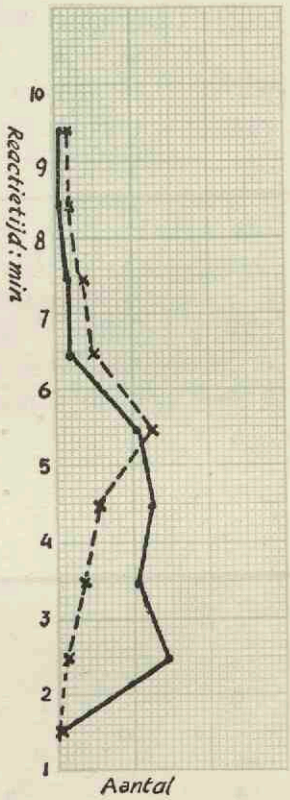
Naar aanleiding van de gevonden waarden is het volgende op te merken:

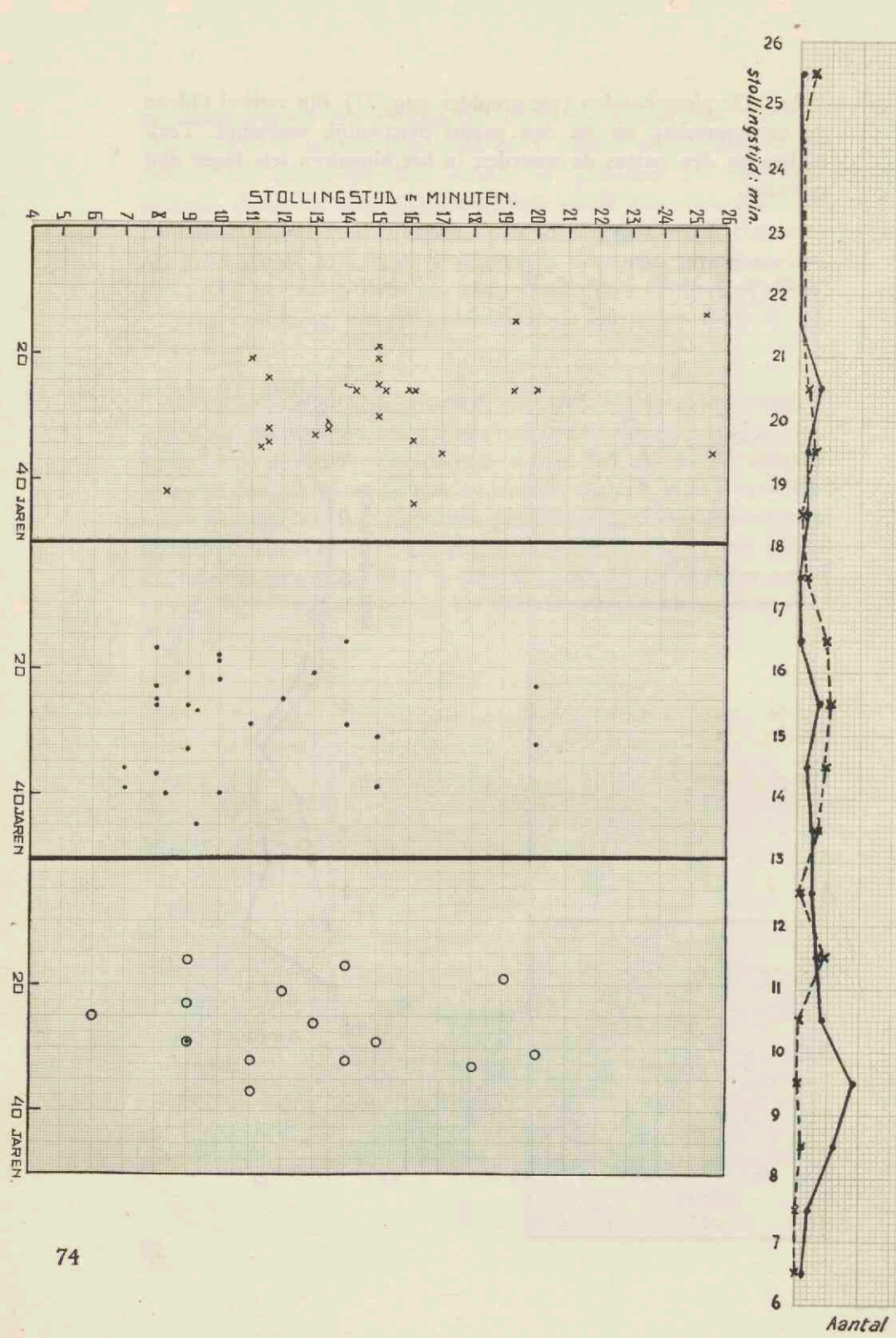
1e. *Cholesterine* (zie graphiek pag. 70) blijkt in de zwangerschap zoowel als tijdens het kraambed aanzienlijk verhoogd te zijn. Er is geen duidelijk verschil voor en na den partus: de hoogste waarden dalen iets post partem, de laagste stijgen. Op de frequentiecurve, waarbij het aantal gevallen per 0,250 ‰ cholesterinestijging ter halver hoogte wordt genoteerd, blijkt boven 2 ‰ het aantal gravidae en puerperae sterk te stijgen, nl. tot 14 gevallen per groep van 0,250 ‰ stijging, terwijl het aantal normalen boven 0,225 ‰ 0 blijft.



2e. De *phosphatiden* (zie graphiek pag. 71) zijn zoowel tijdens de zwangerschap als na den partus aanzienlijk verhoogd. Toch blijken na den partus de waarden in het algemeen iets lager dan te voren.






STOLLINGSTIJD IN MINUTEN.
4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
20
40 JAREN
20
40 JAREN
20
40 JAREN
stollingstijd: min.
26 25 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6
Aantal

De frequentiecurven blijken elkaar tusschen 7 en 9 mg % te kruisen, tot tusschen 10 en 11 mg % een maximum van 20 gravidae en puerperae valt af te lezen tegen 0 normalen. Daarboven daalt de zwangerencurve gelijkmatig.

3e. Het *quotient* $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ (zie graphiek pag. 72) blijkt ook aan het einde der zwangerschap en korten tijd na den partus vrijwel constant te zijn. Verreweg het overgroote gedeelte (39 van 45 waarnemingen) varieert tusschen 20 en 30 en blijkt zelfs meer constant te zijn dan bij de contrôlepersonen van denzelfden leeftijd.

4e. De *reactietijd* (zie graphiek pag. 73) vertoont een duidelijke verkorting tijdens graviditeit en puerperium. Er is bij het nagaan der tabellen geen duidelijk verschil voor en na den partus.

5e. De *stollingstijd* (zie graphiek pag. 74) geeft eveneens een duidelijke verkorting vóór en na de bevalling; de verkorte stollingstijd is na den partus nog iets meer uitgesproken dan ervoor.

Ook uit de frequentiecurven van reactietijd en stollingstijd blijkt een maximum in de zeer korte stollingstijden te worden bereikt, in tegenstelling tot de normalen, waar deze liggen tusschen 5 en 6 minuten, resp. 13 en 17 minuten.

HOOFDSTUK VI.

Samenvatting en conclusies.

Een onderzoek werd ingesteld naar de hoeveelheden totaal cholesterine en phosphatiden in het serum en hun onderlinge verhouding bij normale personen met speciale inachtneming van den ouderdom.

Tevens werden de reactietijd en stollingstijd van het bloed nagegaan door recalcificeeren van oxalaatplasma.

Er blijkt te bestaan:

1e. een verhoogd cholesterinegehalte van het serum op ouderen leeftijd;

2e. een sterker uitgesproken toename van de phosphatiden op ouderen leeftijd;

3e. een vrijwel constante verhouding $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ voor alle leeftijdsgroepen, met een lichte daling tusschen 70 en 80 jaar;

4e. een wisselend cholesterolytisch vermogen van het bloedserum; op ouderen leeftijd blijkt dit eerder positief dan negatief te zijn;

5e. een duidelijke verkorting van reactietijd en stollingstijd met het toenemen der jaren.

Onderzocht werden het gehalte aan cholesterine en phosphatiden in het serum aan het einde van de zwangerschap en tusschen 8en en 12en dag post partum. Er blijkt te bestaan:

1e. een verhoogd cholesterinegehalte van het serum aan het einde van de zwangerschap en tijdens het kraambed;

2e. een verhoogd phosphatidengehalte van het serum aan het einde van de graviditeit en tijdens het puerperium;

3e. een vrijwel constante verhouding $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatiden}}$ in de laatste zwangerschapsweken en korten tijd na den partus;

4e. een duidelijke verkorting van reactietijd en stollingstijd voor en na de bevalling.

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen.

Die Gesamtmenge des Cholesterins, der Phosphatide und deren gegenseitiges Verhältnis wurde im Serum von Patienten, mit besonderer Berücksichtigung ihres Alters, bestimmt.

Zudem wurde die Reaktions- und Koagulationszeit des Blutes geprüft, indem man das Oxalatplasma recalcifizierte.

Es zeigte sich:

1. ein erhöhter Cholesteringehalt des Serums bei zunehmendem Alter;
2. eine Zunahme der Phosphatide in verstärktem Masse bei zunehmendem Alter;
3. ein nahezu konstantes Verhältnis des Cholesterins und der Phosphatide für alle Altersgruppen, mit geringer Senkung zwischen 70 und 80 Jahren;
4. wechselnde cholesterolytische Leistung des Blutserums; dieses zeigt sich in höherem Alter eher positiv als negativ;
5. eine merkbare Verkürzung der Reaktions- und Koagulationszeit bei zunehmendem Alter.

Ebenfalls wurde der Gehalt des Cholesterins und der Phosphatide des Serums am Ende der Schwangerschaft und zwischen dem achten und zwölften Tage post Partum geprüft. Es zeigte sich:

1. ein erhöhter Cholesteringehalt des Serums am Ende der Schwangerschaft und während des Wochenbettes;
2. ein erhöhter Phosphatidengehalt des Serums am Ende der Schwangerschaft und während des Puerperiums;
3. ein nahezu konstantes Verhältnis des Cholesterins und der Phosphatide während der letzten Wochen der Schwangerschaft und kurze Zeit nach der Niederkunft;
4. eine merkbare Verkürzung der Reaktions- und Koagulationszeit vor und nach der Niederkunft.

Recapitulation and Conclusions.

Inquiries were made into the quantities of the sums total of cholesterine and phosphatides in the serum and their mutual proportion with normal persons, specially taking into consideration the ages.

Besides, the reaction time and coagulation time of the blood were controlled by recalcifying the oxalate plasma.

There appear to exist:

1°. an enhanced grade of cholesterine of the serum at a higher age;

2°. a clearer increase of the phosphatides at a higher age;

3°. a rather constant proportion $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatides}}$ for all age groups, with a slight decrease between 70 and 80 years;

4°. a fluctuating cholesterolytic capacity of the bloodserum; at a higher age this appears to be positive rather than negative;

5°. an apparent decrease of reaction time and coagulation time with the increase of years.

Inquiries were made into the grade of cholesterine and phosphatides at the end of pregnancy and between the 8th and 12th days post partom. There appear to exist:

1°. an enhanced grade of cholesterine of the serum at the end of pregnancy and during childbed;

2°. an enhanced grade of phosphatides of the serum at the end of gravidity and during the puerperium;

3°. a rather constant proportion $\frac{\text{cholesterine}}{\text{phosphatides}}$ in the last few pregnancy-weeks and for a short time after the partus;

4°. an apparent decrease of reaction time and coagulation time before and after the confinement.

Récapitulation et conclusions.

On a fait des recherches pour fixer les quantités totales du cholestérol et des phosphatides dans le sérum et leur relation mutuelle chez des personnes normales en tenant un compte spécial de l'âge.

On a contrôlé en même temps le temps de réaction et de coagulation du sang en récalcifiant le plasme d'oxalate.

Il paraît exister:

1°. une teneur augmentée du cholestérol dans le sérum à l'âge avancé;

2°. une augmentation plus prononcée des phosphatides à l'âge avancé;

3°. une relation à peu près constante $\frac{\text{cholestérol}}{\text{phosphatides}}$ pour tous les groupes d'âge, avec une diminution légère entre 70 et 80 ans;

4°. un pouvoir cholestérolytique fluctuant du sérum, qui se montre plutôt positif, que négatif à l'âge plus avancé;

5°. un raccourcissement évident du temps de réaction et de coagulation à mesure de l'avancement en âge.

On a examiné la teneur du cholestérol et des phosphatides dans le sérum à la fin de la grossesse et entre le 8ième et le 12ième jour post partum.

Il paraît exister:

1°. une teneur augmentée du cholestérol dans le sérum à la fin de la grossesse et pendant l'accouchement;

2°. une teneur augmentée des phosphatides dans le sérum à la fin de la gravidité et pendant le puerperium;

3°. une relation à peu près constante $\frac{\text{cholestérol}}{\text{phosphatides}}$ pendant les dernières semaines de la grossesse et peu de temps post partum;

4°. un raccourcissement prononcé du temps de réaction et de coagulation avant et après l'accouchement.

LITERATUUR.

[1]) DEELMAN, Leerboek der Pathol. Anatomie, 1940.

[2]) VERZÀR en LASZT, Bioch. Zeitschrift 270, 24, 1934.

[3]) SCHRAMM en WOLFF, Hoppe Seyler's Zeitschrift f. Physiol. Chemie, 263, 1940.

[4]) HAMMARSTEN, Lehrbuch der Phys. Chemie, 1914.

[5]) THIERFELDER en KLENK, Die Chemie der Cerebrosiden und Phosphatiden (19e Band der Monographieën aus dem Gesamtgebiete der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, 1930).

[6]) MC. LEAN, Zeitschrift für Physiol. Chemie 59, 223, 1919.

[7]) KNAUER, Ergebnisse der Lipoidstoffwechselforschung. Abhandlungen aus der Kinderheilkunde und ihren Grenzgebieten. Heft 22, 1928.

[8]) BLOOR, Journal of Biol. Chemistry XLIX, 227, 1921.

[9]) HUECK en WALTER, Biochem. Zeitschrift. C. 84, 1919.

[10]) KNUDSON, Journal of Biol. Chemistry, 32, 344.
" " " " 45, 525.

[11]) LEITES, Bioch. Zeitschrift, 184, 273, 1927.

[12]) LEITES, Bioch. Zeitschrift, 210, 85, 1929.

[13]) FINGERLING, Bioch. Zeitschrift, 38, 448, 1912.

[14]) STEPP, Medizin. Klinik, Bd. 16, pag. 57.

[15]) ROSENFELD, Biochem. Zeitschrift, Bd. 218, 48.

[16]) ERLANDSEN, Hoppe Seyler's Zeitschr. f. Phys. Chemie, Bd. 51.

[17]) GARDNER en GAINSBOROUGH, Biochem. Journal, Bd. 19, 667, 1924.
" " Bd. 21, 130, 141, 1925.

[18]) BRINKMAN en v. DAM, Biochem. Zeitschrift, 108, 51, 1920.

[19]) EICHHOLZ, Biochem. Zeitschrift, 128, 310, 1922.

[20]) GYÖRGI, Klin. Wochenschrift, 483, 1924.

[21]) GROSZMANN, Zeitschrift für exp. Med. 42, 498, 1924.

[22]) KYES, Klin. Wochenschrift, 886, 918, 1902.
" " 21, 57, 82, 956 en 982, 1903.

[23]) RANSOM, Deutsche Med. Wochenschrift, 194, 1901.

[24]) BRINKMAN en WHASTLE, Biochem. Zeitschrift, 124, 25, 1921.

[25]) BRINKMAN en v. DAM, Biochem. Zeitschrift 108, 61, 1920.

[26]) PRIBRAM, D. Med. Wochenschrift, 1914.

[27]) NEILSON en WHEELON, Journal of laborat. and clin. med. 6, 454 en 586, 1921 (cit. KNAUER, Ergebnisse der Lipoïdstoffwechselforschung).

[28]) KOCH, Zeitschrift für Physiologische Chemie 37, 181, 1902/1903.

[29]) STUBER, Biochem. Zeitschrift 51, 211.
" " 53, 493.

[30]) KÜRTEN, Pflüger's Archiv, Bd. 185, 248, 1920.

31) MAYER en SCHAEFFER, Acad. des Scienses, t. CLVI, 487, 1913.
32) TERROINE, Journal de physiologie et pathologie générale, t. XVI, 408.
33) LAWROW, Biochem. Zeitschrift 150, 177, 1924.
34) LEO, D. Med. Wochenschrift 1045, 1920.
35) BACHEM, Biochem. Zeitschrift 126, 117, 1921.
36) ZIGANOW, Ber. Phys. 57, 471. (Ref.)
37) LOEWE en MOLJAKOW-MYSSOTSKI, Biochem. Zeitschrift 206, 194, 1929.
38) MAGISTRIS, Ergebn. der Physiol. 31, 259, 1931.
39) GYÖRGI, Jahrbuch für Kinderheilkunde 112, 283, 1926.
40) DE LANGEN, Acta Med. Scandin. vol. XCVII, 1938.
41) KEPINOW, Biochem. Zeitschrift 30, 160, 1911.
42) BASTAI en DOGLIOTTI, Physiopathologie de la Vielillesse et introduction à l'étude des maladies des vieillards. Paris 1938.
43) HERMANN en NEUMANN, Biochem. Zeitschrift 28, 47, 1912.
Wiener Klin. Wochenschrift 24, 411, 1911.
" " " 25, 1556, 1922.
44) LINDEMANN, Zeitschrift für Geburtshilfe und Gynaecologie, Bd. LXXXIV, 819, 1913.
45) HERMANN en NEUMANN, Wiener Klin. Wochenschrift, 23 Mrt. 1911.
46) SCHMITZ en KÜHNEN, Biochem. Zeitschrift 259, 301, 1933.
47) DECIO, Ann. di Obstet. 1913, no. 3, 281—314. Ref. Zentralblatt für Biochemie und Biophysik 1916/1917, pag. 26.
48) BOYD, Journal of clin. Investigation 13, 347, 1934.
49) VIGNES, Ces. Rend. Soc. Biol. de Paris 87, no. 25, 417, 1923.
50) TYLER en UNDERHILL, Journal of Biol. Chem. 66, 1, 1925.
50a) POLANO, Acad. Proefschrift. Leiden, 1934.
51) SCHREINER en BILGER, Dermat. Wochenschrift 94, 505.
52) BURKENS, Acad. Proefschrift, Amsterdam 1934.
53) KNAUER, Ergebnisse der Lipoïdstoffwechselforschung 1928.
54) LEENDERTS, D. Archiv. f. klin. med. Bd. 140, 279, 1922.
55) BLOOR, Journal of Biol. Chem. XXVII, 377, 1914.
56) TAYLOR en MILLER, Journal of Biol. Chem. XXVIII, 1914.
57) BELL en DOISY, Journal of Biol. Chem. XLIV, 55, 1920.
58) BRIGGS, Journal of Biol. Chem. LIII, 13, 1922.
59) BENEDICT en THEIS, Journal of Biol. Chem. LXI, 63, 1924.
60) ROE, IRISH en BOYD, Journal of Biol. Chem. LXVII, 579, 1926.
61) BLOOR, Journal of Biol. Chem. LXXXII, 273, 1929.
62) BAUMANN, Journal of Biol. Chem. LIX, 667, 1924.
63) FESTEN, Acad. Proefschrift, Utrecht, 1932.
64) KUTTNER en COHEN, Journal of Biol. Chem. LXXV, 517, 1927.
65) KUTTNER en LICHTENSTEIN, Journal of Biol. Chem. LXXXVI, 1930.
" " " " XCV, 1932.
66) ROSENTHAL en PATRZEK, Berlin. Klin. Wochenschrift 34, 1919.
67) DE LANGEN, Geneeskundig Tijdschrift voor Ned.-Indië, Bd. 62, 1922.
68) VERHOEF, Acad. Proefschrift, Amsterdam 1920.
69) BEUMER, Zeitschrift für Exper. Medizin 35, 328, 1923.
70) WACKER en BECK, Berlin. Klin. Wochenschrift 18, 453, 1921.
71) TANNHAUSER, D. Archiv. f. Klin. Medizin, Bd. 241, 290, 1923.

72) BEUMER en LEHMAN, Zeitschrift für Exper. Medizin, Bd. 37, 274, 1923.
73) SCHÖNHOLZER, Helvet. Med. Acta, Dec. 1939, pag. 692.
Schweiz. Med. Wochenschrift no. 50, 1939.
74) BEUMER, Zeitschrift für Kinderheilk., Bd. 35, H5/6, 298, 1923.
75) BÜRGER, Berlin. Klin. Wochenschrift, 1913, no. 3.
76) HENES, D. Archiv. für Klin. Med., Bd. 111.
77) BÜRGER en HABS, Klin. Wochenschrift, 1927, II, 2125.
Zeitschrift f. die ges. Exper. Med. 56, 640, 1927.
78) GARDNER en GAINSBOROUGH, Biochem. Journal 22, II, 1048, 1928.
79) MÜHLBOCK en KAUFMANN, Zeitschrift f. Exp. Med. 102, 461, 1938.
80) OKEY en BOYDEN, Journal of Biol. Chem. 72, 261, 1927.
81) KÜRTEN, Pflüger's Archiv, Bd. 185, 248, 1920.
Klin. Wochenschrift, pag. 1216, 1924.
82) HERMANN en NEUMANN, Biochem. Zeitschrift 43, 47, 1922.
83) CHAUFFARD, GUY LAROCHE en GRIGAUT, Annales de Médicine, Tome VIII, pag. 69, 1920.
84) HUFFEMAN, Zentralblatt f. Gynaekol. 1915.
85) BÜRGER en MÖBIUS, Klin. Wochenschrift 1349, 1934.
86) BRODIN, AUBIN en GRIGAUT, Presse Médic. 34, 641, 1937.
87) PARHON en MARIE PARHON, Ces. Rend. Soc. de Biol., Bd. 88, 231, 1923.
88) PARKE, KIRK, LEWIS, TOMPSON en v. SLYKE, Journal of Biol. Chem. LXXXVIII, 231, 1923.
89) MORAWITZ, Ergebnisse der Physiol. 4, 368, 1905.
90) HOWELL, Amer. Journal of Physiol. 31, 1912.
" " " " 35, 474, 1914.
91) NOLFF, 7rgebnisse der Inn. Medz. 10, 275, 1913.
92) RETTGER, Amer. Journal of Physiol. 24, 406, 1909.
93) HOWELL, Amer. Journal of Physiol. 31, 1, 1912.
" " " " 35, 474, 1914.
94) MELLANBY, Proc. Royal Soc. Serie B, 107, 271, 1930.
" " " " B, 113, 93, 1933.
95) ZAK, Zeitschrift f. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 70, 27, 1912.
96) ZAK, Zeitschrift f. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 74, 1, 1913.
97) CRAMER en PRINGLE, Quarterly Journal of Exper. Physiol. 6, no. 1, 5, 1913.
98) BORDET en DELANGE, Bullet. Soc. Scient. Med. Bruxelles. Oct. 1912, pag. 404.
Bullet. Acad. Belg. 25, 568, 1911.
Archiv. f. Exper. Pathol. u. Pharmakol. 71, 293, 1912.
Ces. Rend. Soc. Biol. 82, 896, 1919.
" " " " 82, 921, 1139, 1919.
99) HOWELL, Amer. Journal of Physiol. 29, 187, 1911.
" " " " 31, 1, 1912.
" " " " 32, 264, 1913.
Archives of Int. Med. 1914.
100) GRATIA en LEVENE, Journal of Biol. Chem. 50, 455, 1922.
101) ZUNZ en LA BARRE, Arch. Int. de Physiol. 18, 116, 1921.
102) FREUND, Biochem. Zeitschrift 94, 268, 1919.
103) MILLS, Journal of Biol. Chem. 46, 135, 1921.
104) v. LOOKEREN CAMPAGNE, Acad. Proefschrift Leiden 1938.

[105]) RUMPF, Biochem. Zeitschrift 55, 101, 1913.
[106]) PEKELHARING, Zeitschrift f. Physiol. Chemie 89, 22, 1914.
[107]) MC. LEAN, Amer. Journal of Physiol. 41, 250, 1916.
" " " " 43, 586, 1917.
[108]) WASHMANN, Amer. Journal of Physiol. 46, 373, 1918.
[109]) DEGKWITZ, Ergebnisse der Physiol. 32, 821, 1931.
[110]) DÖRLE, Zeitschrift f. Exp. Mediz. XXXIV, 101, 1923.
[111]) HERMANNSDORFER, Biochem. Zeitschrift 75, 1, 1916.
[112]) WOLVIUS, Acad. Proefschrift, Utrecht 1923.
[113]) FESTEN, Münchener Med. Wochenschrift II, 1370, 1937.
Ned. Tijdschr. v. Geneesk. I, 396, 1939.
[114]) BÜRGER en SCHRADE, Klin. Wochenschrift no. 16, 1936.
[115]) FESTEN, Geneesk. Bladen, no. VII, 247, 1938.
[116]) OFFERKRANTZ en FERARU, J. of Labor. a. clin. Med. 22, 780, 1937.

STELLINGEN.

I.

Stollingstijdbepalingen hebben slechts waarde, indien uitgevoerd in combinatie met vergelijkingsbepalingen bij normalen onder gelijke omstandigheden.

II.

Bij parenteraal toe te dienen ijzer verdient het ferrogluconaat de voorkeur boven het ferrikakodylaat.

III.

Het acute longabces behandele men de eerste maanden conservatief.

IV.

Het electroneurogram van een motorische zenuw is in situ niet congruent met het electromyogram van de door die zenuw geïnnerveerde spier.

V.

Bij de voortijdige loslating van de normaal ingeplante placenta, verdient de toediening van pituitrine aanbeveling.

VI.

Bij de ontwikkeling van het ziekenhuiswezen blijve de vrije artsenkeuze zooveel mogelijk gehandhaafd.

VII.

Bij de aetiologie van psoriaris houde men rekening met een infectie, veroorzaakt door een filtreerbaar virus.

VIII.

Hooren zonder gehoororgaan is mogelijk.

IX.

Het verdient aanbeveling de gebruikelijke behandelingsmethoden voor het chronisch glaucoma meer en meer te vervangen door oppervlaktecoagulatie met diathermische puncties van het corpusciliare.