

NN 8201

no 534

L

ONDERZOEK NAAR BESTANDDELEN VAN
DE VOEDING DIE EEN REMMENDE
INVLOED OP DE IJZERRETENTIE HEBBEN

A. B. CRAMWINCKEL

BIBLIOTHEEK
DER
LANDBOUWHOOGESCHOOL
EN. DE BUREAUWEG 1a
WAGeningen

NN08201.534

A. B. CRAMWINCKEL

ONDERZOEK NAAR BESTANDDELEN VAN
DE VOEDING DIE EEN REMMENDE
INVLOED OP DE IJZERRETENTIE HEBBEN

with a summary in English

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD
VAN DOCTOR IN DE LANDBOUWWETENSCHAPPEN
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS, PROF. DR. IR. H. A.
LENIGER HOOGLERAAR IN DE TECHNOLOGIE
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN
OP VRIJDAG 10 NOVEMBER 1972 DES NAMIDDAGS TE VIER UUR
IN DE AULA
VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL TE WAGENINGEN

STELLINGEN

I

Ei, melk en maisolie verlagen de hoeveelheid ijzer in het lichaam van de groeiende rat.

Dit proefschrift.

II

De verdeling van ferritine en hemosiderine over de lever en de milt van de groeiende rat wordt onder andere bepaald door de samenstelling van het dieet.

Dit proefschrift.

III

De werking van het mechanisme dat er zorg voor draagt dat de hoeveelheid ijzer in het lichaam een konstant niveau houdt, is nog steeds onbekend.

CONRAD, M. E., W. H. CROSBY, 1963. Intestinal mucosal mechanisms controlling iron absorption. *Blood* 22, 406-415.

CONRAD, M. E. Factors affecting iron absorption, 1970. Pag. 87-114. Iron Deficiency, L. Hallberg, H.-G. Harwerth, A. Vannotti, editors. Academic Press, London.

IV

Het is nog niet aangetoond dat het toevoegen van ijzer aan het algemene voedselpakket in de westerse landen de gezondheid van de bevolking ten goede zal komen.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Nutrition. Eighth Report. Food fortification, Protein-calorie malnutrition. 1971. Pag. 25-27. WHO Technical Report Series No. 477. Geneva.

V

De experimenten van TOMPSETT (1940) en VENKATACHALAM, BRADING, GEORGE en WALSH (1956) geven geen bewijs dat driewaardige ijzerionen niet kunnen worden opgenomen.

TOMPSETT, S. L., (1940). Factors influencing the absorption of iron and copper from the alimentary tract. *Biol. J.* 34, 961-969.

VENKATACHALAM, P. S., I. BRADING, E. P. GEORGE en R. J. WALSH, (1956). An experiment in rats to determine whether iron is absorbed only in the ferrous state. *Austral. J. exp. Biol.* 34, 389-394.

VI

Voor ijzerretentiemetingen bij mens of bij dier verdient het gebruik van driewaardig ijzer de voorkeur boven het gebruik van tweewaardig ijzer.

Nutritional Anaemias, 1972. Pag. 21. WHO Technical Report Series No. 503. Geneva.

VII

De werkwijze van het Ministerie van Volksgezondheid en Milieuhygiëne om een uitspraak te doen over de wenselijkheid van het al dan niet uitvoeren van proeven waarbij radioactieve stoffen aan mensen worden toegediend, zonder dat er een wet is die de uitvoering van dergelijke proeven regelt, kan schade toebrengen aan groepen proefpersonen.

VIII

Het Ministerie van Volksgezondheid en Milieuhygiëne of één van zijn organen zou zo spoedig mogelijk een registratieplicht moeten instellen voor onderzoeken waarbij radioactieve stoffen aan patiënten of aan vrijwilligers worden toegediend.

IX

Indien het aantal afgestudeerden van studierichtingen veel groter dreigt te worden dan het aantal te verwachten plaatsingsmogelijkheden, is het wenselijk de toeloop van nieuwe studenten te kunnen beperken.

X

Het zal nuttig zijn na te gaan of een probleem zodanig benaderd kan worden dat het voor komputerverwerking geschikt is; dit kan zowel de gekompliceerdheid van het probleem als (het probleem van) de vrees voor de komputer aanzienlijk doen verminderen.

XI

De romantische opvattingenreeks waartoe o.a. behoort dat ware liefde op het eerste gezicht kenbaar wordt, eeuwig duurt en alle problemen oplost, is stellig origineel gevonden, doch ten zeerste misleidend; zij stelt de werkelijkheid geruststellender voor dan deze is.

XII

Om het ontstaan van misverstanden tegen te gaan, verdient het stellig aanbeveling de verpakking van de C-film van gaatjes te voorzien.

VOORWOORD

Dank zij de getoonde belangstelling en hulpvaardigheid van velen is dit proefschrift gereed gekomen. Ik denk daarbij aan diegenen die bijdroegen tot mijn vorming en aan hen die aan dit onderzoek hebben meegewerkt.

Prof. Dr. C. DEN HARTOG, U dank ik voor de gelegenheid die U mij gaf om dit onderzoek onder Uw leiding uit te voeren. Ik ben U zeer erkentelijk voor de grote belangstelling die U steeds toonde en de wijze waarop U mij bij het werken aan dit onderwerp hebt geadviseerd.

Het onderwerp, in dit proefschrift behandeld, is naar voren gebracht door Dr. J. F. DE WIJN. Ik ben U veel dank verschuldigd voor het vertrouwen dat U in mij stelde om dit onderwerp uit te werken.

Met vele mensen heb ik over de opzet van het onderzoek gesproken. Daarbij denk ik speciaal aan de hematoloog Dr. M. C. VERLOOP. Uw enthousiasme en belangstelling voor het ijzer in de voeding en de gevolgen van een tekort of een teveel aan ijzer bij de mens heeft mij sterk gestimuleerd.

Met veel plezier denk ik aan de vele en langdurige gesprekken die ik met Drs. H. W. JULIUS voerde. Met Uw heldere wijze van redeneren heeft U veel bijgedragen tot een beter begrip van zaken. Met de ver uitgewerkte en doordachte antwoorden die ik steeds op mijn vragen kreeg, heeft U mij een grote dienst bewezen.

Graag spreek ik op deze plaats tevens mijn grote erkentelijkheid uit voor de genoten gastvrijheid op het Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw (I.T.A.L.). Ir. J. F. STOUTJESDIJK dank ik zeer voor de wijze waarop U altijd voor mij klaar stond. De waardevolle medewerking van de Stralingsbeschermingsdienst, met name van Dr. H. P. LEENHOUTS, P. H. DIGNUM, C. VAN DE PEPPEL, J. J. RONK en A. W. H. C. F. M. WOLFS, heb ik zeer op prijs gesteld. Voor de verzorging van de vele transporten, waardoor het mogelijk werd om de radioactieve ratten in Arnhem te meten, ben ik U allen zeer erkentelijk.

Het is een teleurstelling geweest dat de besprekingen met het Ministerie van Sociale Zaken en Volksgezondheid betreffende het uitvoeren van parallelproeven met speurdosis ^{55}Fe en ^{59}Fe bij vrijwilligers een negatief resultaat hebben gehad, temeer daar deskundigen van naam de onschadelijkheid van deze experimenten onderschreven hebben.

De heer C. W. VERHOEF dank ik voor de uitvoering van de radioactiviteitsmetingen van de dieren en voor de snelle uitwerking van de metingen.

Erkentelijk ben ik ook mijn kollega's van de afdeling Voeding, Mej. Drs. J. M. P. EDEMA en Mej. H. C. C. J. M. VERHAAK met name voor hun inzet om mij een cultureel-wetenschappelijke visie op de zich voedende mens bij te brengen. Zij kunnen in de INLEIDING lezen op welke wijze hun inspanning gestalte heeft gekregen. Mevr. H. BLOEM, P. VAN DE BOVENKAMP, mej. J. DIJKSTRA, G. H. M. KELLER, mevr. G. NOOR en J. F. M. SCHOUTEN dank ik bijzonder voor

hun deskundige en geduldige hulp bij de uitvoering van de verschillende analyses.

De heer B. L. GUNDLACH ben ik bijzonder dankbaar voor de getoonde belangstelling voor het onderzoek, zijn vele technische ideeën en de realisatie ervan en voor het vervaardigen van de figuren.

Voor het verzorgen van de dieren en de medewerking die ik steeds ondervond, ben ik de heren P. VAN KLEEF, W. van CAPELLEVEEN en G. VAN TINTELEN zeer erkentelijk.

Dr. M. A. J. VAN MONTFOORT dank ik ten zeerste voor de statistische uitwerking van de uitkomsten en voor zijn vele opmerkingen ertussendoor.

Bijzondere waardering heb ik voor het vele werk en de waardevolle opmerkingen van mej. H. LAMSTER en voor het snelle typewerk van mej. L. VAN DEINSUM.

Ik hoop dat ik de dank aan *Iteke* dagelijks kan tonen.

INHOUD

1. INLEIDING	1
1.1. De plaats van het voedsel in de leefwereld van de mens	1
1.2. De opzet van het onderzoek	4
1.3. Factoren die het niveau van de ijzerretentie bepalen	7
1.3.1. Theoretische achtergrond	7
1.3.2. Een schematisch overzicht	8
1.3.3. De begrippen ijzerretentie en ijzerabsorptie	10
1.3.4. Gegevens uit de literatuur met betrekking tot factoren die de ijzerretentie beïnvloeden	10
1.3.4.1. De invloed van alcohol op de retentie van ijzer	10
1.3.4.2. De invloed van aminozuren op de retentie van ijzer	11
1.3.4.3. De invloed van antibiotika op de retentie van ijzer	12
1.3.4.4. De invloed van ascorbinezuur op de retentie van ijzer	12
1.3.4.5. De invloed van barnsteenzuur op de retentie van ijzer	13
1.3.4.6. De invloed van brood op de retentie van ijzer	13
1.3.4.7. De invloed van eiwitrijke levensmiddelen op de retentie van ijzer	13
1.3.4.8. De invloed van fosfaten op de retentie van ijzer	15
1.3.4.9. De invloed van fyfaten op de retentie van ijzer	15
1.3.4.10. De invloed van gastrectomie op de retentie van ijzer	16
1.3.4.11. De invloed van de leeftijd op de retentie van ijzer	16
1.3.4.12. De invloed van een maaltijd op de retentie van ijzer	16
1.3.4.13. De invloed van metaalionen op de retentie van ijzer	16
1.3.4.14. De invloed van ondervoeding op de retentie van ijzer	17
1.3.4.15. De invloed van de pH op de retentie van ijzer	17
1.3.4.16. De invloed van suikers op de retentie van ijzer	17
1.3.4.17. De invloed van verteringssappen op de retentie van ijzer	18
1.3.4.18. De invloed van vetten op de retentie van ijzer	20
1.3.4.19. De invloed van vitamines op de retentie van ijzer	20
1.3.4.20. De invloed van de hoeveelheid ijzer in de darmwandcellen op de retentie van ijzer	21
1.3.4.21. De invloed van een tekort aan ijzer in het lichaam op de retentie van ijzer	22
1.3.4.22. De invloed van een overschot aan ijzer in het lichaam op de retentie van ijzer	22
1.3.5. Enkele opmerkingen ten aanzien van de beschreven onderzoeken	22
2. DIALYSE EXPERIMENTEN	24
2.1. Inleiding	24
2.2. Materiaal	24
2.3. Uitvoering van de dialyse experimenten	25
2.3.1. Werkwijze	26
2.4. Uitkomsten	27
2.4.1. Nadere beschouwing	27
2.4.2. De affiniteit van ijzerionen voor melkeiwitten	27
2.4.3. De affiniteit van ijzerionen voor een rauw ei	28
2.4.4. De affiniteit van ijzerionen voor vetten, zetmeel en absorptiecellen van de dunne darm	31
2.4.5. De affiniteit van ijzerionen voor de verschillende rattevoeren	31
3. DIERPROEVEN	32
3.1. Inleiding	32
3.2. De langdurende dierproeven	32

3.2.1.	De proefdieren	33
3.2.2.	Het voer voor de ratten	33
3.2.3.	De keuze van het ijzergehalte van het voer	36
3.2.4.	Radioactiviteitsmetingen van de ratten	37
3.2.5.	Bepaling van het gehalte aan hemoglobine in het bloed	38
3.2.6.	Bepaling van het ijzergehalte in organen	38
3.2.7.	Histologische bepaling van het ijzergehalte van organen	39
3.2.8.	Uitkomsten	39
3.2.8.1.	IJzerretentie (Groep A t/m D)	39
3.2.8.2.	Hemoglobinewaarden	40
3.2.8.3.	IJzerniveau van enkele organen	41
3.2.8.4.	Histologische bepalingen	44
3.2.8.5.	Groei van de dieren	45
3.3.	De kortdurende dierproeven	45
3.3.1.	De uitvoering	45
3.3.2.	Uitkomsten	47
4.	ALGEMENE BESCHOUWING	48
4.1.	Inleiding	48
4.2.	Het effect van ei	48
4.3.	Het effect van melk en karnemelk	49
4.4.	Het effect van brood	51
4.5.	Het effect van kokosvet, maisolie en rundvet	51
5.	SAMENVATTING	53
5.1.	Nederlands	53
5.2.	Engels (Summary)	55
6.	LITERATUURLIJST	57

1. INLEIDING

1.1. DE PLAATS VAN HET VOEDSEL IN DE LEEFWERELD VAN DE MENS

Het voedsel heeft meer functies dan alleen het stillen van de honger; het neemt steeds in de kultuur een min of meer belangrijke plaats in. Of, zoals DE GARINE (1971) het zegt: 'Food is not just something to eat'.

Bij de mens heeft het voedsel een veel omvattende betekenis gekregen in zijn strijd om het voortbestaan. De voeding - bezien als een biologisch proces - wordt soms wel vergeleken met de seksualiteit. Zoals bijv. RICHARDS (1964) dat doet wanneer zij schrijft: 'Nutrition as a biological process is more fundamental than sex'. Aan beide behoeften, voeding en seksualiteit, moet worden voldaan om het voortbestaan van de genus mens mogelijk te maken.

De klimatologische omgeving is naast voeding en voortplanting eveneens een fundamentele faktor in de strijd om het voortbestaan. In tegenstelling tot de voeding is dit echter niet een gebeuren waar van dag tot dag invloed op kan worden uitgeoefend. Fysiologisch bezien is het voortbestaan van de mens van minuut tot minuut afhankelijk van zijn zuurstofvoorziening en van de temperatuur van zijn omgeving. Indien de zuurstofvoorziening geblokkeerd is, treedt binnen zeer korte tijd de dood in (Russische ruimtevaarders in 1971). Een hoge temperatuur, zelfs boven de 100 °C, kan enkele minuten volgehouden worden, mits de lucht absoluut droog is. Indien de lucht verzadigd is met waterdamp, wordt een temperatuur van 32 °C spoedig ondragelijk (ELNEIL, 1969). Terecht gekomen in water waarvan de temperatuur rond het vriespunt is, bezwijkt de mens binnen het uur. Bij 15 °C hebben mensen het 6 uur weten uit te houden (EDHOLM, 1969).

Gebrek aan voedsel is minder ernstig dan gebrek aan water. Afhankelijk van de klimatologische omstandigheden en de lichamelijke activiteit bezwijkt de mens binnen 1 tot 7 dagen indien hij geen water tot zijn beschikking heeft. Indien er water gedronken wordt, kan een mens zonder voedsel enkele weken overleven. De burgemeester van Cork, Terence MacSwiney, ging, toen hij in 1921 gevangen werd gezet, in hongerstaking. Hij stierf na 74 dagen geen voedsel tot zich genomen te hebben. Er zijn gevallen bekend dat de mens een periode van 2 maanden zonder voedsel overleefde (EDHOLM, 1969).

In de loop der tijden is de mens op sterk uiteenlopende plaatsen van de wereld terecht gekomen, waar steeds werd geprobeerd om aan de verschillende fundamentele voorwaarden zo goed mogelijk te voldoen. Het succes van zijn ondernemen is wisselend geweest en is o.a. bepaald geworden door de geografische ligging van zijn vestiging. Met het succes van zijn ondernemen, dat o.a. inhoudt dat de mens het gebeuren om hem heen steeds meer onder controle houdt, verandert het preoccupatie patroon van de mens en krijgt het voedsel een andere plaats in de leefwereld van die mens.

Het bleek dat voedsel door technische deskundigheid op grote schaal ver-

kregen kon worden, het verloor daarmee een bepaalde mythologische waarde en kreeg er een geldelijke tegenwaarde voor in de plaats.

In gebieden waar de bewoners, naar onze maatstaven gemeten, in primitieve omstandigheden leven, zal volgens DARYLL FORDE (1934) de westerse levenswijze met verbazing en misschien met afschuw worden gadeslagen. Indien ze onze manier van doen en laten als in een film zouden kunnen aanschouwen, zal het hun ongetwijfeld opvallen dat we zo weinig tijd besteden aan het verzamelen van voedsel (DARYLL FORDE, 1934).

In iedere mensengemeenschap komen tradities voor. Het verkrijgen van voedsel is, evenals het voedsel zelf, een onderdeel van het cultuurpatroon. Handelingen en opvattingen, betrekking hebbend op het verzamelen en het nuttigen van voedsel, worden door verschillende factoren bepaald en in stand gehouden. DE GARINE (1971) noemt enkele bepalende factoren: het ideaalbeeld van uiterlijke schoonheid, taboes en voedselreglementen, de mogelijkheden die door het nuttigen van voedsel geboden worden voor een sociale intergratie, het uiten van prestige, het ritme van de natuur en de kommunikatie met bovennatuurlijke krachten door middel van religieuze maaltijden of door het brengen van voedseloffers. Hoewel in de westerse landen de voedselschaarste grotendeels verdwenen is, bleven er bepaalde tradities rond de voeding gehandhaafd. Zo bestaat er bijv. nog steeds een behoefte om belangrijke gebeurtenissen in het leven van een individu of van een groep met een gezamenlijk eten of drinken op te luisteren. De lichamelijke behoefte om zich te voeden kan daarbij nooit over het hoofd gezien worden, doch lijkt te worden benut om het gebeuren zo goed mogelijk mee te kunnen maken. Zo kunnen we er voor zorgen wat hongerig aan een feestmaal te verschijnen om – met elkaar – aan alles mee te doen, wat de gastheer ons voorzet.

Samenvattend kan gekonstateerd worden dat de voeding naast de fysiologische betekenis die zij altijd in zich draagt, ook in het dagelijks leven een min of meer dominerende rol speelt. Vele anthropo-biologische factoren beïnvloeden het eetpatroon van de mens en de waarde die hij aan het voedsel geeft.

Het vakgebied dat zich bezighoudt met de menselijke voeding kan als volgt gedefinieerd worden: 'Voeding, een anthropo-biologische wetenschap, richt zich op de mens in relatie tot zijn voedsel, in het bijzonder ten aanzien van gezondheid en welzijn'. Deze definitie en de toelichting erop hebben gestalte gekregen in discussies met leden van de Vakgroep Voeding. De verschillende deskundigheden, betrekking hebbend op het vakgebied Voeding, zijn gerangschikt onder drie belangrijke hoofdmomenten, te weten: het totale voedselpakket, de voedselkeuze en de voedingstoestand van de mens.

Het totale voedselpakket

Bepaald door o.a.

- het fysisch-biologisch milieu (het ritme van de natuur: klimaat en seizoenen, het land: bodemgesteldheid – chemische samenstelling en vorm –, het water, de plantaardige groei, de aanwezigheid van dieren);
- transportmogelijkheden;

- de kennis van het voedingsmiddel, ten aanzien van de fysische, chemische, biochemische en microbiologische samenstelling en (toxische) eigenschappen, voorzover deze voor Voeding van belang zijn;
- de voedingswaarde en de invloed van bewaring, behandeling, bewerking en verwerking op de voedingswaarde;
- kennis, vaardigheid en mogelijkheden ten aanzien van het bereiden van gerechten, zowel huishoudelijk als industrieel, de toegepaste receptuur en de uiteindelijke sensorische eigenschappen;
- de toekomstige situatie ten aanzien van bovengenoemde factoren.

De voedselkeuze

Bepalende factoren – in wisselwerking met elkaar – zijn:

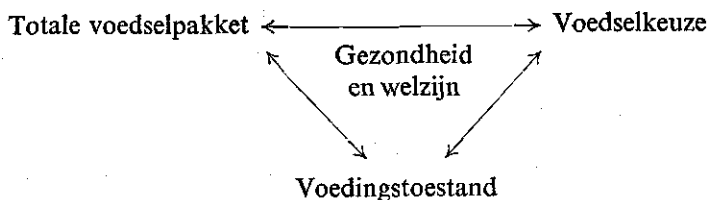
- het totale (beschikbare) voedselpakket;
- het kulturele milieu (het ideaalbeeld van uiterlijke schoonheid, taboes en voedselreglementen, de mogelijkheden die door het nuttigen van voedsel geboden worden voor een sociale integratie, het uiten van prestige, de communicatie met bovennatuurlijke krachten door middel van religieuze maaltijden of door het brengen van voedseloffers);
- de individuele factoren (voorkeur, verwerping) die een rol spelen bij de voedselkeuze;
- de economische situatie (ontwikkeling, ruilhandel, transport, enz.);
- lichamelijke omstandigheden (leeftijd, zwangerschap, bevalling, zogen, sportbeoefening, lichamelijke activiteit, ziekte: zowel wat het ziekmakende deel betreft als de therapie en begeleiding van een aantal ziektes);
- (technische) kennis, vaardigheid en mogelijkheden van de voedselbereidende personen, instanties;
- de veranderingen die ten aanzien van bovengenoemde factoren kunnen gaan optreden.

De voedingstoestand van de mens

Bepaald door:

- het totale (beschikbare) voedselpakket;
- de voedselkeuze;
- het activiteitspatroon (lichamelijke bewegelijkheid, arbeid);
- akties en interacties van de nutriënten in de mens (mens als psychosomatische eenheid) onder omstandigheden van leeftijd, sexe, erfelijke factoren in relatie tot het totale voedselpakket, de voedselkeuze van de mens en de kennis van de wenselijke voedingstoestand als deel van de heersende opvattingen ten aanzien van gezondheid en welzijn van de mens.

De drie hoofdmomenten staan in een relatie tot elkaar die op de volgende schematische wijze uitgebeeld kan worden:



Gezondheid en welzijn van de mens

Deze begrippen, waarvan de inhoud bepaald wordt door de cultuur en die daarom niet overal geldend is, bepalen in belangrijke mate de achtergrond van het werk van de voedingskundige. Het werk resulteert uiteindelijk in het leggen van de relatie mens-voeding ten aanzien van belangrijk geachte lichamelijke en psycho-sociale aspecten van gezondheid en welzijn, zoals bijvoorbeeld: lichamelijke fitheid en konditie, zich gelukkig voelen, ontwikkeling, lengte van het leven, vitaliteit en het subjectief fysiek en psychisch welbevinden van de mens.

Het onderwerp dat in dit proefschrift behandeld wordt heeft te maken met akties en interakties van het nutriënt ijzer in een organisme. Het is een voorbeeld van partiële ondervoeding, omdat algemeen wordt aangenomen dat de ijzeropname van de mens in de westerse landen gemiddeld laag is (WHO report, 1971, no. 477).

1.2. DE OPZET VAN HET ONDERZOEK

Een deel van het ijzer uit onze voeding komt niet ten goede aan het organisme, omdat componenten of combinaties van componenten die in de voeding kunnen voorkomen, remmend werken op de retentie van ijzer. Deze hypothese is door DE WIJN geformuleerd, o.a. naar aanleiding van onderzoekingen die bij topatleten verricht zijn (DE WIJN, DE JONGSTE, MOSTERD en WILLEBRAND, 1971).

Deze hypothese laat ruimte voor een groot aantal componenten en voor een nog groter aantal combinaties van componenten die betrokken kunnen zijn bij het verlagen van de ijzerretentie. Om een eerste indruk te krijgen in de grootte van effecten en om het onderzoek te beperken, zijn een aantal bepaalde combinaties van componenten (lees: bepaalde voedingsmiddelen) in het onderzoek betrokken. Omdat er in de literatuur nog betrekkelijk weinig bekend is over de invloed van voedingsmiddelen op de ijzerretentie, zijn o.a. algemeen voorkomende bestanddelen, te weten eiwitten en vetten, in het onderzoek opgenomen. Van de eiwitrijke producten was het ei in de literatuur reeds gesignaleerd als een voedingsmiddel met een remmende invloed op de ijzerretentie (een uitgebreid literatuuroverzicht is op pag. 17 te vinden). Van de invloed van vetten op de ijzerretentie zijn een aantal tegenstrijdige uitkomsten gemeld (het literatuuroverzicht is op pag. 26 te vinden). Koolhydraten werden in de vorm van suikers onderzocht en de invloed op de ijzerretentie is over het algemeen gering te noemen (literatuuroverzicht: pag. 23). In verband met het geringe effect dat van

suikers te verwachten is en in verband met het onvermijdelijk hoge suikergehalte van het basis voedsel van de ratten (omdat suiker zeer weinig ijzer bevat), is saccharose voor een belangrijk deel als neutrale komponent in het controlevoer opgenomen.

Bij de beoordeling van de verschillende onderzoeken die in de literatuur beschreven staan, valt het op dat de resultaten als gevolg van verschillende methoden van onderzoek moeilijk met elkaar te vergelijken zijn. Daarom is in dit onderzoek een aantal uiteenlopende voedingsmiddelen, te weten: ei, melk, karnemelk, brood, kokosvet, maisolie en rundvet, onder dezelfde omstandigheden met elkaar vergeleken. Met de keuze van deze stoffen is er bewust naar gestreefd zeer algemeen voorkomende voedingsmiddelen of bestanddelen van voedingsmiddelen (de vetten) in het onderzoek op te nemen. Indien enkele van deze stoffen een remmende invloed op de ijzerretentie zullen hebben, dan zal dit effect ook algemeen in de dagelijkse voeding aanwezig zijn.

Het verband tussen de genoemde stoffen en hun affiniteit tot ijzerionen is in vitro en de relatie met de ijzeropname is in vivo met ratten onderzocht. Het voornemen om het projekt af te sluiten met retentie proeven met vrijwilligers is komen te vervallen. Humane retentie proeven die betrouwbare gegevens opleveren, kunnen alleen gerealiseerd worden, indien er gebruik gemaakt kan worden van spurdoses radioactieve stoffen.

Daar wij ons zelf niet bekwaam achten om de gevaren die aan een dergelijk experiment verbonden kunnen zijn te overzien, werd besloten om na het raadplegen van deskundigen (Prof. Dr. C. W. BARENDSEN, radioloog, Prof. Dr. L. M. VAN PUTTEN, internist, Dr. M. C. VERLOOP, hematoloog) een – voor zover mogelijk – uitgewerkte proefopzet voor te leggen aan het Ministerie van Sociale Zaken en Milieuhygiëne. Hoewel er geen wettelijke restricties zijn die de uitvoering van de proef beletten, raadde genoemd Ministerie ons toch sterk af om de proeven uit te voeren, met als argument: 'ingevolge de aanbevelingen van de "International Commission on Radiological Protection" (I.C.R.P.) en de daarvan afgeleide, ook voor Nederland geldende, internationale richtlijnen moet blootstelling van personen aan ioniserende straling zoveel mogelijk worden vermeden. De consequentie daarvan is dat ten aanzien van elke potentiële blootstelling moet worden overwogen of tegen de nadelen mogelijk voordelen kunnen worden gesteld'.

Deze opvatting is mijns inziens aan herziening toe. Niet alleen omdat iedere poging om nadelen tegen voordelen af te wegen een subjectief karakter draagt, maar juist het feit dat deze situatie niet wettelijk geregeld is, kan in de praktijk tot ongewenste situaties leiden.

Daar niemand verplicht is om toestemming te vragen aan het Ministerie en diegenen die een aanvraag indienen gemakkelijk nul op het rekest krijgen, wordt een situatie in de hand gewerkt waarbij men radioactiviteit aan vrijwilligers geeft zonder kennisgeving aan centrale instanties. Een belangrijk nadeel van deze situatie is o.a. dat de eventuele gevolgen van de toegediende radioactieve stoffen, en juist de gevolgen die op langere termijn naar voren kunnen komen, op deze wijze nooit onderzocht worden (zodat deze gegevens uit buitenlandse

literatuur betrokken moeten worden).

Tijdens het uitwerken van de proefopzet zijn nog enkele wijzigingen aangebracht. Oorspronkelijk waren de plannen om het basisvoer voor de ratten op natuurlijke wijze met ijzer te verrijken door toevoeging van groenvoer en hemoglobine aan het voer. Om in de loop der tijd de retentie van het ijzer uit het groenvoer en het hemoglobine te kunnen volgen, moeten beide ijzerbronnen op het moment dat een meting wenselijk wordt geacht, voorzien kunnen worden van biologisch ingebouwd radioactief ijzer.

Een groente die een hoog ijzergehalte en een behoorlijke groeisnelheid combineert is de *Lepidium sativum* (sterrekers). De kweekproeven op waterkultuur zijn beëindigd toen bleek dat de maximale hoeveelheid radioactief ijzer die de plant kon opnemen, gezien de eetcapaciteit die een rat heeft, nog te laag was om betrouwbare retentiemetingen te doen. Technische problemen deden zich voor bij het verkrijgen van radioactief hemoglobine. Om in staat te zijn gedurende enkele maanden het voer van 48 ratten periodiek van hemoglobine van een voldoende specifieke activiteit te voorzien moeten een aantal konijnen, die het intraveneus toegediende radioactieve ijzer in het hemoglobine bouwen, beschikbaar zijn. Met de beschikbare middelen bleek de huisvesting en de verzorging van deze konijnen niet te realiseren te zijn.

De proefopzet is als volgt. In vitro wordt nagegaan of ei, melk, karnemelk, brood, kokosvet, maisolie en rundvet een binding met twee- of driewaardige ijzerionen kunnen aangaan. De vivoproeven zijn uitgevoerd met Wistar albino-ratten, waarbij een eventueel effect dat de genoemde produkten op de ijzerretentie kunnen uitoefenen zowel binnen enkele dagen alsmede na een periode van enkele maanden wordt beoordeeld. Samengevat is de procedure van de kortdurende proeven als volgt. De dieren krijgen een oplossing van ferricitraat, waarvan een gedeelte van de ijzerionen radioactief is, met een sonde in de maag gebracht. Direkt daarna, binnen de minuut, wordt het in vloeibare toestand gebrachte produkt eveneens per sonde in de maag gebracht. De controle dieren krijgen met de tweede maagsonde water. De ijzerretentie wordt berekend uit de gemeten radioactiviteit van de dieren direkt na het toedienen van de twee maagsondes en na 14 dagen. Deze bepaling geeft de situatie op korte termijn weer. Bij de langdurende experimenten worden de verschillende produkten met het basisvoer van de ratten gemengd. Alle verschillende voeren worden met ferricitraat op een totaal ijzergehalte van ± 30 p.p.m. gebracht. De ijzerstatus van de verschillende groepen dieren worden tijdens de proef met elkaar vergeleken aan de hand van de gegevens van de retentiebepalingen die met behulp van gemerkt ferricitraat zijn uitgevoerd. Na afloop van de proef wordt het ijzergehalte van enkele organen van alle dieren bepaald. Hierdoor konden gegevens worden verkregen over de invloed die de produkten op langere termijn uitoefenen en de fysiologische reactie van de dieren op de hun opgelegde voedingssituatie.

1.3. FAKTOREN DIE HET NIVEAU VAN DE IJZERRETENTIE BEPALEN

1.3.1. *Theoretische achtergrond*

Algemeen wordt aangenomen dat het voedsel de westerse mens dagelijks 10–15 mg ijzer levert. Bij de vertering van dit voedsel in de maag kunnen zich verschillende processen afspelen, die beslissend zijn in welke mate het ijzer door het lichaam opgenomen wordt. In de praktijk blijkt, dat het duodenum en het voorste gedeelte van het jejunum de belangrijkste plaatsen zijn van het verteringsstelsel waar de ijzeropname tot stand komt (HEMMATI, 1968). Dezelfde situatie doet zich bij de rat voor (VAN CAMPEN, 1965; WHEBY en CROSBY, 1963). Het ijzer in de voeding is meestal 3-waardig (DEN HARTOG, 1969, pag. 188). Naar algemeen wordt aangenomen, moet het ijzer gereduceerd zijn, om te kunnen worden opgenomen (TOMPSETT, 1940; VENKATACHALAM, BRADING, GEORGE en WALSH, 1956). Het ijzer kan dan als ion of kompleks gebonden (bijv. heme: WEINTRAUB, WEINSTEIN, HUSER en RAFAL, 1968) door het slijmvlies van de darmwand opgenomen worden.

Er zijn tot nu toe verschillende factoren bekend, die invloed hebben op de ijzerretentie. Van de factoren, die de ijzerretentie verhogen kunnen de volgende genoemd worden:

1. Een toegenomen behoefte van het organisme aan ijzer, o.a. als gevolg van een toegenomen produktie van hemoglobine. Deze situatie kan zich voordoen bij groei, bloedverlies, zwangerschap en verlaagde partiële zuurstofspanning in de atmosfeer.
2. Een hoger ijzergehalte van de voeding. Hierbij neemt relatief gezien, de ijzerretentie af, indien het ijzergehalte van de voeding hoger wordt.
3. Een lage pH in de maag tijdens de vertering.
4. Verbindingen in het voedsel of in maag-darm sekreties, die tijdens de vertering ijzerionen kunnen reduceren.
5. Verbindingen in het voedsel of in maag-darm sekreties, die met tweewaardig ijzer een absorbeerbaar kompleks vormen of kunnen vormen. Tot deze verbindingen kunnen o.a. heme, ascorbinezuur, fruktose en barnsteen zuur gerekend worden. Het is niet bekend of de mogelijkheid zich kan voordoen dat een kompleks met driewaardig ijzer door het lichaam opgenomen wordt.
6. Een waarschijnlijk nog groot aantal onbekende factoren.

Een verlagende invloed op de ijzerretentie wordt bepaald door:

1. Een verminderde behoefte van het organisme aan ijzer. Hoewel de ijzerretentie uit ijzerhoudend voedsel nooit tot nul gereduceerd wordt, kan het organisme door meer ijzer uit te scheiden dan op te nemen in een negatieve ijzerbalans komen.
2. Een lager ijzergehalte van het voedsel.

De ijzerretentie neemt, bij lager wordende ijzergehalten van het voedsel, relatief toe.

3. Een hoge pH in de maag. De oplosbaarheid van ijzerionen is pH afhankelijk.

4. Verbindingen in het voedsel of in de maag-darm sekreties, die tijdens de vertering de reductie van ijzerionen belemmeren.
5. Verbindingen in het voedsel of in maag-darmsekreties, die met tweewaardige ijzerionen niet absorbeerbare complexen aangaan.
6. Een waarschijnlijk nog groot aantal onbekende factoren.

Een voorbeeld van een stof die de ijzerretentie stimuleert is ascorbinezuur, omdat het o.a.:

- a. Als zuur meewerkt aan een lage pH in de maag.
- b. IJzer reduceert.
- c. Met het gereduceerde ijzer een absorbeerbaar, complex aangaat.

Carbonaat is een verbinding die de ijzerretentie vermindert omdat het o.a.:

- a. Het zuur in de maag neutraliseert.
- b. Met ijzerionen onoplosbare complexen vormt.

1.3.2. Een schematisch overzicht

Figuur 1 geeft een schematisch overzicht van wat er met het ijzer in de voeding kan gebeuren, wanneer het voedsel door het organisme opgenomen wordt. Dit schema geldt voor het menselijk organisme, maar gaat ook op voor de rat. Het ijzerverlies door zweten komt voor de rat te vervallen, terwijl de levensduur van de absorptiecellen van duodenum en jejunum in dat geval 2-3 dagen wordt.

Om de verschillende invloeden die betrekking hebben op de ijzerretentie te interpreteren, is het belangrijk om een duidelijk onderscheid te maken tussen ijzer in de absorptiecellen (kolom III van fig. 1) en ijzer 'verder' in het lichaam (kolom IV van fig. 1). Het ijzer in de absorptiecellen wordt gekenmerkt door een korte biologische halfwaardetijd (2-3 dagen); het gaat overigens om hoeveelheden ijzer, die bij de mens in de orde van grootte liggen van delen van milligrammen tot enkele milligrammen. De totale hoeveelheid ijzer die in de absorptiecellen aanwezig is, blijkt op een evenredige wijze afhankelijk te zijn van de ijzerstatus van het organisme en oefent tevens invloed uit op het niveau van de ijzerabsorptie, in die zin, dat een hoog (laag) ijzergehalte van het organisme overeenkomt met een hoog (laag) ijzergehalte van de absorptiecellen en een verlaagde (verhoogde) ijzerabsorptie. Dit samenspel krijgt door CONRAD, en CROSBY (1963), en door CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY (1964) een centrale plaats toebedeeld in de regulatie van het ijzerevenwicht (zie ook pag. 27.: De invloed van de hoeveelheid ijzer in de darmwandcellen op de retentie van ijzer).

Er kunnen zich met het ijzer in de darmwandcellen, dat zowel uit het darm-lumen als uit het bloed in deze cellen terecht gekomen kan zijn, mede als gevolg van de korte levensduur van deze cellen, verschillende mogelijkheden voordoen:

- a. Het ijzer, uit de voeding door deze cellen opgenomen, wordt, voordat de cellen afgestoten worden, verder het lichaam in getransporteerd.
- b. Het ijzer, uit de voeding door deze cellen opgenomen, kan met het afstoten van deze cellen, weer bij de darminhoud terecht komen.
- c. De mogelijkheid is aanwezig, dat een gedeelte van het ijzer, afkomstig van

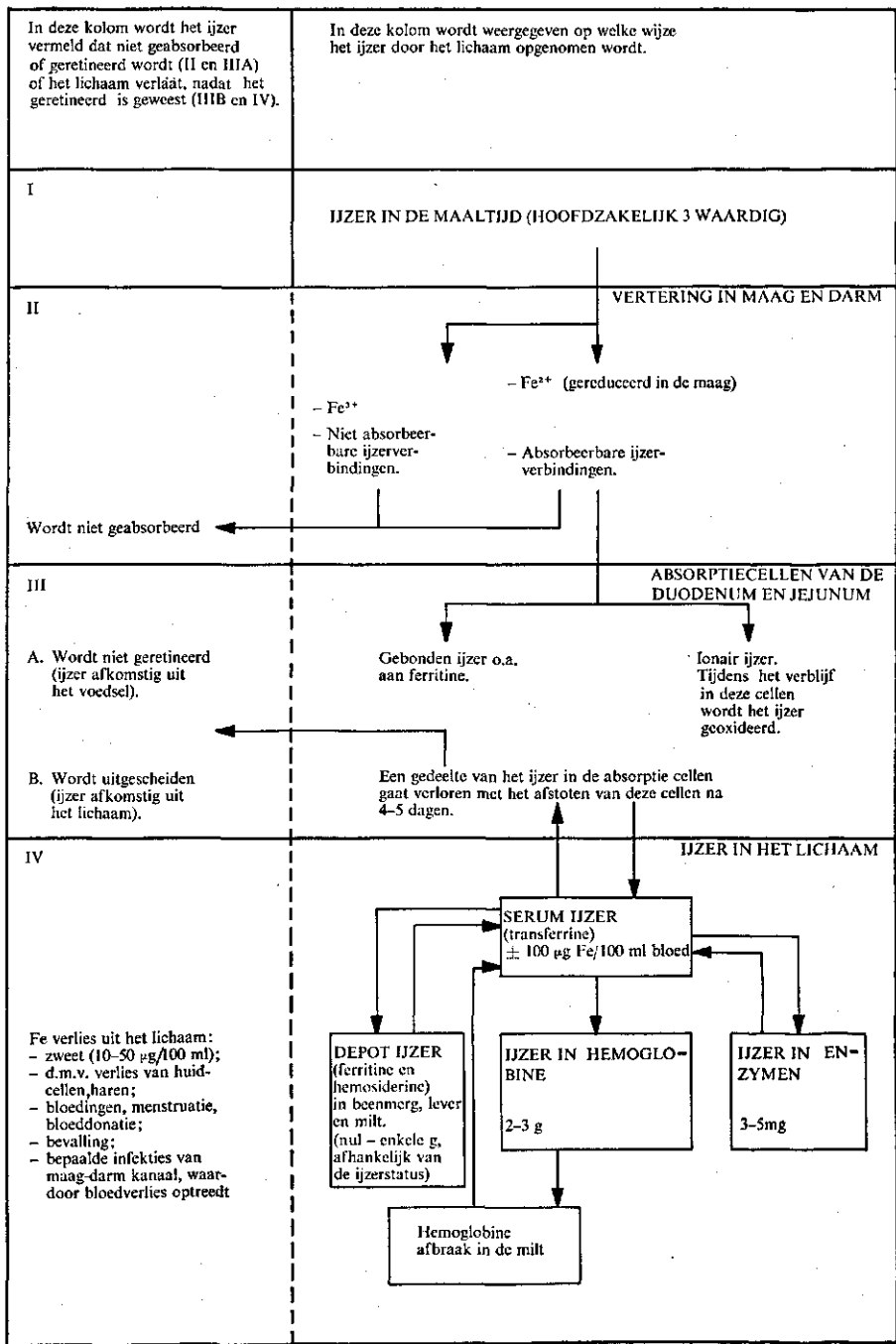


FIG 1. De verschillende plaatsen waar het met de mond opgenomen ijzer uit de voeding in het lichaam terecht kan komen.

- afgestoten cellen, opnieuw door de darmwand wordt opgenomen. De mogelijkheden a, b en c kunnen zich opnieuw voordoen.
- d. Het ijzer, dat met het bloed (als serumijzer) naar deze cellen gebracht is, kan met het afstoten van deze cellen, het organisme weer verlaten (mogelijkheid c blijft).
- e. Het ijzer, dat met het bloed naar deze cellen gebracht is, kan voordat de cellen afgestoten worden, weer terug in het lichaam komen.

1.3.3. *De begrippen ijzerretentie en ijzerabsorptie*

Met deze mogelijkheden voor ogen, is het nuttig de volgende twee begrippen te definiëren:

Ijzerretentie: het proces waarbij ijzer (als ion of complex) uit het voedsel via de absorptiecellen van het maagdarmkanaal in het lichaam wordt opgenomen.

Ijzerabsorptie (soms ook ijzerresorptie genoemd): het proces waarbij ijzer (als ion of complex) uit het voedsel in de absorptiecellen van het maagdarmkanaal terecht komt.

De wijze waarop beide processen met behulp van radioactief ijzer gemeten kunnen worden is op pag. 37 beschreven.

1.3.4. *Gegevens uit de literatuur met betrekking tot factoren die de ijzerretentie beïnvloeden*

In dit literatuuroverzicht zijn publikaties vermeld, waarin factoren beschreven worden, die een invloed hebben op de ijzerretentie in de meest algemene zin. Naast onderzoekingen naar voedingsfactoren worden ook onderzoekingen aangehaald, waarbij de invloed van maag- en darmsekreties werd bestudeerd in verband met de retentie van ijzer. Ook enkele onderzoekingen over voedings toestanden zoals: ondervoeding, eiwittekort, ijzerdeficiëntie en ijzeroverschot worden in dit verband vermeld.

De verschillende factoren zijn alfabetisch weergegeven en beschreven. Indien de bevindingen betrekking hebben op dierexperimenten wordt dit in de tekst vermeld, in het andere geval zijn de vermelde resultaten verkregen door middel van proeven met gezonde mensen of patienten.

1.3.4.1. *De invloed van alcohol op de retentie van ijzer*

Bij ratten toonde SØRENSEN (1965) aan, dat alcohol de ijzerretentie bij ijzerdeficiënte ratten significant verhoogt. Bij niet-ijzerdeficiënte ratten was er sprake van een niet-significante vermindering van de ijzerretentie.

Een ander aspekt vormt het ijzergehalte van alcoholische dranken. Wijnen hebben, met uitzondering van het Bantu Bier, het hoogste gehalte aan ijzer. Zo is het gehalte aan ijzer van Italiaanse rode en witte wijnen 3-7 mg Fe/liter. De retentie van ijzer uit deze wijnen is 10-20% (BERETTA ANGUSSOLA, 1970, pag. 74).

Franse wijnen – cider wijnen en wijnen uit Rennes daarbij inbegrepen – hebben een hoger gehalte nl. 6-16 mg Fe/liter (MOORE, 1964, pag. 242). Bantu bier heeft een zeer hoog gehalte aan ijzer. Dit vindt zijn oorzaak in het feit dat de drankbereiding in gietijzeren potten plaats vindt. Gemiddeld bevat het Bantu

bier 40 mg Fe/liter (met als grenzen 5–150 mg Fe per liter, BOTHWELL, 1964, pag. 364).

Bij alcoholisten treft men dikwijls een overmaat aan ijzer in het lichaam aan. POWELL (1966) konstateerde dat er een significant verschil bestond zowel in de lever-ijzer concentraties als ook in de totale lever-ijzergehalten tussen personen die gewend zijn veel alcohol te drinken en personen die weinig alcohol drinken.

1.3.4.2. De invloed van aminozuren op de retentie van ijzer

Bij ratten is gebleken dat de retentie van ijzer uit een fosfaatbuffer sneller ging indien één van de volgende aminozuren werd toegevoegd: l-methionine, l-proline, l-fenylalanine, l-serine, l-glutaminezuur, l-asparagine, l-histidine, l-ethionine en l-glutamine. Andere aminozuren dan deze werden niet getest door KROE, KINNEY, KAUFMAN en KLAVINS (1963). De aminozuren konden ingedeeld worden in drie groepen op grond van de snelheid en de hoeveelheid waarmee ^{59}Fe in het bloedplasma verscheen na de toediening van de oplossing met het aminozuur en ^{59}Fe in een geïsoleerd deel van de dunne darm van de rat.

Groep I bestond uit l-glutamine, l-glutamine-zuur en l-asparagine, die hoge ^{59}Fe waarden in het bloed veroorzaakten.

Groep II bestond uit l-methionine, l-ethionine, l-proline, l-serine en l-fenylalanine die lagere ^{59}Fe waarden in het bloed te zien gaven.

Groep III bestond uit l-histidine, met een afwijkend patroon. In het begin van het experiment was de hoeveelheid en snelheid van ^{59}Fe opname in het bloed het laagst, maar nam zodanig toe, dat aan het eind van het experiment (60 minuten) de hoogste ^{59}Fe waarden in het bloed gevonden werd van alle onderzochte aminozuren.

In 1966 vonden KROE, KAUFMAN, KLAVINS en KINNEY bij ratten, dat de grootte van het effect van aminozuren op de ijzerretentie pH afhankelijk was. Bij pH 2,0-3,5 was de ijzerretentie optimaal en het stimulerend effect minimaal. Voor ieder pH gebied was de ijzerretentie groter indien het ijzer met de aminozuren l-glutamine of l-histidine werd gegeven (alleen deze aminozuren werden in dit onderzoek betrokken), doch het effect werd groter bij hogere pH's. De uitkomsten van proeven bij mensen spreken van verschillende effecten. HALLBERG, SÖLVELL en BRISE (1966) vonden dat 1 millimol l-cysteïne-HCl wel en 1 millimol l-arginine-HCl geen stimulerend effect had op de retentie van 30 mg ferrosulfaat (= 0,54 millimol Fe^{++}).

Het effect van l-cysteïne was mogelijk het gevolg van de reducerende eigenschappen van dit aminozuur, waardoor het oxideren van het ijzer in het maag-darmkanaal werd tegengegaan.

LAYRISSE, MARTÍNEZ-TORRES en ROCHE (1968) vonden dat aminozuren van vis een sterker stimulerend effect op de retentie van ijzer uit zwarte bonen had dan de vis zelf. Indien de zwarte bonen samen met vis werden gegeten bedroeg de ijzerretentie 1,7%. Indien de vis vervangen werd door overeenkomstige aminozuren van de vis die samen met de bonen gegeven werden, bedroeg de ijzerretentie uit de zwarte bonen 3,8%. Van deze aminozuren bleken de S-houdende aminozuren verantwoordelijk te zijn voor het stimulerend effect.

1.3.4.3. De invloed van antibiotika op de retentie van ijzer

GREENBERGER, RUPPERT en CUPPAGE (1967) vonden bij ratten een remmend effect van de eiwitsynthese inhiberende antibiotika tetracycline en cycloheximide. Het remmend effect van tetracycline werd alleen gevonden bij 400 mg tetracycline per kg lichaamsgewicht. Peniciline en chloramfenicol hadden geen effect.

1.3.4.4. De invloed van ascorbinezuur op de retentie van ijzer

Er is veel bekend over de invloed van ascorbinezuur op de retentie van ijzer. Over het algemeen blijkt dat ascorbinezuur een stimulerend effect heeft. Er zijn echter een aantal restricties:

- ascorbinezuur heeft geen invloed op de retentie van heme-ijzer (TURNBULL, CLETON en FINCH, 1962);
- ascorbinezuur heeft geen invloed of nauwelijks invloed op de retentie van metallisch ijzer (ferrum reductum) (ELWOOD, 1963);
- ascorbinezuur moet ten minste aequimolair en gelijktijdig met het ijzer in het maagdarmsstelsel aanwezig zijn. (DUTHIE, CODE en OWEN, 1962; LEE, LEDWICK en SMITH, 1967; CONRAD en SCHADE, dierproeven, 1968).

Intraveneus toegediend ascorbinezuur heeft dan ook geen invloed op de ijzerretentie. Het maakt geen verschil of ascorbinezuur of ascorbinezuur bevattende vruchtendranken gebruikt worden. Het positieve effect op de ijzerretentie heeft zowel betrekking op ijzer uit voedingsmiddelen (MOORE en DUBACH, 1951; PIRZIO-BIROLI, BOTHWELL en FINCH, 1958; APTE en VENKATACHALAM, 1965; SØRENSEN, dierproeven, 1965; ELWOOD, NEWTON, EAKINS en BROWN, 1968; KUHN, LAYRISSE, ROCHE, MARTÍNEZ-TORRES en WALKER, met uitzondering van sojabonen, 1968) als op ijzer uit preparaten (BOTHWELL, PIRZIO-BIROLI en FINCH, dierproeven, 1958; DUTHIE, CODE en OWEN, dierproeven, 1962; HALLBERG, SÖLVELL en BRISE, 1966; LEE, 1967; CONRAD en SCHADE, dierproeven, 1968; HÖGLUND en REIZENSTEIN, 1969).

Een mogelijke verklaring voor het stimulerende effect is gegeven door CONRAD en SCHADE (1968). In vitro is gebleken dat ferriionen onoplosbaar worden bij pH 5, terwijl ferroionen in oplossing blijven tot pH 8. Indien ferriionen bij pH 4 met ascorbinezuur in contact komen, ontstaat een stabiele verbinding die tot pH 12 oplosbaar blijft. Voorwaarde is, dat de binding in zuur milieu plaats vindt:

$(\text{FeCl}_3 + \text{asc. zuur}) + \text{base} \rightarrow \text{oplosbaar ijzerchelaat (tot pH 12)}$.

$(\text{FeCl}_3 + \text{base}) + \text{asc. zuur} \rightarrow \text{ijzer blijft onoplosbaar}$.

Bij deze vitroprouven van CONRAD en SCHADE (1968), is tevens gebleken dat het reduceren van ferriionen door ascorbinezuur nauwelijks plaats vindt.

Volgens CONRAD en SCHADE is de belangrijkste werking van ascorbinezuur het in oplossing houden van ferriionen over een groot pH gebied. Dit zou ook verklaren waarom heme-ijzer geen effect ondervindt van ascorbinezuur: het heme-molekuul houdt het ijzer zelf gebonden. De oplosbaarheid van heme-ijzer neemt toe boven de pH 6, onafhankelijk van de aanwezigheid van ascorbinezuur.

Verder zijn nog gegevens over ascorbinezuur en ijzerretentie te vinden bij: BROWN, DUBACH en MOORE (1958) – Ascorbinezuur kan de 'mucosal block' gedeeltelijk opheffen. Dit experiment is een onderdeel van de aanval op de 'mucosal block' theorie (zie 1.3.4.20).

HOPPING en RULIFFSON (dierproeven, 1963) – Dit artikel gaat over de invloed van verschillende organische verbindingen waaronder ascorbinezuur, op het transport van ijzer door de darmwand.

HALLBERG, SÖLVELL en BRISE (1966) – Toevoeging van ascorbinezuur aan ijzerpreparaten veroorzaakte klachten bij proefpersonen.

MURRAY en STEIN (dierproeven, 1967) – Moeilijk te volgen proefopzet; geeft overzicht van diverse invloeden, waaronder ascorbinezuur, op de ijzerretentie bij ratten. Alle proeven zijn bij pH 7,2 uitgevoerd.

Bij de mens is ascorbinezuur aangetoond in het maagsap en in de gal: zie invloed van verteringszappen op de retentie van ijzer, 1.3.4.17.

1.3.4.5. De invloed van barnsteen zuur op de retentie van ijzer

Hoewel HOPPING (1963, bij dieren) en WILL en BODDY (1970) geen invloed of nauwelijks een invloed hebben kunnen aantonen van barnsteen zuur op de retentie van ijzer, zijn van Zweedse onderzoekers resultaten gepubliceerd die zij zelf omschrijven als: 'Succinic acid is the most interesting absorption promoter we have found. It seems to be the only absorption promoter which increases the absorption without increasing the side-effect'. (HALLBERG, 1970, blz. 557.)

Barnsteen zuur bevordert de ijzerretentie ook als het intraveneus wordt gegeven. De meest waarschijnlijke werking van barnsteen zuur is het bevorderen van het ijzertransport door de absorptiecellen; een transport waarvan bekend is (DOWDLE, SCHACHTER en SCHENKER, dierproeven, 1960) dat het afhankelijk is van een oxidatief metabolisme.

1.3.4.6. De invloed van brood op de retentie van ijzer

Bruin brood vermindert de retentie van ferrosulfaat niet significant indien de hoeveelheid brood vermeerderd wordt (HÖGLUND en REIZENSTEIN, 1969).

Van het natuurlijke ijzer uit wit- en bruinbrood zijn verschillende effecten gemeld. IJzer uit bruinbrood zou goed (CALLENDER en WARNER, 1970) tot matig of slecht (ELWOOD, NEWTON, EAKINS en BROWN, 1968) retineerbaar zijn. Dezelfde tegenspraak is te vinden voor de retentie van ijzer uit witbrood: slecht opneembaar volgens CALLENDER en WARNER (1968), en goed opneembaar volgens ELWOOD, NEWTON, EAKINS en BROWN (1968).

1.3.4.7. De invloed van eiwitrijke levensmiddelen op de retentie van ijzer

Eiwit kan op verschillende manieren een rol spelen bij de retentie van ijzer.

1. Tekort aan eiwit veroorzaakt een anemie dat niet verholpen kan worden door toevoeging van ijzer. HALLGREN (dierproeven, 1953) introduceerde het begrip 'low-protein anemia' hiervoor. Ook de retentie vermindert als gevolg van on-

dervoeding en eiwitgebrek (CONRAD, FOY, WILLIAMS en KNOSPE, dierproeven, 1967). Volgens KLAVINS, KINNEY en KAUFMAN (1962) is bij ratten een eiwitgehalte van 15-18% nodig om voldoende ijzer te kunnen retineren. Wanneer de rat minder eiwit aangeboden kreeg, was de ijzerretentie verminderd. Het hemoglobinegehalte daalde pas bij het 5% eiwit dieet.

2. Eiwit heeft een bufferende werking. Eiwitrijk voedsel kan een sterk zuur milieu in de maag voorkomen. Uit gegevens van BERGEIM en KIRCH (1949) is te vinden dat de pH van de maag na het nuttigen van 250-500 ml melk gemiddeld 4,0 is, terwijl de pH na het eten van 30 mg droog wit brood gemiddeld 1,7 is. Hoewel er weinig gegevens over bestaan, wordt algemeen aangenomen dat een zuur milieu in de maag een noodzaak is voor het vrijmaken van ijzer uit levensmiddelen. Een uitzondering hierop vormt heme-ijzer, dat als kompleks absorbeerbaar is (WEINTRAUB, WEINSTEIN, HUSER en RAFAL, 1968). Een zuur milieu is verder bevorderlijk voor het reduceren van driewaardige ijzerionen (BERGEIM en KIRCH, 1949; TOMPSETT, 1940) en voor het binden van niet gereduceerde ijzerionen door ascorbinezuur (CONRAD en SCHADE, dierproeven, 1968).

3. Eiwitrijke levensmiddelen kunnen componenten bevatten die de ijzerretentie beïnvloeden. Het best onderzochte levensmiddel in deze groep is het ei. Het ijzer afkomstig uit het ei zelf, is voor 1-8% retineerbaar (Moore en Dubach, 1951). Daarnaast stelden o.a. CHODOS, ROSS, APT, POLLYCOVE en HALKETT (1957) en ELWOOD (1968) vast, dat toevoeging van een ei de retentie van ijzer uit andere levensmiddelen sterk deed dalen. TOMPSETT (1940) vond bij jonge muizen dat eigeel een remmende invloed had op de ijzerretentie, onafhankelijk of het voer twee- of driewaardige ijzerionen bevatte. Van het ei-eiwit is, onder vergelijkbare omstandigheden, geen invloed gemeten. MOORE en DUBACH (1951) constateerden dat ijzer, van nature aanwezig in ei, veel beter gereteneerd werd, indien het ei in combinatie met ascorbinezuur genuttigd werd. Dit is in overeenstemming met de gedachte van CONRAD en SCHADE (dierproeven, 1968) die aan het ascorbinezuur een beschermende functie toeschreven voor twee- en driewaardige ijzerionen. Het aanzuren tot pH 1,5 met HCl had geen invloed op de retentie van ijzer uit ei. Volgens HALKETT, PETERS en ROSS (1958) is het eibestanddeel vitelline, een fosfoproteïne, verantwoordelijk voor de ijzerbinding. FITCH, HARVILLE, DINNING en PORTER (1964) vonden dat eiwit uit soyabonen de ijzerretentie bij apen remt. De auteurs veronderstelden dat het hoge fytinegehalte van soya-eiwit een mogelijke verklaring hiervoor is. In tegenstelling tot ei en soja, is kalfsvlees een eiwitrijk produkt dat een gunstig effect heeft op de retentie van ijzer. De retentie van ijzer uit kalfsvlees is zeer goed (LAYRISSE, COOK, MARTÍNEZ-TORRES, ROCHE, KUHN, WALKER en FINCH, 1969). Bovendien heeft kalfsvlees een positieve invloed op de retentie van ijzer uit andere levensmiddelen (LAYRISSE, MARTÍNEZ-TORRES en ROCHE, 1968).

4. Overige effecten. Verhoging van het calciumniveau (als gevolg van een melkgift) doet meer ijzer retineren (APTE en VENKATACHALAM, 1964). Bij ratten is gevonden dat een dieet met een hoog vet- en laag eiwitgehalte een verhoogde ijzerretentie te zien geeft (KAUFMAN, KLAVINS en KINNEY, dierproeven, 1958).

Dit dieet veroorzaakte schade aan de pancreas bij de ratten.

Over de invloed van melk op de ijzerretentie is in de literatuur weinig te vinden. Behalve het genoemde effect van de bufferende werking en de invloed van calcium op de ijzerretentie, zijn er enkele experimenten bij zuigelingen en peuters gedaan. In 1958 onderzochten SCHULZ en SMITH (1) de retentie van ijzer uit melk bij kinderen. Er werd gevonden dat kinderen die jonger zijn dan 1 jaar ijzer beter retineren dan oudere kinderen. Het maakte daarbij weinig uit of het ijzer van nature in de melk aanwezig was of aan de melk werd toegevoegd. Bij volwassenen lag het retentieniveau op 1-4%. In een ander onderzoek vonden SCHULZ en SMITH (1958, 2) dat na toevoeging van 180 ml melk de ijzerretentie bij kinderen van $\frac{1}{2}$ -2 jaar gemiddeld daalde van 15% tot 6%. GROSS, VERGIS en GOOD (1968) vonden bij een longitudinaal onderzoek bij kinderen van 0-1 $\frac{1}{2}$ jaar een verband tussen een laag eiwitgehalte van de voeding en een hoog hemoglobinegehalte en andere hematologische waarden bij het kind. Toevoeging van ferrosulfaat aan de flesvoeding was ongeschikt aan het eiwitteffect. In tegenstelling met deze gegevens staat het genoemde onderzoek van APTE en VENKATACHALAM (1964) die vonden dat een verhoogd calciumniveau (met behulp van melk) een verhoogde opname van ijzer gaf. In 1965 vond SØRENSEN dat magere melk een niet-signifikante remmende invloed had op de retentie van ijzer in vergelijking met water. Dit effect werd bij ijzerdeficiënte ratten gevonden.

1.3.4.8. De invloed van fosfaten op de retentie van ijzer

Fosfaat, afzonderlijk of toegevoegd aan voedsel, vermindert de retentie van voedselijzer of van anorganische ijzer bij normale personen (PETERS, APT en ROSS, 1955). In vitro kan fosfaat ferriionen alleen in neutraal milieu binden (pH 5,5-6,1).

De retentie van ijzer uit ijzerhoudende fosfaat-zouten, toegevoegd aan brood, is onafhankelijk van de vorm waarin deze zouten gegeven worden: ferri-ortofosfaat en natrium-ferripyrofosfaat geven dezelfde resultaten als ferrosulfaat (STEINKAMP, DUBACH en MOORE, 1955).

1.3.4.9. De invloed van fyfaten op de retentie van ijzer

Bij het beoordelen van de onderzoeken naar de invloed van fyfaten op de ijzerretentie moeten twee punten in het oog gehouden worden. Van belang is om onderscheid te maken tussen dierproeven en proeven met mensen: het enzym fytase dat fytinezuur splitst in inositol en zes fosforzuurgroepen is bij ratten in het verteringssysteem aangetoond, doch niet bij mensen. Het tweede punt betreft het fyfaat zelf. Het is gebleken dat gezuiverd natriumfyfaat een grotere remmende invloed heeft op de ijzerretentie dan het natuurlijk voorkomend fyfaat (Nutr. Rev. 1967).

Belangrijk zijn in dit verband onderzoeken geweest van HUSSAIN en PATWARDHAN (1959), APTE en VENKATACHALAN (1964), die aangetoond hebben dat een toename van calcium in het dieet het remmend effect van fosfaat en fyfaat tegengaat, zodat er meer ijzer gereteneerd wordt. Deze resultaten suggereren dat de ijzerretentie zowel afhankelijk is van het calciumgehalte als van het fyfaat-

gehalte. Het lijkt waarschijnlijk dat calciumionen, ijzerionen en fytaten wederzijds op elkaar inwerken.

FITCH, HARVILLE, DINNING en PORTER (1964) toonden aan dat apen, met soyaeiwit gevoed, na 2-7 maanden verschijnselen van ijzerdeficiënte anemie vertoonden. Deze anemie kon opgeheven worden met therapeutische doses ijzer. De auteurs spreken in het artikel hun vermoeden uit, dat het hoge fytine gehalte van soyaeiwit de retentie van ijzer verhindert. Ook havermost is rijk aan fytine en in staat de ijzerretentie te verminderen (HÖGLUND en REIZENSTEIN, 1969).

1.3.4.10. De invloed van gastrectomie op de retentie van ijzer

Volgens HALLBERG, SÖLVELL en ZEDERFELDT (1966) geeft een pylorusresektie (end-to-end hechting van maag en duodenum, Billroth I) minder stoornis van de ijzerretentie dan een maagdarm-operatie, waarbij een side-to-end hechting van de maagwand aan het duodenum plaatsvindt (Billroth II). Uit onderzoekingen van VERLOOP, LIEM en DE WIJN (1970, blz. 387) komt naar voren, dat na een Billroth II resectie, 50-70% van de personen ijzerdepleet worden. Een gedeelte hiervan, 10-25%, is anemisch. Er is een positieve correlatie tussen het aantal personen dat ijzerdeficiënt is en de tijdsduur na de operatie. Hiermede is duidelijk geworden dat een intact maag-darmstelsel met zijn vele functies een voorwaarde is voor een normale retentie van ijzer.

1.3.4.11. De invloed van de leeftijd op de retentie van ijzer

Er is een afname geconstateerd (JACOBS en OWEN, 1969) van de retentie van anorganisch ijzer bij toenemende leeftijd. Wanneer heme-ijzer gegeven wordt, is de retentie niet afhankelijk van de leeftijd. Volgens de auteurs wordt dit verschil veroorzaakt door een verminderde activiteit van de maag bij ouderen (zie ook invloed van veteringssappen op de ijzerretentie, 1.3.4.17.).

1.3.4.12. De invloed van een maaltijd op de retentie van ijzer

Het is bekend dat vele factoren in een maaltijd de retentie nadelig beïnvloeden (HEGSTED, FINCH en KINNEY, 1949; PIRZIO-BIROLI, BOTHWELL en FINCH, 1958). Dit effect is ook voor ijzerpreparaten gevonden. In 1962 toonden BRISE en HALLBERG (2) aan dat 40% minder ferrosulfaat (30 mg dosis) gereteneerd wordt als ijzertabletten met de maaltijden gegeven worden i.p.v. tussen de maaltijden.

1.3.4.13. De invloed van metaalionen op de retentie van ijzer

De duidelijkste invloed van een metaal op de retentie van ijzer wordt veroorzaakt door magnesiumverbindingen. Zowel $Mg(SiO_4)_3$ (HALL en DAVIS, 1969) als MgO (MINNICH, et al, 1968) hebben duidelijk remmende werkingen. Geen effect is gevonden van calciumchloride, kopersulfaat en natriummolybdaat (HALLBERG, SÖLVELL en BRISE, 1966) of van cobalt (BOTHWELL, PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1958). Mangaan kan het darmslijmvlies irriteren en bloedverlies veroorzaken, waardoor het lichaam ijzer verliest (DIEZ- EWALD, WEINTRAUB en CROSBY, 1968). De rol van calcium moet gezien worden in wisselwerking met fytinezuur. Indien het dieet veel fytinezuur bevat, zal een toename van calcium

in het eten de ijzerretentie gunstig beïnvloeden (APTE en VENKATACHALAM, 1964; Nutr. Rev., 1967). Weinig calcium zonder fytimezuur in het voedsel heeft geen invloed (HALLBERG, SÖLVELL en BRISE, 1966), terwijl bij ratten veel calcium in het voer de ijzerretentie tegenwerkt (DUNN, 1968).

Cobaltionen blijken een analoge retentie te hebben als ijzerionen. SORBIE, OLATUNBOSUN, CORBETT, VALBERG, LUDWIG en JONES (1971) beschrijven een eenvoudige methode om met behulp van radioactief cobalt de ijzertoestand bij de mens na te kunnen gaan.

1.3.4.14. De invloed van ondervoeding op de retentie van ijzer

Vasten en eiwit-deficiënte dieten veroorzaken bij ratten een vermindering van de ijzerretentie (CONRAD, FOY, WILLIAMS en KNOSPE, 1967). Ondervoeding geeft een verlaagde activiteit van het plasma ijzer. Dit blijkt samen te gaan met verlaagde erythropoëtische activiteit van het beenmerg (TASKER, 1959). HALLGREN (1953) toonde bij ratten aan, dat een eiwittekort, ongeacht de ijzergift, een daling van het hemoglobinegehalte te zien geeft. Een langdurig ijzertekort beperkt de mogelijkheid om hemoglobineijzer te retineren bij kinderen. Na deze bevinding hebben KIMBER en WEINTRAUB (1968) dit verschijnsel uitgebreid bij honden onderzocht. Er werden nu zowel ijzerzouten als hemoglobineijzer bij het onderzoek betrokken; zij vonden ook nu dat de ijzerretentie van beide typen ijzerverbindingen duidelijk terugliep na een periode van ijzerdeficiëntie die 5 maanden duurde.

1.3.4.15. De invloed van de pH op de retentie van ijzer

Wanneer een ijzeroplossing van pH 7 door middel van een ingreep de darm wordt ingevoerd, wordt er geen tweewaardig of driewaardig ijzer gereteneerd (DUTHIE, CODE en OWEN, dierexperiment, 1962). Toevoeging van ascorbinezuur maakt de retentie van Fe^{2+} mogelijk, in mindere mate ook de retentie van Fe^{3+} . Aanzuren van de oplossing tot pH 2 doet de ijzerretentie toenemen. KROE, KAUFMAN, KLAVINS en KINNEY (1966) vonden bij ratten een maximale retentie van ijzer in het duodenum bij pH 2,0-3,5. Deze gegevens duiden erop dat de ijzerretentie het best verloopt in het deel van de darmen met de hoogste zuurgraad, nl. het duodenum.

De pH in de dunne darm stijgt waarschijnlijk snel als gevolg van gal en pancreasafscheidingen (GEEVER, KAN en LEVENSON, 1968). De aanwezigheid van stoffen die speciaal driewaardig en in mindere mate ook tweewaardig ijzer bij pH 7 in oplossing kunnen houden, zoals ascorbinezuur, lijken dan ook belangrijk voor de absorptie van ijzer, omdat dan een groter deel van de darmen ijzer kan opnemen.

Heme-ijzer ondergaat deze invloeden niet, daar dit complex grotendeels intact opgenomen en juist beter oplosbaar wordt bij hogere pH (CONRAD, 1970).

1.3.4.16. De invloed van suikers op de retentie van ijzer

Suikers hebben over het algemeen weinig invloed op de ijzerretentie. KRAUS en JENNER (1970) vonden een toenemende retentie van 30 mg ijzer, indien toe-

nemende hoeveelheden fructose gegeven werden aan personen. Met glucose werd geen effect gevonden. Wanneer 2,6 gram fructose gegeven werd samen met de 30 mg ijzer, werd de ijzerretentie verdubbeld in vergelijking met een dosis van 30 mg ijzer samen met 2,6 gram glucose. Fructose heeft ook volgens POLLACK, KAUFMAN en CROSBY (dierproeven, 1964) en BRODAN, BRODANOVÁ, KUHN, KORDAČ en VÁLEK (1967) een positieve invloed, hoewel HALLBERG, SÖLVELL en BRISE (1966) dit met de dubbel-isotopen techniek niet vonden. Zij vonden wel een positief effect van mannitol, sorbitol en xylose. AMINE en HEGSTED (1971) vonden, dat wanneer de koolhydraten in het dieet bij ratten gevarieerd werden, de volgorde van ijzerretentie (van hoog naar laag) de volgende werd: laktose, laktose en zetmeel, saccharose, glucose en zetmeel, met significante ($P < 0,05$) verschillen in de ijzerretentie.

De invloed van suikers kan als volgt verklaard worden: suiker wordt in de opnamecellen gemetaboliseerd en kan daardoor energie leveren voor de ijzerretentie (POLLACK, KAUFMAN en CROSBY, 1964). Een andere verklaring is afkomstig van HALLBERG, SÖLVELL en BRISE (1966): de suikers mannitol, sorbitol en xylose veroorzaken darmstoornissen, gepaard gaande met versnelde darmbeweging. Volgens deze auteurs moet er een verband bestaan tussen de vermelde darmassage, waardoor in dit geval ferroionen over een groot darmgebied worden gebracht, en de grotere ijzerretentie. De best retineerbare ijzer-suiker verbinding is ferrolaktaat. Deze verbinding is na ferrosuccinaat het best opneembaar (HALLBERG, 1970, pag. 554).

1.3.4.17. De invloed van verteringssappen op de retentie van ijzer

Het verteringssysteem heeft een groot aantal functies. Vele van deze functies hebben direkt of indirekt invloed op de retentie van ijzer. Na de vele publikaties over dit onderwerp is het waarschijnlijk geworden dat er geen orgaan of afscheiding is, die een dominerende rol vervult in de regulatie van de ijzerretentie. Alle onderzochte factoren hebben een beperkte invloed op de ijzerretentie en het is tenslotte de som van een groot aantal factoren, zoals de samenstelling van het voedsel, de inwerking van verteringssappen op het voedsel, het functioneren van mond, maag en darmen en tenslotte de ijzerbehoefte van het lichaam zelf, die bepalen hoeveel ijzer door het lichaam gereteneerd wordt en hoeveel ijzer het lichaam weer verlaat.

Speeksel

Door het voedsel te kauwen wordt het eten verkleind en wordt de mogelijkheid van verder verteren versneld. Speeksel blijkt een reducerende werking te hebben. Met speeksel alleen wordt ferrichloride voor 5% gereduceerd. Het percentage gereduceerd ijzer is hoger (22-47%) wanneer het ijzerzout tegelijk met brood wordt gegeven. Het reducerend vermogen van speeksel ligt 's ochtends hoger dan 's avonds (JOHNSTON en CLARK, 1959).

Maagsap

Driewaardige ijzerionen kunnen met brood, vlees en groenten in de maag voor

15-50% gereduceerd worden. Indien de ionen samen met melk of eieren gegeven worden, wordt 0-40% gereduceerd. De pH van de maag bereikt, afhankelijk van de samenstelling van het voedsel, pH waarden van 2-3 met als grenzen pH 1,4-7,5 (BERGEIM en KIRCH, 1949). Er zijn verschillende componenten geïdentificeerd die een invloed hebben. Zoutzuur maakt ijzer vrij uit voedsel (geldt niet voor hemeverbindingen), zodat de vrijgekomen ijzerionen andere verbindingen kunnen aangaan (CONRAD en SCHADE, dierproeven, 1968; JACOBS en GREENMAN, vitro-proeven, 1969). Maagsap bevat kleine hoeveelheden ascorbinezuur (PETERS en MARTIN, 1937) dat vrijgemaakt driewaardig ijzer in een stabiele oplossing kan houden (CONRAD en SCHADE, 1968). De intrinsieke factor (noodzakelijk voor vitamine B12 opname) bevordert de retentie van heme, maar heeft geen invloed op anorganisch ijzer.

De overeenkomst in structuur van heme en vitamine B12 maakt dit volgens WAXMAN, PRATT en HERBERT (1968) begrijpelijk. Er is ook melding gemaakt van een absorptieremmende factor, die bij normale personen is gevonden, doch niet bij mensen met ijzerdeficiëntie en hemachromatose patiënten. DAVIS, LUKE en DELLER (1966) en LUKE, DAVIS en DELLER (1967) noemen deze stof gastroferrine. Deze component is door WINTER en WILLIAMS (1968) niet gevonden en de werking ervan is door MORGAN, WEIR, GATENBY en SCOTT (1969) anders geïnterpreteerd. Het is de vraag wat het belang is van deze factor (CONRAD, 1970).

Gal

Gal bevordert de retentie van ijzer, omdat het rijk is aan ascorbinezuur en andere reducerende componenten (HAFKESBRING en FREEMAN, 1952; CONRAD en SCHADE, 1968).

Afsluiting van het galkanaal vermindert de retentie van zowel FeCl_2 als van FeCl_3 bij ratten (CONRAD en SCHADE, 1968). Dit effect is bij driewaardig ijzer het duidelijkst en is verdwenen bij ijzerdeficiënte ratten die tweewaardig ijzer kregen. Bij honden hebben WHEBY, CONRAD, HEDBERG en CROSBY (1962) aangetoond dat gal de ijzerretentie stimuleert. Er was geen verschil in werking van de gal van ijzerdeficiënte en normale honden.

Pancreassap

Afscheidingsprodukten van de pancreas in het duodenum hebben een pH van 7,5-8,0 en bevatten bicarbonaat (HALLY en LLOYD, 1969). De remmende werking van de pancreasafscheiding op de ijzerretentie is door vele onderzoekers gekonstateerd (zie overzichtsartikel van CONRAD, 1970). De verhoging van de pH, waardoor de oplosbaarheid van ferriionen snel vermindert (reeds bij pH 3-4) en de afscheiding van bicarbonaat waardoor ferroionen polymeriseren en niet meer absorbeerbaar zijn, zijn de voornaamste remmende invloeden. Een dieet dat rijk is aan vet en weinig eiwit bevat, veroorzaakt bij ratten schade aan de pancreas en een verhoogde ijzerretentie (KAUFMAN, KLAVINSEN KINNEY, 1958).

Hoewel in principe ieder deel van de darmen in staat is ijzer op te nemen (MURRAY, DELANEY en STEIN, dierproeven, 1964), is als gevolg van fysiologische

omstandigheden, zoals pH stijging, de absorptie van ijzer in het duodenum en eerste gedeelte van het jejunum het grootst; de absorptie in de ileum en colon is zeer gering (WALSH en CANTRILL, dierproeven, 1961; HEMMATI, 1968).

1.3.4.18. De invloed van vetten op de retentie van ijzer

Er zijn verschillende effecten gevonden van vet op de ijzerretentie. KAUFMAN, KLAVINS en KINNEY (1958) gaven aan ratten een dieet van 60% vet en 10% eiwit. Er werd een verhoogde ijzerretentie gekonstateerd (hoofdzakelijk afgezet in de lever) als gevolg van afwijkingen aan de pancreas. Een stimulerend effect werd ook door andere onderzoekers gevonden. AMANO (1963, 2, dierproeven) vond een positief effect van maisolie. Eveneens in dierproeven vond SØRENSEN (1965) dat room evenals glucose in vergelijking met eiwit en water de ijzerretentie stimuleerde. Dit effect werd bij ijzerdeficiënte en niet-ijzerdeficiënte ratten gevonden. HIROOKA, IKEDA en KUBOTA (1968) meetten een verhoogde ijzerretentie na een dieet dat 6% sojaolie bevatte.

CONRAD, FOY, WILLIAMS en KNOSPE (1967) vonden weinig verandering in de ijzerretentie bij ratten als het vet uit de voeding werd weggelaten. DUNN (1968) vond een geringe verandering in de ijzerhuishouding bij ratten als 20% dierlijk vet aan het dieet werd toegevoegd. De ratten die vet kregen hadden minder ijzer in de milt dan de controlegroep. Het ijzerniveau van de lever was gelijk gebleven.

BRODAN, BRODANOVÁ, KUHN, KORDAY en VÁLEK (1967, 2) vonden een remmend effect op de ijzerretentie als ijzerionen samen met slagroom werden ingenomen. Nevenverschijnselen hierbij waren: verminderde HCl produktie en een verhoogde pancreas uitscheiding. HÖGLUND en REIZENSTEIN (1969) vonden geen verandering in de retentie van ferroionen als room aan havermost werd toegevoegd.

AMANO (1963, 1) onderzocht de retentie van een ijzer-vetzuur verbinding. AMANO vond dat het ijzer direkt afgesplitst werd onder invloed van het zuur van de maag. In de darmen werden ijzerionen en vetzuur afzonderlijk opgenomen. Er blijken dus tegenstrijdige effecten gevonden te zijn. Het lijkt erop dat er in het darmkanaal geen direkte binding mogelijk is van ijzerionen en vetzuren en dat vetten indirecte effecten veroorzaken die een invloed kunnen hebben. Genoemd zijn al de verminderde HCl produktie van de maag en de invloed op de pancreas afscheiding. Mogelijk kunnen ook galuitscheiding en contracties van maag en darm een rol spelen.

1.3.4.19. De invloed van vitamines op de retentie van ijzer

Ascorbinezuur blijkt een duidelijke invloed te hebben op de ijzerretentie. De beschrijving hiervan is te vinden bij: Invloed van ascorbinezuur op de retentie van ijzer, 1.3.4.4. Andere vitamines spelen minder duidelijk een rol. HALLBERG, SÖLVELL en BRISE (1966) vonden geen invloed van thiamine-HCl of van natriumriboflavine-5-fosfaat. Van het vitamine E wordt wel een effect genoemd, hetzij gunstig werkend op de retentie (Fujii, Matsuki en Hasegawa, 1968), hetzij korrigerend werkend ten aanzien van de hematologische waarden in het lichaam (RITCHIE, FISH, MCMASTERS en GROSSMAN, 1968).

1.3.4.20. De invloed van de hoeveelheid ijzer in de darmwandcellen op de retentie van ijzer

De belangstelling voor de invloed van de hoeveelheid ijzer in de darmwandcellen op de ijzerretentie is eigenlijk begonnen in 1943 toen HAHN, BALE, ROSS, BALFOUR en WHIPPLE (1943) aan de hand van experimenten met 3 honden, hun 'mucosal block' theorie naar voren brachten. Zij namen waar dat de ijzerretentie snel afnam als voorafgaand aan de retentiemeting een grote dosis ijzer oraal gegeven werd. Dit effect is 26 jaar later door HÖGLUND (1969) bij mensen eveneens geconstateerd. Het remmende effect is tijdsafhankelijk: hoe groter het tijdsverloop tussen de blokkerende dosis en de retentiemeting, hoe geringer het effect zal worden. Voor honden is het remmend effect na 20 uur uitgewerkt (STEWART, YUILE, CLAIBORNE, SNOWMAN en WHIPPLE, 1950). Bij mensen is na enkele dagen het remmend effect grotendeels verdwenen (HÖGLUND, 1969).

Bij ratten is aangetoond dat bij drie verschillende ijzertoestanden van het organisme, te weten: ijzerovermaat, ijzerdeficiëntie en normale hoeveelheden ijzer, er ook drie, met de genoemde ijzertoestand overeenkomende hoeveelheden ijzer in de absorptiecellen van het duodenum aangetoond kunnen worden (CONRAD en CROSBY, 1963). De auteurs beweren dat bij ijzerovermaat het ijzerontvangmechanisme in deze cellen verzadigd is met ijzer uit het lichaam. Dit ijzerniveau in de cellen belemmert dan opname van ijzer uit het voedsel. In het normale geval, is het ijzerontvang-mechanisme gedeeltelijk onverzadigd, zodat kleine hoeveelheden voedselijzer de cellen binnen kunnen komen. Een gedeelte hiervan wordt verder in het lichaam getransporteerd, en een gedeelte blijft in de absorptiecellen en gaat verloren met het afstoten van deze cellen en wordt niet opgenomen. De auteurs zijn dus van mening dat het ijzergehalte van het epithelium (= absorptiecellen) van de darmen een belangrijke rol speelt in de regulatie van het ijzerevenwicht (CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY, 1964). Het ijzergehalte van cellen zou afhankelijk zijn van de ijzertoestand van het lichaam, zodat eigenlijk de ijzervoorraad van het lichaam via de absorptiecellen het niveau van de ijzerretentie regelt.

De overeenkomst tussen de 'mucosal block' theorie van HAHN, BALE, ROSS, BALFOUR en WHIPPLE (1943) en de gedachten van CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY (1964) bestaan uit het toekennen van een relatieve ijzerretentie afhankelijk van de ijzerstatus van de absorptiecellen. Het verschil tussen beide onderzoekers bestaat hierin dat volgens HAHN, BALE, ROSS, BALFOUR en WHIPPLE (1943) het ijzerniveau van de darmwandcellen bepaald wordt door het ijzerniveau van de voeding, terwijl CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY (1964) zeggen, dat de ijzerstatus van het lichaam het ijzerniveau van de absorptiecellen bepaalt.

In normale gevallen dat het ijzer van onze voeding weinig varieert is de uitleg van CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY (1964) het best toepasbaar. In abnormale gevallen, zoals die zich kunnen voordoen bij het innemen van ijzerpreparaten, geldt de 'mucosal block' theorie.

Er bestaat overigens enige kritiek op de term 'mucosal block'. Van een volledige blokkering van de ijzerretentie is nl. nooit sprake (BROWN, DUBACH en MOORE, 1958).

1.3.4.21. De invloed van een tekort aan ijzer in het lichaam op de retentie van ijzer

Mensen en proefdieren met een tekort aan ijzer retineren meer ijzer uit het voedsel en uit ijzerhoudende testoplossingen dan ijzerreplete mensen (resp. dieren) (AUSTONI en GREENBERG, dierproeven, 1940; CHODOS, ROSS, APT, POLLYCOVE en HALKETT, 1957; BOTHWELL, PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1958; PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1960; TURNBULL, CLETON en FINCH, 1962; BANNERMAN, O'BRIEN en WITTS, 1962; CONRAD en CROSBY, 1963; KAUFMAN, POLLACK en CROSBY, 1966; KIMBER en WEINTRAUB, 1968). De gevoeligste parameter voor ijzerhonger blijkt de ijzerretentiemeting te zijn, die gevoeliger is dan hematologische parameters. (PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1960; HÖGLUND, 1970.)

Er is onlangs een cobaltretentie methode beschreven door SORBIE, OLATUNBOSUN, CORBETT, VALBERG, LUDWIG en JONES (1971). Er lijkt een grote overeenkomst te bestaan tussen ijzerretentie en cobaltretentie. De meting met cobalt heeft daarbij het voordeel dat de bepaling sneller en gemakkelijker uit te voeren is, daar het niet gereteneerde cobalt binnen 24 uur met de urine uitgescheiden wordt.

1.3.4.22. De invloed van een overschot aan ijzer in het lichaam op de retentie van ijzer

De ijzerretentie wordt beïnvloed door de grootte van de ijzervoorraad in het lichaam. Hoe groter de ijzervoorraden zijn, des te minder ijzer wordt er gereïneerd (CHODOS, ROSS, APT, POLLYCOVE en HALKETT, 1957; BOTHWELL, PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1958; PIRZIO-BIROLI en FINCH, 1960; CONRAD, WEINTRAUB en CROSBY, 1964). De ijzerretentie is wel verminderd indien er veel ijzer in het organisme opgeslagen is, maar kan nooit geheel geblokkeerd worden (STEWART, YUILE, CLAIBORNE, SNOWMAN en WHIPPLE, 1950). In geval er veel ijzer in het lichaam aanwezig is, kan er een negatieve ijzerbalans ontstaan, doordat er meer ijzer wordt uitgescheiden dan er wordt gereïneerd. Het lichaam kan ijzer uitscheiden via het darmepitheel. De uitscheiding is gelimiteerd en bedraagt enkele milligrammen per dag (CROSBY, CONRAD en WHEBY, 1963).

Het belangrijkste ijzerverlies gaat samen met bloedverlies. Honderd milliliter bloed bevat ongeveer 40-60 mg ijzer, afhankelijk van de hemoglobineconcentratie. Aderlating is dan ook een veel toegepaste manier om ijzer uit het lichaam te halen.

1.3.5. Enkele opmerkingen ten aanzien van de beschreven onderzoeken

Nadat AUSTONI en GREENBERG (dierproeven, 1940) het gebruik van ijzerisotopen introduceerden zijn zeer veel ijzerretentiestudies verricht. Het vergelijken van de gegevens die deze onderzoeken opgeleverd hebben, vormt vaak een probleem. Dit vindt o.a. zijn oorzaak in het feit dat zeer vele factoren een rol spelen bij de retentie van ijzer. Indien men gaat vergelijken is het nuttig om o.a. de volgende proefomstandigheden in het oog te houden:

- Zijn de proeven met dieren (welke?) of met mensen (patiënten?) gedaan?
- Is de invloed op korte dan wel op lange termijn onderzocht?

- Welke ijzerverbinding is gebruikt?
- Wat is de waardigheid van de gebruikte ijzerverbinding?
- Hoeveel ijzer is er gebruikt?
- Hoe is het ijzer toegediend?
- Welke komponent(en) is (zijn) toegevoegd aan de ijzerverbinding?
- Volgens welke methode wordt de ijzerretentie bepaald?

De proefomstandigheden zijn bij het ijzeronderzoek zó belangrijk gebleken, dat iedere konklusie direkt aan die proefomstandigheden gekorreleerd moet worden. Indien dit niet gedaan wordt, kunnen gemakkelijk misverstanden ontstaan. Een - bijna reeds klassiek - voorbeeld hiervan is de reeds van opmerkingen voorzien 'mucosal block' theorie (1.3.4.20). De meer recente onderzoekingen van DAVIS, LUKE en DELLER (1966) en LUKE, DAVIS en DELLER (1967) betreffende het gastroferrine, kunnen ook gemakkelijk aanleiding geven tot misverstand. De drie auteurs hebben gevonden dat er in vitro meer ijzer wordt gebonden door het gastroferrine in het maagsap van ijzerreplete dan van ijzerdeficiënte mensen. Zij konkludeerden hieruit, dat het gastroferrine een belangrijke, zo niet de belangrijkste rol speelt bij de regulatie van de ijzerretentie. Hun bevindingen zijn ongetwijfeld juist, doch hun konklusie blijft mijns inziens spekulatief zolang de retentie van het ijzergastroferrine complex niet is onderzocht.

2. DIALYSE EXPERIMENTEN

2.1. INLEIDING

In vitro is nagegaan hoe ijzerionen zich gedragen wanneer ze in contact gebracht worden met de verschillende voedingsbestanddelen: zacht gekookt ei, karnemelk, melk, bruinbrood, kokosvet, maisolie en rundvet. In de vitroproeven is tevens nagegaan hoe de ijzerionen zich ten opzichte van de verschillende rattedieten gedragen.

Om er achter te komen of er al dan niet een binding tot stand kan komen, zijn dialyse experimenten uitgevoerd. De uitkomsten van deze proeven kunnen tot de volgende overweging leiden: indien er geen enkele binding optreedt tussen ijzerionen en de te onderzoeken component, is er in vivo geen rechtstreekse interactie te verwachten van de component op de ijzeropname; indien er wel een ijzer-komponent verbinding tot stand kan komen, is de mogelijkheid van een rechtstreekse interactie niet uitgesloten.

Enkele proeven zijn zowel met twee- als met driewaardige ijzerionen ingezet. Het betreft de proeven met gepasteuriseerde melk, rauwe melk, ondermelk en verse wei. Deze proeven zijn gedaan naar aanleiding van gegevens in de literatuur (BLANC, MAGNENAT en DELALOYE, 1970; GROVES, 1960, 1971) over het voorkomen van ijzerbindende componenten in de melk. De vetten zijn, vermengd met het rattedieet, in contact gebracht met driewaardige ijzerionen. Daar de ontbinding van de vetten grotendeels in de darmen plaats vindt, mag aangenomen worden dat de vetten ook met gereduceerde ijzerionen in contact kunnen komen. Daarom is tevens nagegaan of er een binding met tweewaardige ijzerionen tot stand gebracht kan worden. De overige proeven zijn met driewaardige ijzerionen uitgevoerd, omdat algemeen wordt aangenomen (DEN HARTOG, 1969, pag. 188), dat het ijzer in de voeding in geoxideerde toestand voorkomt.

2.2. MATERIAAL

⁵⁹Fe als ferricitraat, 1 FS-2P Amersham, Engeland.

Ferricitraat (E. Merck, Erg. B. 6).

Citroenzuur.

Oplossing van NaOH en HCl 1N (eventueel te verdunnen).

No. 4465-A2 Dialyser tubing, cellulose, Arthur H. Thomas Company, Philadelphia, U.S.A. Diameter inflated 27/32 inch. (Fa. Proton, Amsterdam).

50 ml en 300 ml polytheen wijdhalsflessen met dubbelafdichtende schroefdop (Fa. Emergo, Landsmeer).

Schudmachine (eigen fabrikaat).

pH-meter, Elektrofakt type 53A met gekombineerde elektrode 7GR 111.

Philips γ spectrometer, PW 4280 amplifier/analyser.
Nylon koord 0,3 mm diameter.
Ei, gepasteuriseerde melk en karnemelk, rundvet, maisolie, kokosvet, de verschillende diervoeren.
De verzuursamenstelling van het gebruikte rundvet, maisolie en kokosvet is in fig. 24, blz. 35 aangegeven.
Gedemineraliseerd water.
Reducerende metoloplossing (SCHOUWENBURG, 1965).
Glaswerk, vrij van radioactief ijzer.
Plastik injectiespuit van 10 ml inhoud.
Bovenweger, Satorius type 2254, aflezing op tientallen van milligrammen.

2.3. UITVOERING VAN DE DIALYSE EXPERIMENTEN

De experimenten zijn uitgevoerd op het ITAL (Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw). Het dialyseren heeft plaats gevonden in afgesloten plastik flessen, die op een schudmachine bevestigd waren. In de plastik fles bevonden zich een waterige oplossing en een dichtgebonden zakje. De wand van het zakje is semi-permeabel. De hoeveelheid materiaal in het zakje en de hoeveelheid vloeistof in de fles waar het dialyse zakje in komt te liggen, is bepaald op een bovenweger. De ^{59}Fe bevattende vloeistof is toegevoegd met een plastik injectiespuit. Omdat er dagelijks met veel verschillende oplossingen gewerkt is en de plastik injectiespuiten gemakkelijk te reinigen of weggedaan konden worden, betekende deze radiologisch veilige werkwijze een grote tijdsbesparing op de uitvoering van de proef. Deze methode maakte bovendien zeer nauwkeurig werken mogelijk. De wand van het zakje heeft openingen van gemiddeld 48 Å en is permeabel voor water en in water oplosbare molekulen met een molekulgewicht < 12.000 . In water onoplosbare verbindingen zoals vetten en oliën kunnen de wand niet passeren.

In de plastik fles komt het dialyse zakje in zoveel water te liggen, dat de ijzeroplossing $10\times$ verdund kan worden indien er voor de ijzerionen geen hindernissen bestaan om zich over de vloeistof binnen en buiten het dialyse zakje te verdelen. Tijdens de uitvoering van de experimenten bleek dat de ijzerionen niet onder alle omstandigheden de semipermeabele membraan kunnen passeren. Er vindt polymerisatie plaats van driewaardige ijzerionen (met citraat als tegenion), in een oplossing waarvan de pH hoger is dan 4. Onder dezelfde omstandigheden kunnen tweewaardige ijzerionen bij pH 5,5 en hoger, gedeeltelijk de wand niet meer passeren. Het polymeriseren neemt geleidelijk toe wanneer de pH stijgt en bij pH 8 zijn praktisch alle ijzerionen in een netwerk gebonden. Dit netwerk blijft in oplossing: er blijkt geen neerslag te ontstaan.

Ieder dialyse experiment is in verband met de pH afhankelijke deeltjesgrootte van de ijzerionen vergeleken met 'blanko' dialyse proeven die bij dezelfde pH werden uitgevoerd, zonder toevoeging van de komponent. Het gedeelte van de

TABEL 1. Overzicht van de uitgevoerde dialyse proeven.

Onderzochte component	Valentie ijzerion	Hoeveelheid component
Gepasteuriseerde melk	2+, 3+	3 g + 2 g water
Rauwe melk	2+, 3+	idem
Ondermelk	2+, 3+	idem
Verse wei	2+, 3+	idem
Karnemelk	3+	idem
Ei-eiwit	3+	idem
Eigeel	3+	idem
Eigeel + dooiervlies	3+	idem
Kokosvet	2+	2 g + 5 g water
Rundvet	2+	idem
Maisolie	2+	idem
Kontrôle voer + water	3+	0,5 g + 9,5 g water
Kontrôle voer + zacht gekookt ei	3+	0,5 g + 9,5 g water
Kontrôle voer + karnemelk	3+	0,5 g + 9,5 g karnemelk
Kontrôle voer + melk	3+	0,5 g + 9,5 g melk
Kontrôle voer + gedroogd brood	3+	0,5 g + 9,5 g water
Kontrôle voer + gedroogd brood + HB	3+	idem
Kontrôle voer + kokosvet	3+	idem
Kontrôle voer + maisolie	3+	idem
Kontrôle voer + rundvet	3+	idem
Zetmeel	2+	0,5 g + 5 g water
Isotonische suspensie van darmwandcellen	2+	0,1 g + 5 g isotonische zoutoplossing

ijzerionen dat bij de gemeten pH de dialyse wand kan passeren, wordt oplosbaar en niet gebonden geacht en op 100% gesteld.

2.3.1. Werkwijze

Een \pm 20 cm lang stuk slang wordt droog gewogen, daarna geweekt en gespoeld in gedemineraliseerd water. Het materiaal is in natte toestand zeer soepel. Met een knoop wordt één uiteinde dicht gemaakt. Men opent de dialyse slang door er lucht in te blazen en wordt vervolgens gevuld. Plastik fles en zakje worden nu op de bovenweger geplaatst en het zakje wordt gevuld met de gewenste hoeveelheid materiaal en radioactieve ijzeroplossing. Het open einde wordt dan met een knoop gesloten. Indien er weinig ruimte is voor een knoop, kan het open gedeelte dicht gesnoerd worden met een nylon draad. Het aldus gesloten dialyse zakje wordt in de plastik fles gelegd.

In de fles bevindt zich reeds een op de gewenste pH gebrachte waterige (niet gebufferde) oplossing. De pH van de oplossing binnen het dialyse zakje en in de plastik fles zijn met elkaar in overeenstemming gebracht. De hoeveelheid vloeistof in het dialyse zakje is 1/9 van de hoeveelheid vloeistof buiten het zakje, zodat de radioactieve ijzeroplossing maximaal 10 \times verdund kan worden. De plastik fles wordt luchtdicht gesloten en liggend in een schudmachine geplaatst. Na 24 uur schudden bij kamertemperatuur worden de pH en de concentratie

van radioactief ijzer buiten het dialyse zakje gemeten. Deze beide bepalingen leveren gegevens op voor het percentage ijzer dat in het dialyse zakje achter is gebleven en de pH waarbij het evenwicht bereikt werd. De uitkomsten zijn grafisch weergegeven in figuur 2 t/m 23. Tabel 1 geeft een overzicht van de uitgevoerde experimenten.

2.4. UITKOMSTEN

2.4.1. *Nadere beschouwing*

Uit de resultaten (fig. 2 t/m 23) is af te leiden, dat er geen irreversibele binding aangetoond is, met uitzondering van een eigeel-ijzerion binding (fig. 8 en 9) bij pH 4. Indien ijzerionen zich irreversibel verbinden met de komponent, die de ruimte binnen het dialyse zakje niet verlaten kan, betekent dit dat de ijzerionen zich niet meer kunnen verdelen over de ruimten binnen en buiten het dialyse zakje. In geval van zo'n irreversibele binding zullen alle of praktisch alle ijzerionen, gekoppeld aan de komponent, zich in het dialyse zakje bevinden, tenzij de komponent een tekort aan bindingsplaatsen voor ijzerionen heeft. Om de laatst genoemde mogelijkheid uit te sluiten, werden de dialyse experimenten in eerste instantie allemaal uitgevoerd met sporen radioactief ijzer. Enkele gamma's ijzerionen werden samengebracht met enkele grammen melk of andere produkten. Het is echter niet uitgesloten dat, ondanks de lage ijzerionenconcentratie, de aanwezige bindingsplaatsen toch bezet worden. Deze mogelijkheid is niet verder onderzocht, daar zo'n geringe bindingscapaciteit geen belangrijke gevolgen meer kan hebben voor de ijzerabsorptie.

De verdeling van de ijzerionen over beide ruimten, zoals die in bijna alle gevallen is vastgesteld, wordt hierna nader toegelicht. De gevonden verschijnselen sluiten een reversibele, pH afhankelijke, affiniteit van ijzerionen voor de onderzochte componenten niet uit.

2.4.2. *De affiniteit van ijzerionen voor melkeiwitten*

Bij de dialyse experimenten konden geen componenten aangetoond worden die een irreversibele binding met ijzerionen aangaan. De waarnemingen maken waarschijnlijk dat er een voorkeur bestaat van de ijzerionen om zich in de nabijheid van eiwitten op te houden. Deze voorkeur voor eiwitten is sterk pH afhankelijk, wat begrijpelijk is gezien het amfotere karakter van de eiwitmolekules en de instabiliteit van de ijzerionen in neutraal milieu.

De affiniteit van het ijzerion voor eiwit is bij pH 4–5,5 het grootst. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat eiwitmolekules bij deze pH de minste lading hebben (pH in de buurt van het isoelektrisch punt). Bij $\text{pH} < 4$ wordt de lading van eiwit positief. Naarmate de positieve lading van eiwitten groter wordt, neemt de affiniteit tot de positieve ijzerionen af. In neutraal en basis milieu ($\text{pH} > 5$) wordt het ijzerion onoplosbaar en is er van een ijzer-eiwit interactie geen sprake meer. De waardigheid van de ijzerionen (fig. 2 t/m 5) heeft een geringe invloed op de verdeling van de ijzerionen over beide ruimten. Het type eiwit heeft ook weer invloed op deze verdeling. De ijzerionen hebben een ge-

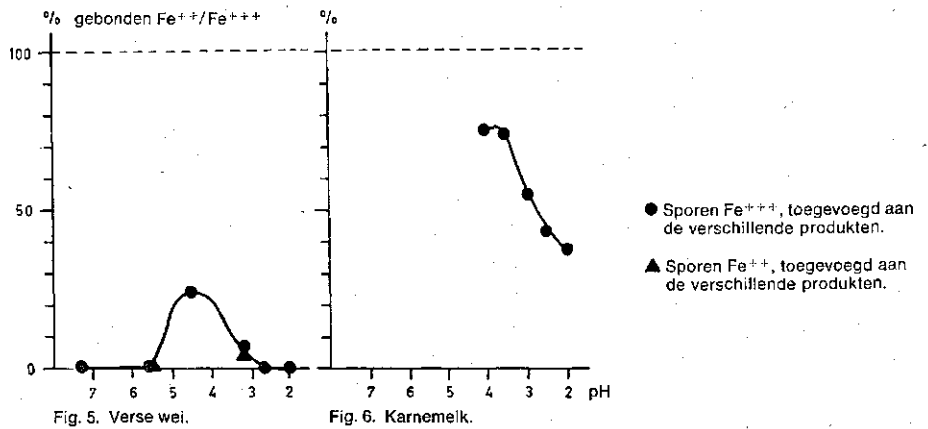
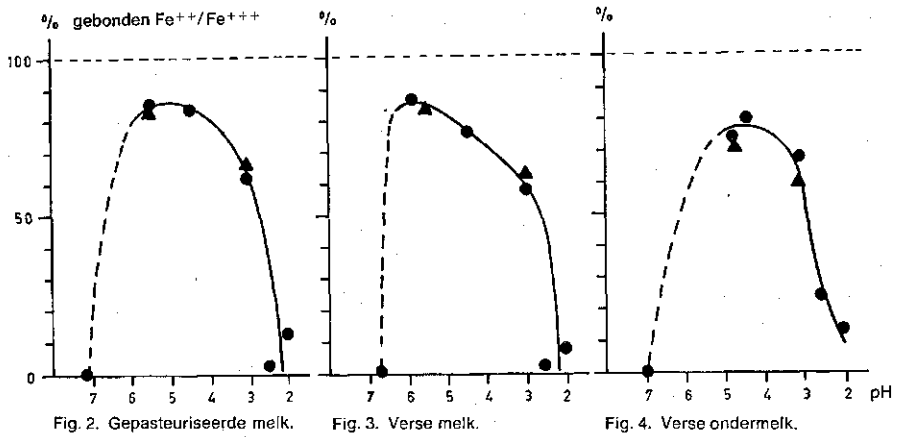


FIG. 2 t/m 6. De affiniteit van de verschillende produkten voor ijzerionen.

ringe affiniteit voor wei-eiwitten (fig. 5). DE GROOT (1972) vond dat verschillende geïsoleerde eiwitfrakties van koemelk eveneens geen irreversibele binding met ijzerionen aangaan. De proefopzet van de experimenten van DE GROOT (1972) is analoog aan die van de auteur.

2.4.3. De affiniteit van ijzerionen voor een rauw ei

Eigeel is in staat de toegevoegde ijzerionen bij pH 4–5 te binden (fig. 8 en 9). Zowel sporen ijzerionen als 1 mg ijzerionen per 5 gram eidooier worden bij pH 4–5 volledig gebonden. De bindingscapaciteit van de eidooier blijkt bij 50 mg Fe per 5 gram dooier overschreden te zijn. Deze ijzerbinding wordt niet gevonden in het deel van het ei dat doorgaans eiwit wordt genoemd.

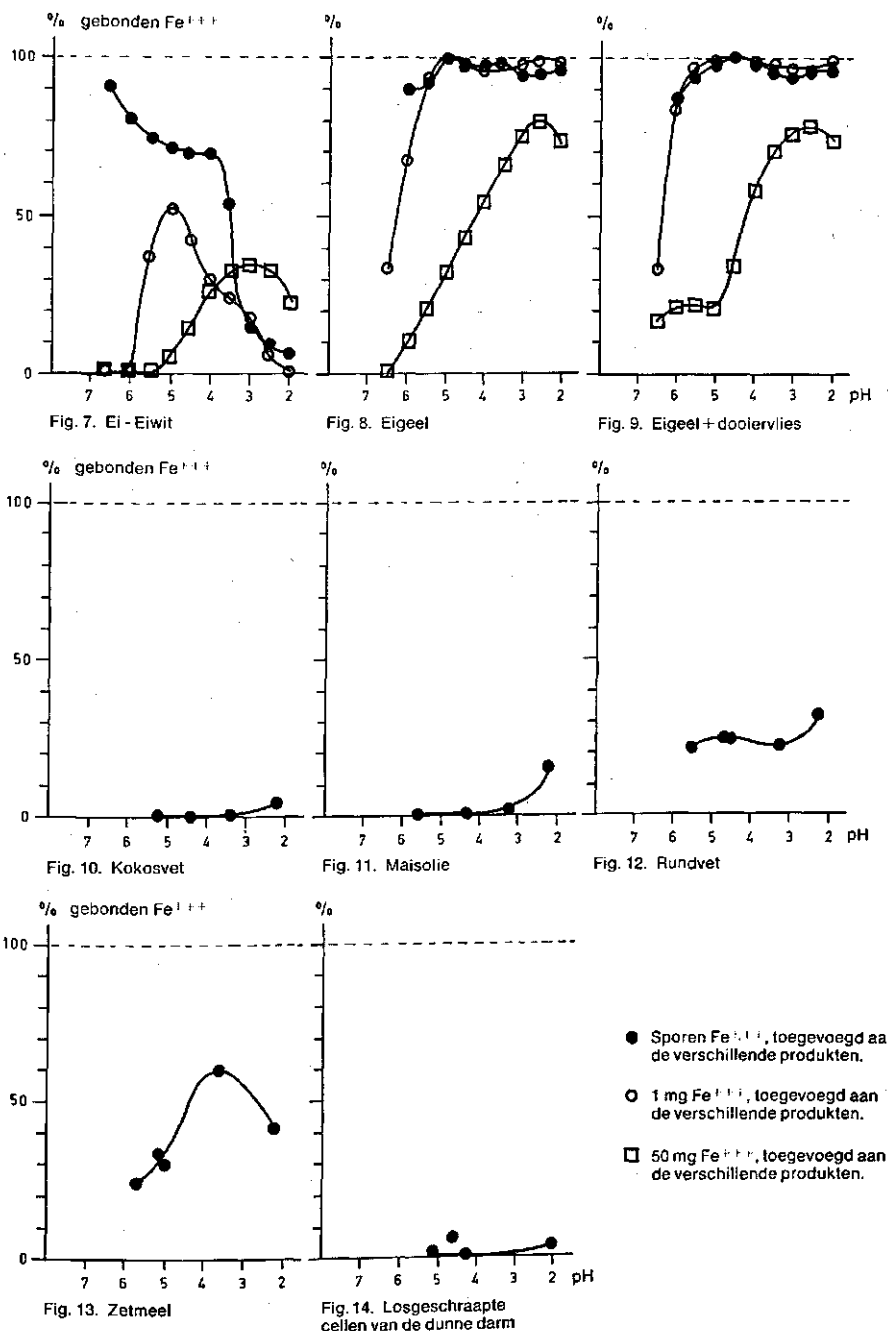
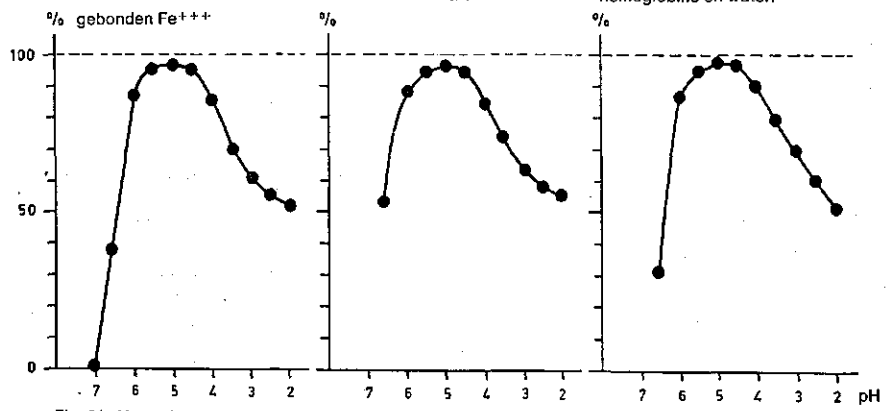
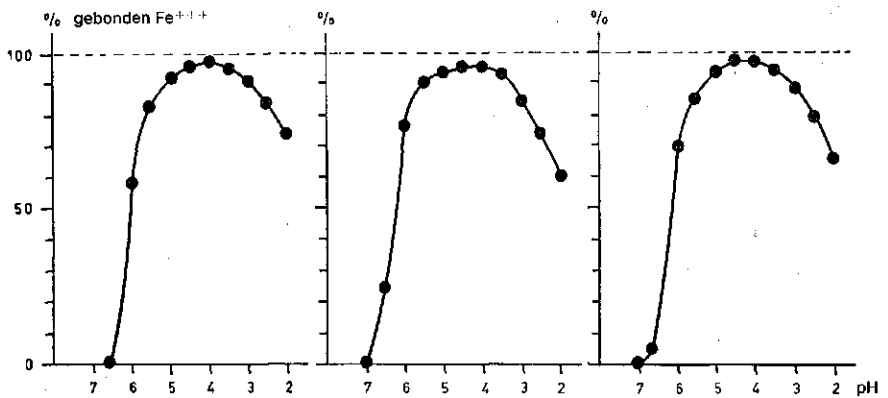
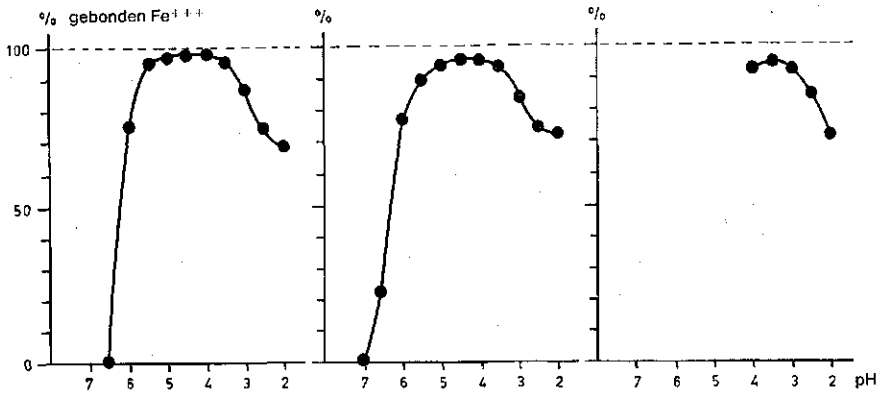


FIG. 7 t/m 14. De affiniteit van de verschillende produkten voor ijzerionen.



● Sporen Fe⁺⁺⁺, toegevoegd aan de verschillende produkten.

FIG. 15 t/m 23. De affiniteit van de verschillende produkten voor ijzerionen.

2.4.4. *De affiniteit van ijzerionen voor vetten, zetmeel en absorptiecellen van de dunne darm*

In vitro blijkt de affiniteit van ijzerionen voor losgeschraapte darmwandcellen in een fysiologische zoutoplossing verwaarloosbaar klein te zijn. Ook voor kokosvet, maisolie, rundvet en zetmeel hebben ijzerionen slechts geringe affiniteit.

Opgemerkt wordt nog dat de affiniteit van ijzerionen voor zetmeel in geringe mate afhankelijk is van de pH, hetgeen in nog geringere mate geldt voor de twee vetten en de olie (fig. 10 t/m 14).

2.4.5. *De affiniteit van ijzerionen voor de verschillende rattevoeren*

De samenstelling van de rattevoeren is te vinden in tabel 2 en 3. De negen rattevoeren blijken over het algemeen een gelijke affiniteit uit te oefenen voor de ijzerionen (fig. 15 t/m 23). De extra vethoudende rattevoeren (fig. 21, 22 en 23) hebben bij pH 3 en 4 een geringere affiniteit voor de ijzerionen dan het controlevoer, doch deze verschillen lijken geen praktische betekenis te hebben. De pH van het mengsel van controlevoer en karnemelk is 4. De kurve van fig. 17 vangt dan ook aan bij dit zuurniveau.

3. DIERPROEVEN

3.1. INLEIDING

De balans van de ijzerhuishouding wordt gekarakteriseerd door de ijzerretentie, de ijzeruitscheiding en door de aanpassing van het organisme aan een veranderende situatie. Bij de langdurende experimenten komt de invloed van de samenstelling van de voeding op de totale ijzerhuishouding van het organisme aan de orde. De kortdurende experimenten leveren gegevens op die betrekking hebben op een gedeelte van de totale ijzerhuishouding, nl. de directe invloed op de ijzerretentie. De invloed op de ijzeruitscheiding en de eventuele aanpassing van het organisme aan de veranderende situatie, blijven bij deze experimenten buiten beschouwing. De dierproeven bestaan zowel uit kortdurende als uit langdurende experimenten. Hierdoor is het mogelijk geworden om de resultaten van beide proeven met elkaar te vergelijken.

Bij de langdurende experimenten, die het eerst worden beschreven, kregen de dieren gedurende enkele maanden een bepaald dieet. De diëten hebben alle hetzelfde ijzergehalte. Na beëindiging van de proef is het ijzergehalte van enkele organen van de dieren bepaald. Op basis van de ijzergehalten wordt gekeken welk effect de samenstelling van het dieet heeft gehad.

De kortdurende experimenten, waarvan de beschrijving op pag. 45 begint, bestaan in feite uit het in contact brengen van een voedingsmiddel (of water voor de controlegroep) met een radioactieve ijzeroplossing in de maag van de rat. De gemeten ijzerretenties geven een indruk welke directe invloed het voedingsmiddel op de ijzerretentie kan hebben vergeleken met de invloed die water erop heeft.

3.2. DE LANGDURENDE DIERPROEVEN

Tijdens de voedingsproef is nagegaan of een verandering in de samenstelling van het voer – zonder het ijzerniveau van het voedsel te veranderen – bij Wistar albino ratten van het mannelijk geslacht resulteert in een verandering van de ijzerstatus van de dieren. Het ijzergehalte van de voeding is konstant op 30 ppm gehouden.

De proef heeft 6,5 maand geduurd en had tot doel na te gaan wat het effect van een toevoeging aan het dieet gedurende langere termijn op de totale ijzerhuishouding van de rat was.

Bij vier groepen dieren is de ijzerstatus gevolgd, door aan het begin van de proef en na 6 maanden ijzerretentie metingen met behulp van radioactief ijzer te verrichten. Het experiment is na 194 dagen beëindigd. De dieren zijn met chloroform gedood, waarna het ijzergehalte van de lever, de milt, het hart, de nier, de dunne darm en de pancreas bepaald zijn. Tevens is het hemoglobinegehalte van het bloed gemeten.

Samen met de ijzerretentie uitkomsten, voor zover uitgevoerd, zijn deze gegevens gebruikt om de invloed van de verschillende rattevoeren op de ijzerhouding van de ratten te evalueren.

3.2.1. De proefdieren

Voor de voedingsproef zijn 120 mannelijke albino Wistar ratten ingezet. Er zijn 10 groepen gevormd van elk 12 dieren. Tijdens de proef zijn geen dieren uitgevallen. De groepen A t/m D zijn ingezet toen de dieren vier weken oud waren; de groepen 1 t/m 6 zijn ingezet met dieren van zes weken.

De dieren van de groepen A t/m D zijn individueel ondergebracht in gegalvaniseerde kooien. De ruimte waarin deze kooien stonden, is goedgekeurd voor het werken met radioactieve stoffen. In een andere ruimte van de dierenstal zijn de groepen 1 t/m 6 in verzamelkooien ondergebracht. Per groep zijn alle 12 ratten in één kooi gezet. Deze kooien zijn eveneens gegalvaniseerd. Het vaste voer, evenals het drinken, is ad libitum beschikbaar gesteld. De mannelijke ratten die uit eenzelfde nest kwamen, zijn in verschillende groepen geplaatst. In de ruimten waar de dieren ondergebracht waren, is de temperatuur konstant op 20°C gehouden.

TABEL 2. IJzerarm basisvoer voor de ratten.

*levert per kg voeder:			
Na caseinaat	20,0%	Vit. A	15.000 i.u.
Sucrose	51,3%	Vit. D3	1.500 i.u.
Ondermelkpoeder	20,0%	Vit. E	100 mg
Cellulosepoeder Seika floc	4,0%	Vit. K3	20 mg
Calcium difosfaat	1,2%	Vit. B1	15 mg
Zonnebloemolie	2,3%	Vit. B2	10 mg
*Vitamines en sporenelementen		Vit. B6	10 mg
op glucose drager	1,0%	Nicotinezuur	40 mg
magnesiumoxide	0,2%	Ca pantotheenaat	40 mg
		Vit. B12	25 mcg
	100,0%	Foliumzuur	5 mg
		Biotine	100 mcg
		Choline	1.000 mg
		Mn (als MnSO ₄)	35 mg
		Cu (als CuSO ₄)	5 mg
		Zn (als ZnCl ₂)	15 mg

3.2.2. Het voer voor de ratten

Tabel 2 geeft een overzicht van de bestanddelen die tezamen en volledig gemengd het basisvoer vormden voor de dieren. Het basisvoer is in overleg met de firma Hopofarms samengesteld. Deze firma droeg ook zorg voor de levering van dit voer. De grondstoffen voor het voer zijn gecontroleerd en geselecteerd op basis van een laag ijzergehalte. Zo was het mogelijk om het ijzergehalte als gevolg van onbekende ijzerverbindingen zo laag mogelijk te houden. Het ijzer-

TABEL 3.

	Vast voer	Drinken
Groep A	kontrole voer (30 ppm ijzer)	water
B	kontrole voer + 10% zacht gekookt ei	water
C	kontrole voer	karnemelk
D	kontrole voer	melk
1	kontrole voer	water
2	kontrole voer + 20% gedroogd kwiek brood	water
3	kontrole voer + als groep 2, het ijzergehalte is met Hb op 30 ppm gebracht	water
4	kontrole voer + 20% kokosvet	water
5	kontrole voer + 20% maisolie	water
6	kontrole voer + 20% rundvet	water

gehalte van de verschillende bestellingen bleek tamelijk konstant, 8 ppm ijzer te bedragen. Om het voer geschikt te maken voor de proef, zijn er de verschillende componenten en het fijngemalen ferricitraat aan toegevoegd. Het ijzergehalte is hiermee op 30 ppm ijzer gebracht. Het voer, bestemd voor de dieren van groep 3, is met runderhemoglobine op hetzelfde niveau gebracht. In tabel 3 staan de diëten vermeld voor de verschillende groepen.

Aan het voer voor groep B is zachtgekookt ei toegevoegd. Als criterium voor zachtgekookt is genomen, dat door middel van verhitting van het ei in kokend water het eiwit zo veel mogelijk vast is, terwijl het eigeel nog geheel vloeibaar blijft. De dieren van groep C onderscheidde zich van de dieren van de controle groep door het drinken van karnemelk in plaats van water. De karnemelk is in aardewerk bakjes gegeven. De fles met drinknippel kon niet gebruikt worden omdat de uitzakkende bestanddelen van de karnemelk het drinkstelsel direct verstopten. De melk voor de dieren van groep D kon wel in de drinkfles gegeven worden. Zowel de melk als de karnemelk zijn dagelijks ververst. Voor de groepen A en B is het drinkwater samengesteld uit leidingwater en gedemineeraliseerd water. Hierdoor is het ijzergehalte van het drinkwater gelijk gemaakt aan dat van melk en karnemelk (0,5–1,0 ppm ijzer). De dieren van groep 1 t/m 6 kregen allen leidingwater te drinken. De ratten die groep 1 vormden, kregen hetzelfde vaste voer als de dieren in groep A.

Het dieet voor groep 2 bestond uit het basisvoer waar 20% gedroogd (24 uur bij 50°C in een vacuumstoof) en gemalen 'Kwiek' brood¹ aan toegevoegd was. Het voer voor groep 2 is met ferricitraat tot 30 ppm ijzer aangevuld. Het voer voor groep 3 bevatte eveneens 20% gedroogd en gemalen 'Kwiek' brood; aan dit voer is runderhemoglobine toegevoegd om het ijzerniveau op 30 ppm te brengen. Het voer voor de groepen 4, 5 en 6 bevatte 20% resp. kokosvet, maisolie en rundvet. Deze vetten onderscheidde zich van elkaar door een verschil in vetzuurpatroon, zoals in fig. 24 is aangegeven. De samenstelling van

¹Onder deze naam in de handel gebracht brood. 'Kwiek' brood heeft een hoog eiwitgehalte (24% berekend op de droge stof).

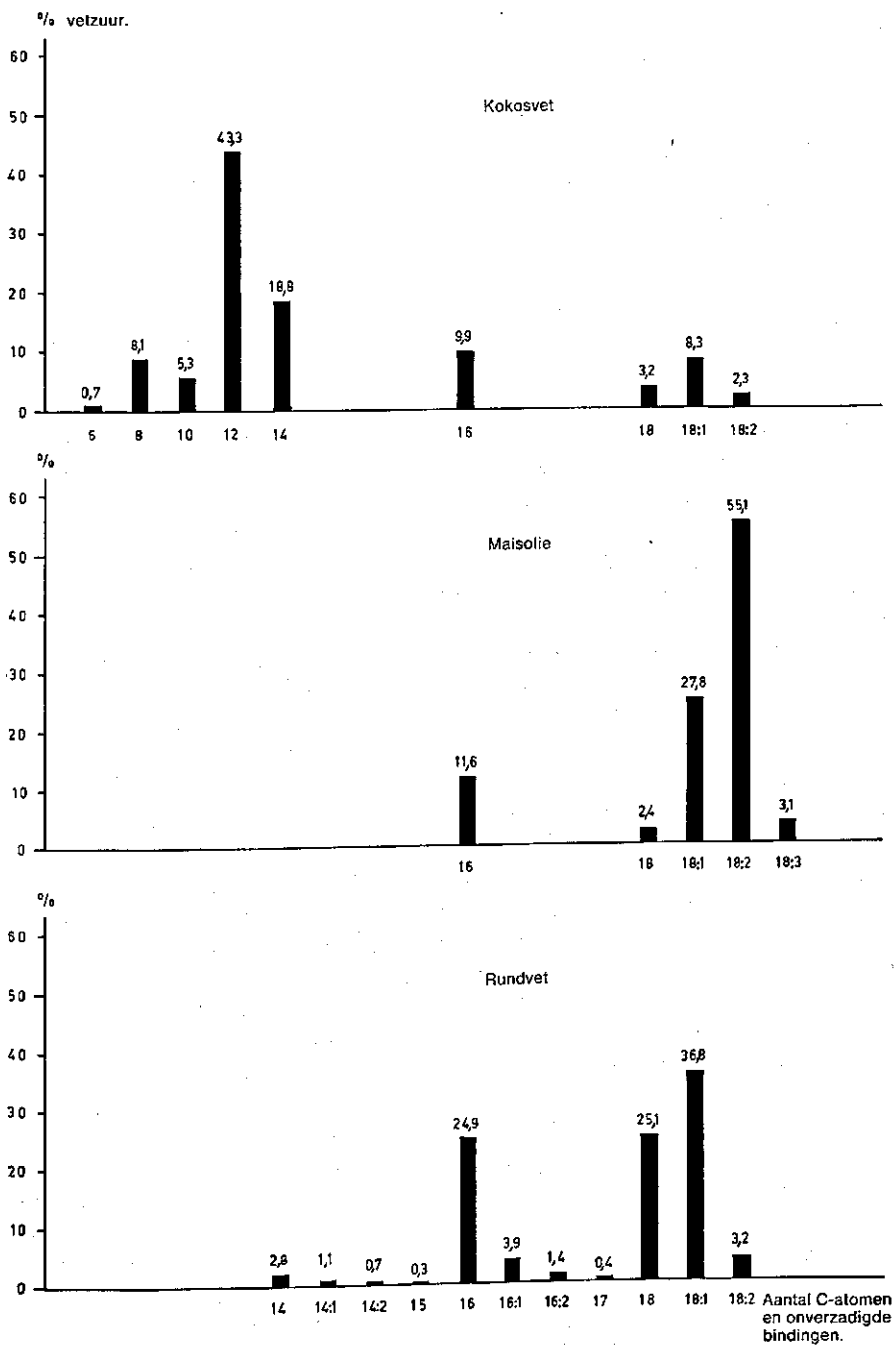


FIG. 24. De vetzuursamenstelling van kokosvet, maisolie en rundvet.

de vetten is op het eigen laboratorium vastgesteld. Kokosvet bestaat voor meer dan 75% uit verzadigde vetzuren met 14 of minder koolstofatomen. Maisolie bevat meer dan 80% één- of meervoudig onverzadigde vetzuren, terwijl rundvet voor 50% uit verzadigde vetzuren bestaat met 16 of 18 koolstofatomen. Rundvet heeft verder een groot aantal verschillende vetzuren, variërend van vetzuren met 14 koolstofatomen tot vetzuren met 18 koolstofatomen en twee onverzadigde bindingen.

3.2.3. *De keuze van het ijzergehalte van het voer*

McCoy (1962) stelt dat 0,25 mg ijzer per dag voldoende is om het verlies aan ijzer bij een volwassen rat te compenseren. Bij een voedselopname van 15 gram per dag moet het dieet dan een gehalte van 35–40 ppm ijzer hebben. Om de behoefte tijdens de dracht en het zogen te dekken stelt McCoy dat 5 mg ijzer per dag meer dan voldoende is. Deze getallen treft men ook aan bij SALMOND en GELLATLY (1969). Bij mannelijke Spragne-Dawley ratten vonden KOIVISTOINEN, AHLSTRÖM en JÄPPINEN (1968) dat een ijzerniveau van 29 ppm voldeed voor een maximale hemoglobine vorming. Het voer dat KOIVISTOINEN, AHLSTRÖM en JÄPPINEN (1968) aan de ratten gaven is afgeleid van een ijzerarm dieet met een samenstelling volgens MCCALL, NEWMAN, O'BRIEN, VALBERG en WITTS (1967). Ook het voer dat wij gebruikten is hiervan afgeleid. Daarom hebben de resultaten van de proef van KOIVISTOINEN e.a. (1968) als uitgangspunt gediend voor het vaststellen welk ijzerniveau het rattevoer het beste kon hebben.

In principe kan het effect van een voedingskomponent op de ijzeropname gemeten worden bij ieder ijzerniveau van de voeding, mits dit ijzerniveau binnen een minimale en maximale hoeveelheid ligt. Voor het dieet van de rat ligt het minimale ijzerniveau in de buurt van de 25 ppm. De maximale hoeveelheid is bij 2500 ppm ijzer overschreden (DUNN 1968). Voor de proef met de ratten is een ijzergehalte van 30 ppm gekozen. Hiermee werd een hoeveelheid ijzer aangeboden die een zo reëel mogelijke nabootsing leek van het ijzergehalte in de voeding van mensen in de geïndustrialiseerde wereld. Voor de mens en in dit geval voor het proefdier, houdt dit in dat er een hoeveelheid ijzer aangeboden wordt, die, zonder rekening te houden met extra ijzerbehoeften als gevolg van bloedverlies, snelle groei en zwangerschap, voldoende is.

Alle rattediëten zijn met ferricitraat tot het niveau van 30 ppm ijzer aangevuld. De verwachting van dit ijzerniveau in deze proefopzet was, dat de mannelijke dieren geen ijzertekort zouden krijgen, indien er geen remmende factoren op de ijzerretentie in het voer aanwezig zouden zijn. Voor het meten van de ijzerretentie werd eveneens ferricitraat gebruikt. In één dieet werd het ijzerniveau met behulp van hemoglobineijzer op 30 ppm gebracht. Behalve het ijzer in het vaste voer kregen de dieren nog ijzer naar binnen via het drinkwater, de melk en de karnemelk. Het ijzergehalte van het leidingwater bedroeg ± 2 ppm, de melk en de karnemelk bevatten 0,3–0,6 ppm ijzer. Gemiddeld drinkt een volwassen rat ± 30 ml per dag (afhankelijk van het type vast voer), zodat dagelijks 0,06 mg ijzer met het drinken van het leidingwater en 0,009–0,018 mg Fe met melk en karnemelk opgenomen werd. Om geen verschil te krijgen tussen de

ijzeropname van groep A en B, die water kregen, en groep C en D, die karnemelk resp. melk dronken, is het leidingwater voor groep A en B vermengd met gedemineraliseerd water tot het ijzerniveau van melk of karnemelk verkregen werd.

Dagelijks kregen de ratten van groep A t/m D dus 0,009–0,018 mg ijzer met het water en ongeveer 0,45 mg ijzer met het vaste voer, indien aangenomen wordt dat gemiddeld 15 gram voer gegeten wordt met een ijzergehalte van 30 ppm. Groep 1 t/m 6 dronk leidingwater en nam dagelijks $\pm 0,45$ mg ijzer met het voer en $\pm 0,02$ mg ijzer met het water op.

3.2.4. Radioactiviteitsmetingen van de ratten

Bij de dieren van groep A t/m D zijn retentiebepalingen gedaan m.b.v. radioactieve ijzeroplossingen. Deze metingen zijn gedaan toen de dieren een leeftijd hadden van 4 tot 7, 7 tot 9, 9 tot 11, 28 tot 30 en 30 tot 32 weken. Het doel van deze metingen was de ijzerstatus van de dieren van de verschillende groepen met elkaar te vergelijken. Uitgangspunt hierbij was, dat een dier met een laag ijzerniveau in het lichaam meer ijzer zal retineren van een gegeven ijzeroplossing dan een dier met een hoog ijzerniveau in het lichaam.

De radioactieve ijzeroplossing die in de maag van de rat is gebracht, had een volume van 0,5 ml en bevatte $\pm 0,5\mu$ Ci ^{59}Fe en 10γ Fe, beide als ferricitraat. Het inbrengen van de oplossing gebeurde met een Nelaton voedingssonde no. 7, verbonden aan een plastik injectiespuit waarmee de hoeveelheid vloeistof werd gedoseerd. De behandelde dieren zijn in speciale plastik bakjes geplaatst. Deze dozen hadden twee functies: de ratten zijn erin vervoerd naar een meetopstelling in Arnhem, waar de radioactiviteit van de dieren werd bepaald, terwijl de dieren tijdens de meting in deze dozen konden blijven. De dozen zijn rond met een inwendige bovendiameter van 13 cm en een inwendige benedendiameter van 12 cm. De hoogte is inwendig 9 cm. Het geheel is afgesloten met een klemmend plastik deksel. In de zijkant van de dozen zijn 20 ventilatiegaten met een diameter van 0,8 cm aangebracht. In het doosje is een metalen rooster geplaatst, dat m.b.v. een plastik ring op zodanige hoogte kon worden ingesteld, dat, afhankelijk van zijn afmetingen, de rat net tegen het deksel gehouden werd. Hierdoor is voorkomen dat variaties in het meetresultaat zouden ontstaan t.g.v. variaties in de afstand tussen proefdier en detector.

De activiteitsbepalingen zijn uitgevoerd met behulp van de whole-body counter van de Radiologische Dienst van de Gezondheidsorganisatie TNO te Arnhem. Deze meetopstelling, ingericht voor het meten van zeer geringe hoeveelheden radioactiviteit in het menselijk lichaam, bestaat uit een viertal NaJ(Tl) detectoren, opgesteld in een stralingsarme ruimte (achtergrondreductie in het meetgebied: gemiddeld 40 maal). Met deze apparatuur konden tegelijkertijd 4 proefdieren worden gemeten. Om dit te realiseren konstrueerde TNO een eenvoudige opstelling die het mogelijk maakte de 4 ratten in hun plastik behuizing in reproduceerbare posities ten opzichte van de detectoren te brengen. Een speciale loodafscherming tussen de dieren zorgde voor een minimale wederzijdse beïnvloeding.

Het isotoop ^{59}Fe desintegreert onder emissie van zowel β - als γ - straling. Aangezien de eerste volledig door het weefsel wordt geabsorbeerd, wordt voor metingen van buitenaf slechts de γ - straling (1,10 en 1,29 MeV) gemeten. De kwantitatieve bepaling geschiedt door computer-evaluatie van het gammaspectrum zoals dat resulteert uit de meting van elk radioactief proefdier met behulp van een detector, aangesloten op een pulshoogte analysator. Het gedurende de meettijd geregistreerde aantal gammakwanten in de beide ijzer-pieken is een maat voor de hoeveelheid radioactiviteit in het proefdier op het tijdstip van de meting. Vanzelfsprekend wordt daarbij gekorrigeerd voor het radioactief verval ($T_{\frac{1}{2}} = 45$ dagen voor ^{59}Fe).

Veertien dagen na dosering, wanneer kan worden aangenomen dat het niet gereteneerde ijzer het lichaam met de faeces heeft verlaten, is de resterende activiteit berekend als fraktie van de initiële dosis, en wel op de volgende wijze:

$$R(\%) = \frac{\text{II-B}}{\text{I-B}} \times 100\%$$

waarin:

I = gemeten activiteit van het proefdier, direkt na dosering;

II = gemeten en voor verval gekorrigeerde activiteit van het proefdier na twee weken;

B = achtergrond activiteit, gemeten onmiddellijk vóór de dosering (in het bijzonder van belang bij herhaalde experimenten aan hetzelfde proefdier).

De grootheid R wordt doorgaans de *ijzerretentie* genoemd. Eerder is aange-toond (NAJEAN en ARDAILLOU, 1963 en BOENDER, 1969) dat een gedeelte van het in eerste instantie door het organisme opgenomen ijzer in 1 à 2 weken weer wordt uitgescheiden. Deze na-uitscheiding kan worden vastgesteld door naast het ^{59}Fe nog een niet opneembare tracer - zoals ^{131}Ba of ^{51}Cr - toe te dienen. Met behulp daarvan laat zich de *ijzerabsorptie* definiëren: het proces dat tot stand komt door de initiële opname van ijzerionen door de absorptiecellen van het organisme. Een gedeelte van de initiële opname wordt verder het lichaam ingevoerd. Het resterende gedeelte verlaat het lichaam weer met het afstoten van de absorptiecellen in het darmlumen, hetgeen regelmatig plaats vindt. Het ijzer dat verder door het lichaam opgenomen wordt, krijgt doorgaans de naam gereteneerd ijzer. De inhoud van de begrippen ijzerabsorptie en ijzerretentie is in overeenstemming met die welke BOENDER (1969) er aan geeft.

3.2.5. Bepaling van het gehalte aan hemoglobine in het bloed

Het hemoglobinegehalte is bepaald volgens de oxyhemoglobinemethode (HENRY, 1964, pag. 740). Nadat de dieren met chloroform gedood zijn, is de lieslagader open gemaakt. Van het vrijkomende bloed is $2 \times 20\mu\text{l}$ gebruikt voor de hemoglobinebepaling.

3.2.6. Bepaling van het ijzergehalte in organen

Nadat een gedeelte van ieder orgaan voor histologisch onderzoek weggenomen is zijn de organen 24 uur gedroogd in een vacuumstoof bij 70°C . De ge-

droogde organen zijn gewogen en nat gedestruerd met een zwavelzuur, salpeterzuur en perchloorzuur mengsel volgens SCHAUMLÖFFEL (1965). Het heldere residu is volgens SCHOUWENBURG (1965) opgewerkt, waarna het rode ferroorthofenantroline complex kwantitatief is bepaald.

3.2.7. Histologische bepaling van het ijzergehalte van organen

Gedeelten van organen zijn tot preparaten verwerkt en met kaliumferrocyanide gekleurd op hemosiderine. Deze kleuring dateert van 1867 en wordt de pruisisch blauw methode volgens Perls genoemd (ROMEIS, 1968, p.312). Om een indruk te krijgen van de mate waarin de chemische en histologische ijzerbepalingen met elkaar overeenstemmen, is de intensiteit van de kleuring, die een maat is voor het hemosiderine gehalte, gemeten en vergeleken met de overeenkomende chemische ijzerbepalingen.

Alle organen, met uitzondering van de milt, kleurden slechts gering. In verband hiermede zijn alleen de preparaten van de milt gemeten. Om zo objectief mogelijk te meten is van ieder miltpreparaat de gemiddelde lichtdoorlaatbaarheid bepaald van vijf verschillende mikroskopische beelden. Er is een tienmaal okkulaire vergroting gebruikt. Alle preparaten hadden dezelfde dikte en zijn alle op dezelfde wijze gekleurd. De lichtdoorlaatbaarheid van het preparaat is gemeten met de foto-elektrische cel die bij de fotokamera van de microscoop hoort. De reactie van de lichtgevoelige cel is afgelezen op een galvanometer. Veel aandacht is besteed aan het steeds opnieuw ijken van de meetopstelling en aan een konstante voeding van de microscoopverlichting.

3.2.8. Uitkomsten

3.2.8.1. IJzerretentie (Groep A t/m D)

In tabel 4 staan de gemiddelde waarden van de ijzerretenties met standaard afwijking van de ratten van groep A t/m D.

Alle ratten retineren op jonge leeftijd het meeste ijzer. De ijzerretentie wordt minder naarmate de dieren ouder worden. Wanneer de dieren in de leeftijdsfase van 9-11 weken zijn, vermindert de ijzerretentie vrij snel. De dieren van groep D (dronken melk in plaats van water; vast voer gelijk aan het controle voer)

TABEL 4. IJzerretentie in % uitgedrukt.

	4-7 weken	7-9 weken	9-11 weken	28-30 weken	30-32 weken
A	74 ± 10	67 ± 12	43 ± 13	35 ± 12	30 ± 11
B	71 ± 7	68 ± 10	31 ± 9***	34 ± 7	28 ± 8
C	71 ± 10	71 ± 7	45 ± 12	32 ± 7	31 ± 8
D	74 ± 4	76 ± 5**	53 ± 11*	48 ± 11***	45 ± 12***

*0,01 < P < 0,05

**0,005 < P < 0,01

*** P < 0,005

retineerden meer ijzer dan de dieren van de controle groep. De statistische uitwerking van de verschillen in retentie van de dieren van groep B, C en D ten opzichte van de dieren van groep A is eveneens in tabel 4 weergegeven.

De groep ratten die voer kreeg waar zachtgekookt ei aan toegevoegd was, reageerde in de leeftijdsperiode van 9-11 weken duidelijk anders dan de ratten in de controle groep. In deze leeftijdsfase vertoonden alle ratten een sterke daling in de ijzerretentie. De ratten die karnemelk dronken (groep C) vertoonden volkomen hetzelfde ijzerretentiepatroon als de dieren van de controle groep.

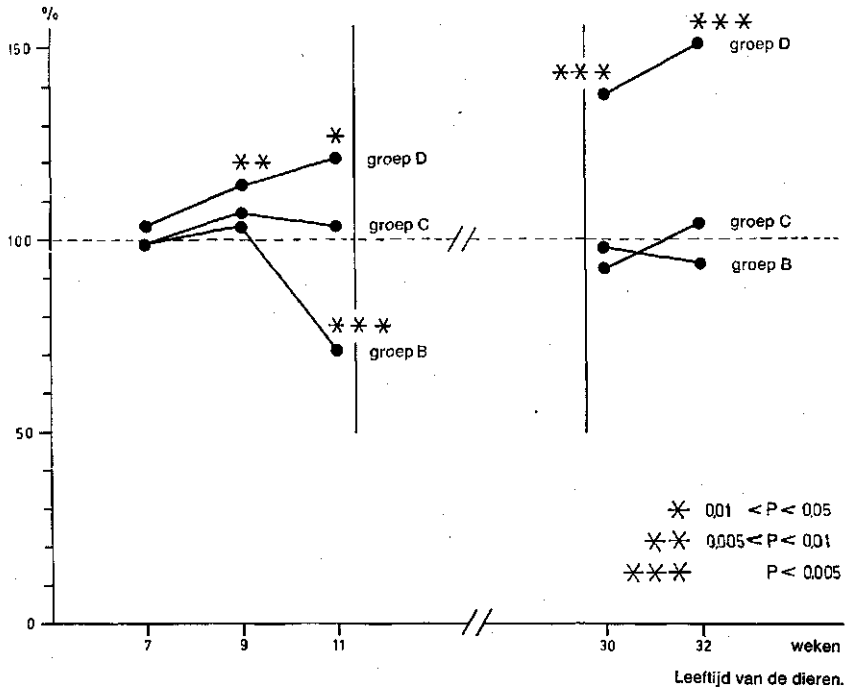


FIG. 25. De gemiddelde ijzerretentie van een radioactieve ijzeroplossing (ferricitraat) van de dieren van groep B (dieren op ei-houdend voer), groep C (dieren op controlevoer en karnemelk) en groep D (dieren op controlevoer en melk). De retenties zijn berekend ten opzichte van de 100% gestelde ijzerretentiewaarden van de controledieren.

Figuur 25 geeft het verloop van de ijzerretentie weer, waarbij de ijzerretentie van groep B, C en D vergeleken wordt met de op 100% gestelde retentiewaarden van de controle groep.

TABEL 5. Gemiddelde hemoglobine gehalten in gram Hb per 100 ml bloed.

Groep	A	B	C	D	1	2	3	4	5	6
	15,2	14,9	15,3	15,3	15,1	15,0	15,1	15,1	15,0	15,4

3.2.8.2. Hemoglobinewaarden

Aan het eind van de proef zijn de hemoglobinewaarden van alle ratten gemeten. Geen enkel dier had een lager hemoglobinegehalte dan 13,5 gr/100 ml bloed. Er bleken geen verschillen te bestaan in hemoglobinegehalte tussen de verschillende groepen dieren. Tabel 5 geeft de gemiddelde waarden weer.

Figuur 26 geeft de hemoglobinewaarden weer, waarbij de waarden van de beide controle groepen (groep A en groep 1) op 100% gesteld zijn.

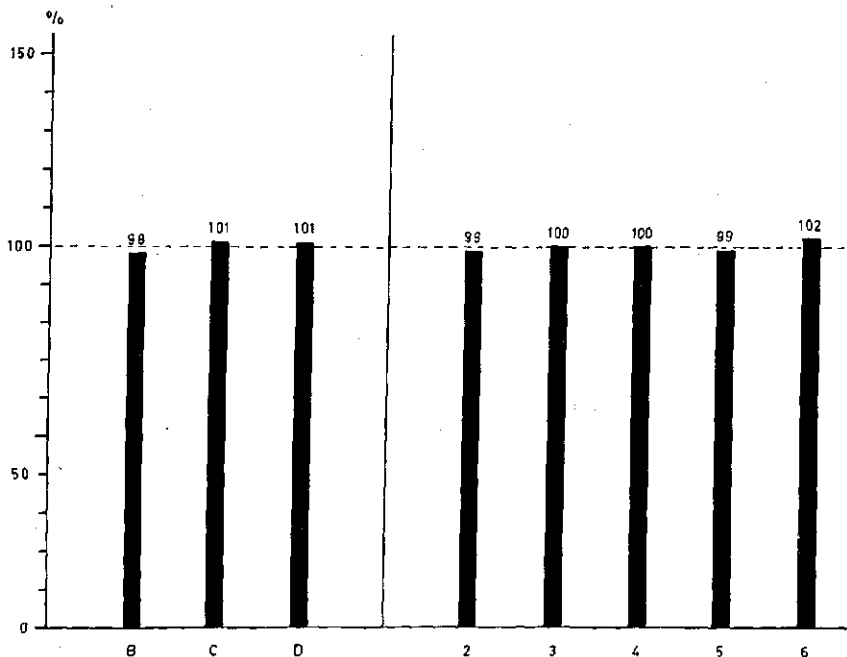


FIG. 26. Het gemiddelde hemoglobinegehalte van de verschillende dieren. Het gehalte is uitgedrukt ten opzichte van de op 100% gestelde waarden van de dieren van de controlegroep. Groep B, C en D zijn met controlegroep A vergeleken; groep 2 t/m 6 met controlegroep 1.

3.2.8.3. IJzerniveau van enkele organen

De resultaten van de chemische ijzeranalyses van de milt, lever, hart, nier, pancreas en dunne darm zijn samengevat in tabel 6.

Deze getallen zijn tevens in een kolomgrafiek weergegeven. Figuur 27 geeft de ijzerconcentraties van de verschillende organen in procenten weer, waarbij alle waarden van de organen van de dieren uit de beide controle groepen op 100% zijn gesteld.

Voor het beoordelen van het totale ijzerniveau van de dieren zijn de milt en de lever het belangrijkste. Daarna komen het hart en de nier, terwijl de pancreas en de dunne darm als gevolg van hun lage ijzergehalte het minst belangrijk zijn.

TABEL 6. IJzergehalten van de onderzochte organen, uitgedrukt in mg/kg droog weefsel

	groep A	groep B	groep C	groep D	groep 1	groep 2	groep 3	groep 4	groep 5	groep 6
Milt	9330 ± 2620	7520 ± 3100	10540 ± 2380	7330 ± 3080*	9800 ± 2190	9110 ± 2230	9630 ± 2440	7030 ± 2050**	4730 ± 1490***	7500 ± 2320**
Lever	524 ± 110	429 ± 95*	468 ± 162	405 ± 141*	511 ± 98	515 ± 192	544 ± 204	639 ± 215	511 ± 338	834 ± 354***
Hart	426 ± 37	374 ± 34**	389 ± 49*	319 ± 68***	348 ± 47	362 ± 99	372 ± 73	347 ± 57	309 ± 47	352 ± 68
Nier	516 ± 96	513 ± 206	495 ± 58	389 ± 56**	442 ± 83	431 ± 84	435 ± 121	424 ± 63	336 ± 43***	500 ± 106
Pancreas	165 ± 31	158 ± 38	140 ± 32	140 ± 44	165 ± 39	182 ± 49	179 ± 39	196 ± 61	172 ± 39	219 ± 43***
Dun. darm	199 ± 65	193 ± 39	168 ± 42	143 ± 44***	231 ± 58	275 ± 106	247 ± 33	222 ± 57	237 ± 60	284 ± 73*

*0,01 < P < 0,05

**0,005 < P < 0,01

*** P < 0,005

verschillen ten opzichte van de controlegroep A. (t-toets)

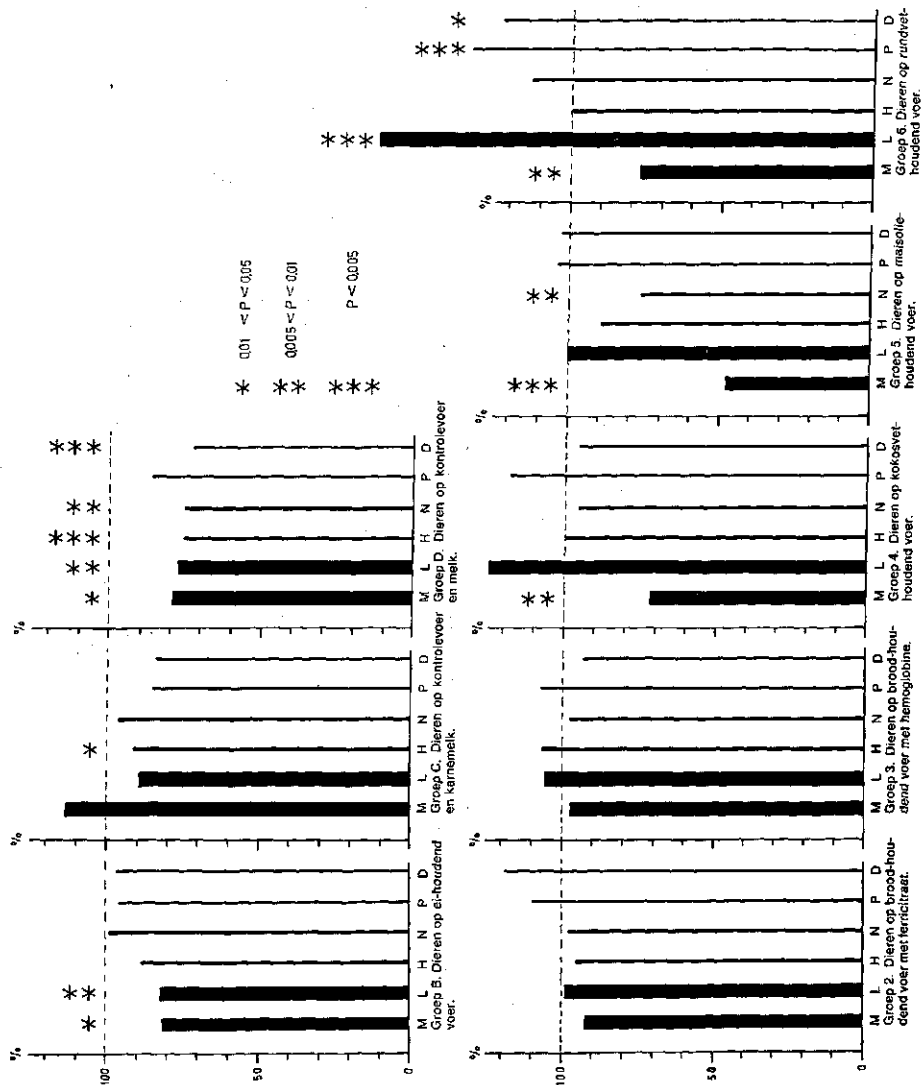


FIG. 27. Het gemiddelde ijzergehalte van enkele organen (M = Milt, L = Lever, H = Hart, N = Nier, P = Pancreas en D = proximale deel van de dunne Darm) van de dieren van de verschillende groepen. Het gehalte is uitgedrukt ten opzichte van de op 100% gestelde waarden van de controlegroep. De uitkomsten van groep B, C en D zijn met de overeenkomende waarden van controlegroep A vergeleken. De uitkomsten van groep 2 t/m 6 met die van groep 1.

In de grafiek zijn de ijzerconcentraties van de lever en de milt met dickere lijnen uitgebeeld dan die van het hart en de nier. De ijzerconcentraties van de pancreas en de dunne darm zijn met de dunste lijnen weergegeven. Om een globale indruk te krijgen van het totale ijzergehalte van de zes onderzochte organen tezamen, geeft figuur 28 de procentuele waarden weer, ten opzichte van de gehalten van de beide controle groepen.

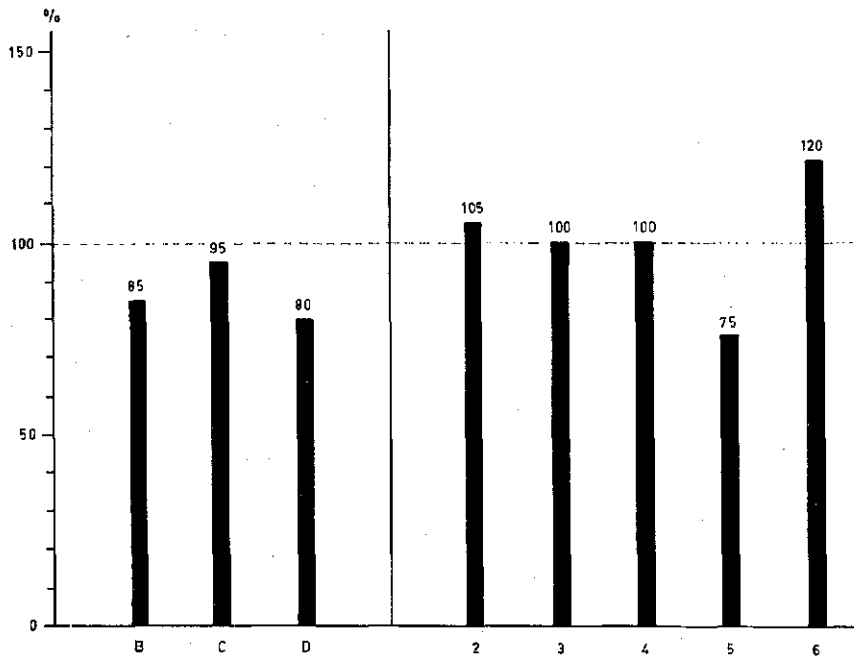


FIG. 28. De gemiddelde som van de ijzergehalten van milt, lever, hart, nier, pancreas en proximale deel van de dunne darm van de verschillende groepen dieren. De waarden zijn uitgedrukt ten opzichte van de op 100% gestelde waarden van de controlegroep. De uitkomsten van groep B, C en D zijn met die van controlegroep A vergeleken. De uitkomsten van groep 2 t/m 6 zijn vergeleken met die van controlegroep 1.

3.2.8.4. Histologische bepalingen

De chemische ijzeranalyses zijn slechts gedeeltelijk vergeleken met de histologische bepalingen. Alleen de milt en in mindere mate ook de nieren hadden voldoende hemosiderine om verschillen in ijzergehalte te kunnen aantonen. Dit bleek voor de ratten van alle groepen het geval te zijn. De leverpreparaten, evenals de preparaten van de overige onderzochte organen, gaven slechts incidenteel hemosiderine te zien. Dit betekent uiteraard niet dat er geen of nauwelijks ijzer in deze organen opgeslagen is, aangezien ferritine in histologische preparaten niet aantoonbaar is. In de nieren is het hemosiderine gelokaliseerd in de schors. De hoeveelheden gekleurd hemosiderine zijn echter te gering om op grond daar-

van verschillen in de groepen aan te kunnen tonen. De miltpreparaten zijn op twee verschillende manieren beoordeeld. In de eerste plaats vond er een visuele beoordeling plaats. Deze beoordeling bleek niet betrouwbaar genoeg om enig onderscheid tussen de groepen te maken. In de tweede plaats is de lichtdoorlaatbaarheid van deze preparaten gemeten. De waarden die op deze wijze verkregen zijn, bleken, volgens de verwachting, negatief gekorreleerd te zijn ($r = -0,67$, $F = 91$) met de chemisch bepaalde ijzergehalten. Er is een negatief verband aanwezig, want een hoog ijzergehalte in het preparaat komt overeen met een geringe lichtdoorlaatbaarheid. Hoewel de tweede, meer objectieve methode meer onderscheid geeft dan de visuele beoordeling, geven deze resultaten geen significante verschillen te zien tussen de groepen. De chemische ijzerbepalingen blijken, zowel in de organen met een gering als ook in de organen met een hoog ijzergehalte, meer informatie te geven dan de histologische beoordelingen.

3.2.8.5. Groei van de dieren

Het gewichtsverloop van de dieren van groep A t/m D resp. 1 t/m 6 is weer gegeven in fig. 29 resp. fig. 30.

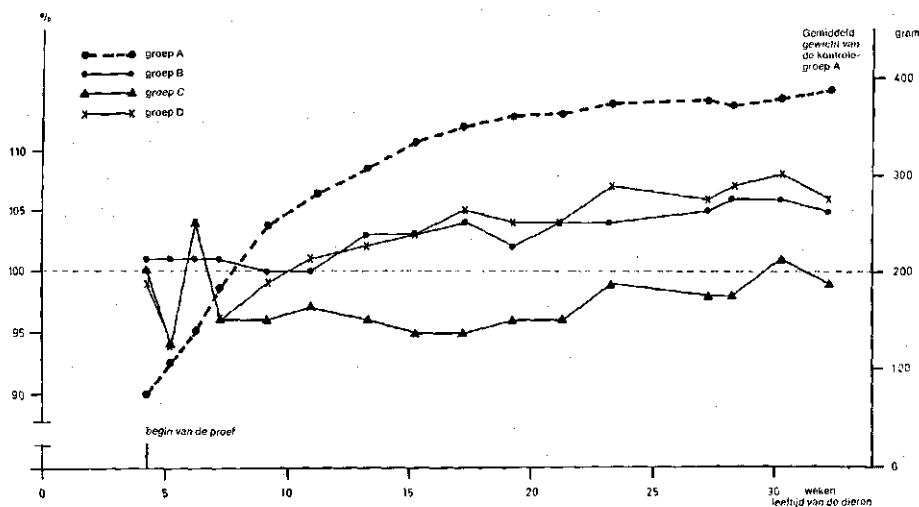


FIG. 29. Het gemiddelde gewicht van de dieren van controlegroep A en het gemiddelde gewicht van de dieren van groep B, groep C en groep D, procentueel uitgedrukt ten opzichte van het gemiddelde gewicht van de dieren van controlegroep A.

3.3. DE KORTDURENDE DIERPROEVEN

3.3.1. De uitvoering

Zoals op pag. 32 reeds is uiteengezet werd in de kortdurende dierexperimenten de invloed van een voedingsmiddel op de ijzerretentie nagegaan. Het exper-

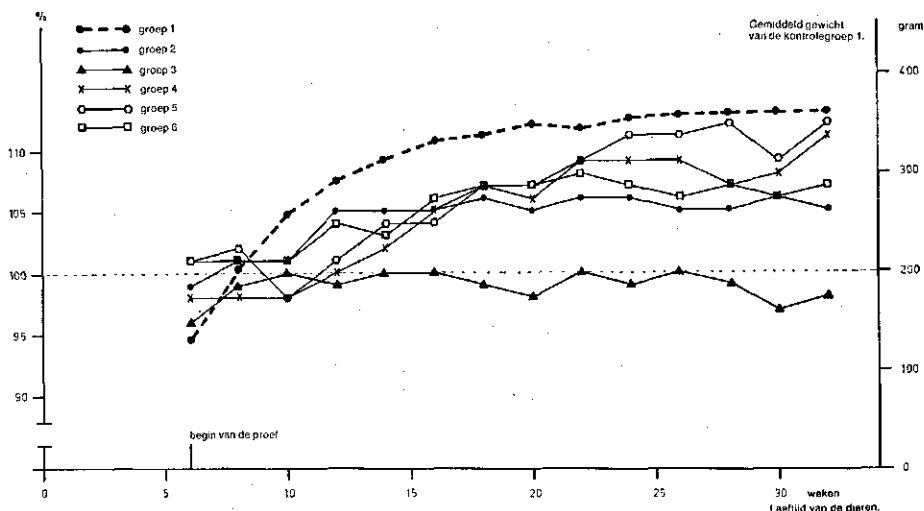


FIG. 30. Het gemiddelde gewicht van de dieren van controlegroep 1 en het gemiddelde gewicht van de dieren van groep 2 t/m 6, procentueel uitgedrukt ten opzichte van het gemiddelde gewicht van de dieren van controlegroep 1.

ment bestond uit het geven van twee maagsondes aan nuchtere ratten. De sonde met het voedingsmiddel is het eerste gegeven, direkt gevolgd door een sonde met een radioactieve ijzeroplossing. De ijzerretentie is bepaald door de radioactiviteit van de dieren, als gevolg van de aanwezigheid van ^{59}Fe , direkt na de toediening van de twee maagsondes en na 14 dagen te meten. Het niet gereteneerde ijzer heeft in de periode tussen beide metingen ruimschoots de gelegenheid gehad om het lichaam te verlaten (CONRAD en CROSBY, 1963; AMINE en HEGSTED, 1971). De retentie is op dezelfde manier berekend als in de langdurende dierproeven en is op pag. 37 beschreven.

Voor deze proef zijn eveneens albino Wistar ratten van het mannelijk geslacht gebruikt. De dieren zijn individueel in gegalvaniseerde kooien ondergebracht. Het vaste voer, dat gelijk was aan het controlevoer van de vorige proef (zie tabel 3), was ad libitum beschikbaar, evenals het water. In de ruimte, die goedgekeurd was om radioactieve dieren in onder te brengen, zijn 48 dieren tegelijk geplaatst.

De ratten zijn in 7 groepen ingedeeld:

Met de eerste maagsonde wordt gegeven:	aantal dieren
Water (kontrole)	10
Melk	6
Ei, rauw	7
Ei, hard gekookt	7
Kokosvet	6
Maisolie	6
Rundvet	6

De dieren zijn ingedeeld naar gelijk gemiddeld gewicht per groep. Dieren uit hetzelfde nest zijn over verschillende groepen ingedeeld. Het experiment is na 14 dagen met dezelfde dieren herhaald. De dieren zijn, met dezelfde restricties, opnieuw over de groepen verdeeld. Acht dieren zijn daarbij in dezelfde groep gebleven.

Het voedingsmiddel is met een sonde in de maag van de rat gebracht. Vaste stoffen zijn, om dit inbrengen mogelijk te maken, eerst behandeld. Daartoe is 50 g hardgekookt ei gesuspendeerd met 100 ml water met behulp van een snel draaiende mixer (Polytron). Het rauwe ei is op dezelfde wijze behandeld. De vetten zijn verwarmd tot 50°C, daarna afgekoeld tot $\pm 35^{\circ}$ –40°C. Ook rundvet bleef dan vloeibaar. Het in de maag brengen is uitgevoerd met een iets gebogen metalen naald, waarvan het uiteinde voorzien was van een stompe verdikking. Het bleek dat de jonge ratten (gemiddeld 6½ week oud bij het eerste experiment) minder last ondervonden van deze dunne, stompe naalden, dan van de dikkere rubber slang. Bovendien kon het toedienen in de maag door één persoon geschieden. De rat is met de ene hand recht overeind gehouden en met de andere hand is de naald ingebracht, waarna de injectiespuit geleegd kon worden. Met de beide maagsondes is 1,0 resp. 0,5 ml toegediend. De radioactieve ijzeroplossing bevatte 0,5 μ ci ^{59}Fe en 10 γ Fe, beide als ferricitraat.

Het effect van brood en van karnemelk is niet gemeten, omdat het aantal dieren te beperkt was.

3.3.2. Uitkomsten

De gemiddelde ijzerretentie in de 1e en 2e proef is als volgt:

% Fe retentie	1e proef	2e proef
Water (kontrole)	44,7	77,4
Melk	43,9	66,4
Ei, rauw	36,6	50,8
Ei, hardgekookt	26,9	43,1
Kokosvet	44,8	71,6
Maisolie	45,6	73,1
Rundvet	47,1	73,6

De gemiddelde retentie in de 2e proef is een faktor ($\approx 1,6$) hoger dan die in de 1e proef. Hier is geen verklaring voor gevonden. Dit multiplikatieve verschil is echter geen beletsel voor het aanduiden van verschillen tussen de groepen.

Het effect van een voedingsmiddel op de retentie van ijzer wordt gemeten tegen het neutraal geachte effect van water. De statistische uitwerking als 'Change-over'-proef (VERDOOREN 1965, hierbij worden verschillen tussen proefdieren geëlimineerd), gevolgd door de Student-Newman-Keuls toets met 5% risico, levert de volgende uitspraken:

Vergeleken met water hebben hardgekookt ei en rauw ei een duidelijk negatief effect op de ijzerretentie, terwijl kokosvet, maisolie en rundvet geen enkel duidelijk effect vertonen. Melk neemt een positie in tussen rauw ei en hardgekookt ei enerzijds en de verschillende vetten anderzijds.

4. ALGEMENE BESCHOUWING

4.1. INLEIDING

In dit onderzoek zijn de vitro-experimenten zodanig opgezet dat het opsporen van een ijzersubstraatbinding bij verschillende H^+ concentraties centraal staat. De gedachte die hieraan ten grondslag ligt, is dat een sterke ijzersubstraatbinding mogelijk de ijzerretentie in de weg staat. Omdat het voedsel in de maag in een zuur milieu komt, is onderzocht of de H^+ concentratie een invloed heeft op vorming of ontbinding van een substraat-ijzerioncomplex. Deze substraten zijn in vivo opnieuw onderzocht. De uitkomsten van de vitro proeven en de twee vivo experimenten vertonen weinig punten van overeenkomst, zoals in het volgende overzicht moge blijken:

	Vitroeffekt: Binding met ijzerionen	Vivo-effekt:	
		Negatieve invloed: op de totale ijzer- huishouding	Remmend effect op de ijzerretentie
ei	ja	gering	ja
karnemelk	nee	nee	
melk	nee	ja	gering
brood	nee	nee	
kokosvet	nee	nee	nee
maisolie	nee	ja	nee
rundvet	nee	pos. invloed	nee

Een uitzonderingspositie wordt door het ei ingenomen, dat zowel in vitro een binding met ijzerionen aangaat, als ook bij de dierproeven een invloed op de ijzerhuishouding te zien geeft.

De effecten van de verschillende voedingsmiddelen worden hierna apart besproken.

4.2. HET EFFEKT VAN EI

In de literatuur zijn reeds onderzoeken uitgevoerd, waarbij de invloed van het ei op de retentie van een toegevoegd ijzerzout is nagegaan:

- I. CHODOS, ROSS, APT, POLLYCOVE en HALKETT (1957)
- II. SCHULZ en SMITH (1958,2)
- III. ELWOOD (1968)
- IV. FRITZ, PLA, ROBERTS, BOEHNE en HOVE (1970)

De onderzoeken zijn echter alle verschillend uitgevoerd.

CHODOS et al gaven radioactief ferrochloride (met ascorbinezuur) met of zonder ei oraal aan gezonde proefpersonen. Hierna werd gemeten hoeveel radioactief ijzer in het bloed resp. in de faeces verscheen.

SCHULZ en SMITH bepaalden de radioactiviteit van de faeces van kinderen in de leeftijd van 4 tot 48 maanden, nadat de kinderen een orale doses gemerkt ferrosulfaat gekregen hadden.

ELWOOD bepaalde de hoeveelheid radioactief ijzer in het bloed, nadat de proefpersonen een ontbijt genuttigd hadden. Aan het brood was radioactief ferrosulfaat toegevoegd. Enkele personen aten dit ontbijt zonder ei, anderen met een zachtgekookt ei.

FRITZ et al onderzochten ijzerdeficiënte kuikens en vergeleken het herstel van de dieren die alleen ferrosulfaat aan het dieet kregen toegevoegd met het herstel van de dieren die dezelfde hoeveelheid ferrosulfaat kregen met het dieet, waaraan tevens 5% eipoeder aan toegevoegd was.

De uitkomsten zijn:

Auteurs	Behandeling van het ei	Onderzoek met	IJzerzout	Waargenomen effect op de ijzerretentie
I	roerei	volwassen personen	ferrozout met ascorbinezuur	remmend
II	roerei	kinderen 4-48 mnd.	ferrozout	geen invloed
III	vers gekookt	volwassen personen	ferrozout in brood	sterk remmend
IV	eipoeder	kuikens	ferrozout	geen invloed

Gezien de uiteenlopende proefomstandigheden zijn de uitkomsten moeilijk met elkaar te vergelijken. Een voorzichtige poging tot evaluatie levert de volgende konklusie:

Een ei (rauw, zachtgekookt, hardgekookt of gebakken) heeft een remmende invloed op de retentie van het ijzer, dat gelijk met het ei ingenomen wordt. Bij jonge kinderen hebben eieren nauwelijks of geen invloed op de retentie van het gelijktijdig ingenomen ijzer. Indien ei tot een poedervormig produkt wordt verwerkt, verdwijnt het remmende effect.

4.3. HET EFFEKT VAN MELK EN KARNEMELK

In vitro vormen ijzerionen geen verbindingen met melkeiwitten. Uit vivo proeven is gebleken dat dieren die melk dronken na 6-7 maanden minder ijzer in het lichaam hadden dan dieren die hetzelfde vaste voer kregen, doch water erbij dronken. Melk heeft tevens een direkt remmend effect op de ijzerretentie.

Het lijkt niet waarschijnlijk, dat de ijzerretentie tegengewerkt kan worden als gevolg van de aangetoonde voorkeur van ijzerionen om zich in de buurt van melkcomponenten op te houden. Het effect dat het drinken van melk heeft op de ijzerretentie en de ijzerstatus van de rat moet dan ook eerder verklaard worden door andere effecten. Zo'n ander effect kan het bufferend vermogen zijn dat melkeiwitten hebben, waardoor er geen lage pH ontstaat in de maag en waardoor de reductie van driewaardige ijzerionen minder snel verloopt (BERGEIM en KIRCH, 1949; CONRAD en SCHADE, 1968).

De ratten die karnemelk dronken, vertoonden weinig verschillen met de dieren van de controle groep die water kregen. Karnemelk onderscheidt zich o.a. van melk door een lager vetgehalte (3,2% vet voor melk; 0,4% vet voor karnemelk) en door een lagere pH (melk heeft een pH van 6,5-7,0, karnemelk heeft een pH van $\pm 3,5$).

De melk is in flessen met drinknippel gegeven. De dieren dronken de melk dientengevolge van onderen af. Er is bovendien dagelijks bij de verversing van de melk zoveel gegeven, dat de dieren de melk nooit helemaal opdronken en doorgaans niet toekwamen aan de vetrijke bovenlaag. De karnemelk kon niet op deze wijze gegeven worden, daar de uitzakkende bestanddelen van de karnemelk het drinkstelsel binnen enkele uren verstopten. De karnemelk is daarom in open aardewerk bakjes gedaan. Het leek niet raadzaam de melk op dezelfde wijze toe te dienen, daar de dieren dan wel eens te veel vet naar binnen zouden kunnen krijgen. Uit de manier waarop melk en karnemelk aan de ratten is toegediend, moge blijken dat, als gevolg van die wijze van toediening, het verschil in vetgehalte tussen melk en karnemelk in de praktijk voor de ratten minder groot is geweest dan tussen genoemde 3,2% resp. 0,4%. Deze verandering in de samenstelling van de gedronken melk en karnemelk die onvermijdelijk verbonden was aan de wijze van toediening, had tot gevolg dat het verschil in vetgehalte in feite kleiner werd, terwijl het verschil in bufferend vermogen eerder toenam (als gevolg van het van boven af drinken van de karnemelk bleef dagelijks eiwitrijk bezinsel over in de bakjes).

Het gemeten verschil in effect van melk en karnemelk op de ijzerhuishouding lijkt dan ook het gevolg te zijn van een verschil in vermogen om een lage zuurgraad in de maag van de ratten te voorkomen. Er bestaat nog een, eventueel additieve, mogelijkheid. De lagere ijzerstatus van de ratten die melk dronken, kan het gevolg zijn van een verhoogde ijzeruitscheiding via het maagdarmkanaal. Het is in principe mogelijk dat een ijzer tekort in het lichaam ontstaat, doordat er te weinig ijzer inkomt of doordat er te veel ijzer uitgaat.

Het lichaam van de rat kan ijzer kwijtraken door verlies van ijzer in de haren, in de urine en via het darmkanaal. De eerste twee mogelijkheden betekenen slechts zeer weinig ijzerverlies en er waren ook geen aanwijzingen om deze mogelijkheden nader te onderzoeken. Het verlies van ijzer via het darmkanaal behoort echter tot de mogelijkheden waarmee rekening gehouden moet worden. Het ijzerverlies via de darmen kan gebeuren doordat ijzerhoudend darmepitheel versneld uitgescheiden wordt, al of niet gepaard gaande met een gering bloedverlies. Beide effecten, dus hoog eiwitgehalte, resulterend in een buffering

van maagzuur en versnelde afbraak van het darmepitheel als gevolg van koemelkconsumptie, zijn ook bij zuigelingen aangetroffen.

GROSS, VERGIS en GOOD (1968) toonden aan, dat een hoog eiwitgehalte in de voeding (2,4 gr/100 ml) van kinderen van 0-18 maanden samenging met het vóórkomen van ijzertekort. IJzertekort kwam het minst frekwent voor bij babies die een voeding kregen met het laagste eiwitgehalte (1,5 gr/100 ml), onafhankelijk of daar ijzer aan toegevoegd was (8 gr Fe/100 ml) of niet.

Bij kinderen is o.a. door LAHEY (1970, pag. 33) vastgesteld dat er een korrelatie bestaat tussen het vóórkomen van hemoglobine (en dus van ijzer) in de faeces en het drinken van koemelk. Bij twee kinderen kon er een direkt verband gevonden worden tussen de hoeveelheid melk die gedronken werd en de hoeveelheid hemoglobine die in de faeces werd aangetoond. Het hemoglobine in de faeces werd met ^{51}Cr gemerkte erythrocyten vastgesteld. Bij kinderen van ± 1 jaar werd een dagelijks bloedverlies geconstateerd van $\pm 1-15$ ml bij consumptie van ± 1 liter melk. Dit komt overeen met een ijzeruitscheiding van $\pm 0,4-7$ mg ijzer per dag.

Bij ratten van 4-6 maanden is de mogelijkheid van bloedverlies via het maagdarmkanaal als gevolg van melkconsumptie nog nader onderzocht. Er werd nagegaan of melkdrinkende dieren met ^{59}Fe in het lichaam deze activiteit sneller kwijt raakten dan soortgelijke dieren die water kregen. Er bleek na twee maanden geen enkel verschil tussen de beide groepen dieren te bestaan.

Ter oriëntering: bij 50% van de kinderen met een ijzertekort werd een bloedverlies via het maagdarmkanaal als gevolg van melkconsumptie vastgesteld. Het ging om een melkconsumptie van 1 liter koemelk of meer per dag. Deze kinderen wogen ± 10 kg. De ratten wogen bij het begin van de proef ± 80 gram en dronken daarbij gemiddeld 20 ml melk.

4.4. HET EFFEKT VAN BROOD

Het toevoegen van 20% gedroogd bruinbrood aan het controlevoer heeft geen invloed op de ijzerstatus van de ratten in vergelijking met de ratten die het controlevoer kregen. Er was geen verschil te zien tussen de groep dieren die het voer kregen waaraan ferricitraat was toegevoegd en de groep dieren die het broodvoer kregen dat met hemoglobine op 30 ppm ijzer was gebracht. Het ijzergehalte van beide diëten was gelijk, evenals de hoeveelheid ijzer in de dieren van beide groepen na afloop van de proef. Hieruit kan gekonkludeerd worden dat beide ijzerbronnen door de ratten, onder de proefomstandigheden, op gelijke wijze benut konden worden.

4.5. HET EFFEKT VAN KOKOSVET, MAISOLIE EN RUNDVET

Hoewel dialyse-experimenten geen ijzer-vet binding aantonen, blijkt uit de vitro proeven dat het toevoegen van 20% vet aan het dieet zowel invloed heeft

op het totale ijzerniveau van de dieren als ook op de verdeling van het aanwezige ijzer over de onderzochte organen. Er is evenwel geen directe invloed aangetoond van de drie onderzochte vetten op de ijzerretentie.

De dieren die het voer aten waar kokosvet aan toegevoegd was, hadden minder ijzer in de milt dan de dieren van de controle groep die geen extra vet kregen in hun dieet, doch dit lagere ijzergehalte van de milt is gekompenseerd door een verhoogd ijzergehalte van de lever; de overige onderzochte organen vertoonden geen afwijkende ijzerwaarden.

De dieren die het voer aten waar maisolie aan toegevoegd was, hadden een duidelijk verlaagd ijzerniveau, hoofdzakelijk als gevolg van een verlaagd ijzergehalte van de milt. Ook bij deze dieren is gekonstateerd dat het ijzer in het lichaam van de ratten bij voorkeur in de lever werd opgeslagen. Het totaal ijzergehalte van de levers lag bij deze dieren op het niveau van de controle dieren. Ook de nieren hadden een verlaagde ijzerconcentratie.

Het toevoegen van rundvet aan het dieet had tot gevolg dat de dieren die dit dieet gedurende $6\frac{1}{2}$ maand aten, een verlaagde milt-ijzerconcentratie hadden, doch dat daar tegenover stond dat de ijzerconcentratie van de lever duidelijk verhoogd was, evenals de ijzerconcentraties van de pancreas en de dunne darm.

Deze verschillende effecten kunnen als volgt in hun totaliteit samengevat worden:

- a. het type vet heeft invloed op het ijzerniveau van de ratten;
- b. het toevoegen van 20% vet aan vetarm controlevoer heeft tot gevolg dat er een specifieke verdeling plaats vindt van het ijzer over de milt en de lever.

5. SAMENVATTING

Het onderwerp dat in dit proefschrift behandeld wordt, hangt ten nauwste samen met het feit dat het ijzerniveau van de voeding in de westerse landen als laag wordt beoordeeld. Behalve door het gehalte aan ijzer van de voeding wordt de retentie van ijzer door de mens (en het proefdier: de rat) o.a. bepaald door de samenstelling van het voedselpakket. In dit onderzoek zijn een aantal uiteenlopende voedingsmiddelen of bestanddelen ervan, te weten: ei, karnemelk, melk, brood, kokosvet, maisolie en rundvet, onder vergelijkbare omstandigheden in vitro en in vivo onderzocht ten einde na te gaan of deze zeer algemeen voorkomende produkten een remmende invloed op de ijzerretentie hebben. Het begrip ijzerretentie is evenals ijzerabsorptie nader omschreven (pag. 10).

In een uitgebreid literatuur overzicht zijn een aantal uiteenlopende factoren beschreven die de ijzerretentie beïnvloeden.

In vitro is bij verschillende pH's nagegaan of genoemde produkten een binding met twee- of driewaardig ijzerionen kunnen aangaan. Een laag gekoncentreerde, radioactieve, ijzeroplossing is daartoe in contact gebracht met de verschillende voedingsmiddelen. Dit gebeurde in een, met semipermeabel materiaal, afgesloten ruimte. Kleine molekulen, zoals ijzerionen, worden door dit materiaal niet tegengehouden in tegenstelling tot grotere molekulen ($M > 12000$) en hydrofobe stoffen (vetten). De gemeten radioactiviteit buiten het afgesloten gedeelte is als maat genomen voor het bepalen van de bindingscapaciteit van het onderzochte voedingsmiddel voor ijzerionen. Door gebruik te maken van radioactief ijzer konden geringe hoeveelheden ijzerionen snel en nauwkeurig gemeten worden. De gedachte die aan de in vitro uitgevoerde experimenten ten grondslag ligt, is dat een sterke ijzersubstraatbinding mogelijk de ijzerretentie verlaagt.

De dierproeven bestonden uit langdurende en kortdurende experimenten. Tijdens de langdurende proeven is nagegaan of de samenstelling van het voer – zonder het ijzergehalte van het voer te veranderen – invloed uitoefent op de ijzerstatus van de ratten. Bij vier groepen dieren is de ijzerstatus gevolgd door aan het begin van de proef en na zes maanden ijzerretentiemetingen met behulp van radioactief ijzer te verrichten. Na beëindiging van de proef is het ijzergehalte van lever, milt, hart, nier, pancreas en dunne darm bepaald. Samen met de uitkomsten van de retentiebepalingen, voor zover uitgevoerd, zijn deze gegevens gebruikt om het effect van de verschillende toevoegingen aan de ratte-diëten te evalueren. Hierdoor konden gegevens worden verkregen over de invloed die de produkten op langere termijn uitoefenden en de fysiologische reactie van de dieren op de hun opgelegde voedselsituatie.

In de kortdurende dierproeven zijn effecten binnen veertien dagen gemeten. Om dit directe effect van de verschillende voedingsmiddelen op de ijzerretentie te bepalen, zijn een voedingsmiddel en een radioactieve ijzeroplossing in de maag van de rat met elkaar in contact gebracht. De sonde met het voedingsmiddel is het eerst gegeven, direkt gevolgd door een sonde met de radioactieve

ijzeroplossing De ijzerretentie is bepaald door de radioactiviteit van de dieren, als gevolg van de aanwezigheid van ^{59}Fe , direct na de toediening van de twee maagsondes en na veertien dagen te meten. Het niet gereteneerde ijzer heeft in de periode tussen beide metingen ruimschoots de gelegenheid gehad om het lichaam te verlaten. Alle radioactiviteitsmetingen die bij de ratten zijn verricht, zijn met behulp van een wholebody counter uitgevoerd.

Het voornemen om het projekt af te sluiten met retentiemetingen bij vrijwilligers is, in verband met het noodzakelijk geachte gebruik van radioactieve spurdoses voor deze metingen, komen te vervallen (toegelicht op pag. 5).

De uitkomsten van de in vitro en de twee in vivo uitgevoerde experimenten vertonen weinig punten van overeenkomst. Een uitzondering hierop vormt het ei, dat in vitro met ijzerionen een binding aangaat. Toegevoegd aan het voer geeft ei een remmend effect op de ijzerhuishouding van ratten te zien. Een duidelijk remmend effect op de ijzerretentie (kortdurende proef) is met een rauw en een hardgekookt ei waargenomen.

In vitro vormen ijzerionen geen verbindingen met melkeiwitten. Uit de in vivo uitgevoerde proeven blijkt dat dieren die melk dronken na 6-7 maanden minder ijzer in het lichaam hadden dan dieren die hetzelfde vaste voer kregen doch water dronken. Melk heeft tevens, hoewel niet zo uitgesproken als ei, een direct remmend effect op de ijzerretentie.

Het toevoegen van 20% gedroogd bruinbrood aan het controle voer heeft geen invloed op de ijzerstatus van de ratten in vergelijking met de ratten die het controle voer kregen.

Er is geen verschil te zien tussen de dieren die voer kregen waaraan ferricitraat was toegevoegd en de groep dieren die broodvoer kregen dat met hemoglobine op 30 ppm ijzer was gebracht. Hieruit volgt dat de dieren de beide ijzerbronnen (ferricitraat en hemoglobine) onder de gegeven proefomstandigheden op gelijke wijze benut hebben.

Het toevoegen van 20% kokosvet, maisolie of rundvet aan vetarm controle voer heeft bij de onderzochte rat tot gevolg dat er een specifieke verdeling plaats vindt van het opgenomen en opgeslagen ijzer over de milt en de lever. Daarbij heeft ook het type vet invloed op het ijzerniveau van de ratten. De gebruikte vetten onderscheiden zich van elkaar in het vetzuurpatroon. Kokosvet bestaat voor meer dan 75% uit verzadigde vetzuren met 14 of minder koolstofatomen. Maisolie bevat meer dan 80% één- of meervoudig onverzadigde vetzuren, terwijl rundvet voor 50% uit verzadigde vetzuren bestaat met 16 of 18 koolstofatomen. Rundvet heeft verder een groot aantal verschillende vetzuren, variërend van vetzuren met 14 koolstofatomen tot vetzuren met 18 koolstofatomen en twee onverzadigde bindingen.

Ten opzichte van de controle groep heeft het toevoegen van 20% maisolie aan het voer, een verlagende werking op het totale ijzerniveau van de dieren, terwijl rundvet dit niveau verhoogt. Kokosvet neemt wat dit betreft een tussenpositie in. De vetten verbinden zich in vitro niet met ijzerionen. Bij de kortdurende diervoorproeven is geen effect van kokosvet, maisolie of rundvet op de ijzerretentie waargenomen.

5. SUMMARY

DIETARY COMPONENTS THAT PREVENT IRON RETENTION

The subject dealt with in this thesis, is connected with the fact that the iron content of the human diet in the Western countries is thought to be low. Iron retention in man (and in the rat) is determined not only by the iron levels in the diet, but also by the food composition. Different foods or their components (egg, buttermilk, milk, bread, coconut fat, maize oil and beef fat) were studied in vitro and in vivo under comparable conditions to examine whether they had an inhibiting effect on the iron retention from the gut.

The definitions of iron retention and iron absorption are given on page 10, while different factors influencing iron retention are set out in an extensive literature survey.

To examine in vitro whether the foodstuffs bound ferrous or ferric ions, a weak solution of radioactive ferrous or ferric citrate was brought into contact with each of them in a sealed bag of semi permeable material. Unlike large molecules ($M > 12,000$) and hydrophobe fats, small molecules like ferrous and ferric ions are not stopped by this material. The radioactivity measured outside the enclosed space was used to determine the fixative capacity for ferrous or ferric ions of the particular food. By using radioactive iron it was possible to measure quickly and with great accuracy very small amounts of ferrous or ferric ions. The basic idea behind the experiments made in vitro was that a strong fixation between iron and the substrate could impede the iron retention.

Both long and short trials were done on animals. The long trials were used to see whether the food composition, without changing the iron content of the diet, affected the iron status of the rats. The iron status of four groups of rats was ascertained by taking ^{59}Fe iron retention measurements at the beginning and end of a six-month period. After concluding the experiments, the iron content of liver, spleen, heart, kidney, pancreas and duodenum were determined. Both these groups of results were used to assess the effect of the several additives to the rat diets. This data could be collected about the long term effect of the foodstuffs and the physiological response of the animals to the imposed feed situation.

To determine the direct effect of the different foodstuffs on iron retention, a specific food and a radioactive ferric citrate solution were introduced into the stomach of the rat. The cannula with the food was followed immediately by the cannula with the radioactive solution. The iron retention was determined by measuring the animal radioactivity immediately after the insertion of the two stomach tubes and again after two weeks. The period between the measurements was long enough to allow the non-retained iron to leave the body. Radioactivity of the rats was always measured with a whole body counter.

It was hoped to complete the project by using human volunteers, but because

radioactive tracers would have been used, the idea was cancelled (see page 5).

With the exception of egg, there was little correlation between experiments made in vitro and in vivo. In vitro, egg fixed ferric ions; in vivo, egg added to the diet, reduced iron levels in the rat. In the short trial, the use of both raw and hard boiled egg clearly inhibited iron retention.

In vitro, milk proteins did not fix ferrous or ferric ions. Trials in vivo showed that after 6-7 months on the same solid diet, bodies of rats drinking milk contained less iron than those of rats drinking water. It was found, though less obviously than with egg, that milk also had a directly diminishing effect on iron retention.

When 20% dried whole meal bread was added to the control diet, no effect on the amount of body iron was seen. No distinction was observed between the animals eating the diets with additions of ferric citrate and hemoglobin. All diets contained 30 ppm iron. The conclusion was that under the experimental conditions the rats utilized ferric citrate or hemoglobin in a similar way.

Rats eating the low-fat control diet with the addition of 20% coconut fat, maize oil or beef fat had a specific distribution of stored iron over the liver and the spleen. Also the type of fat affected the iron levels of the rats. The fats used differed in the proportions of the fatty acids. In coconut fat at least 75% of the fatty acid was saturated with 14 or less carbon atoms in the molecule. In maize oil more than 80% of the fatty acid was monoenoic, dienoic or trienoic and in beef fat half the fatty acid was saturated with 16 or 18 carbon atoms in the molecule. In contrast to the control, the addition of 20% maize oil to the diet lowered iron levels in the rats, while beef fat raised them. Coconut fat was intermediate. The experiments in vitro did not fix ferrous or ferric ions. In the short experiments coconut fat, maize oil or beef fat had no noticeable effect on iron retention.

6. LITERATUURLIJST

- AMANO, T. (1963, 1). Absorption of fatty acid-iron from the intestine. I. Absorption of iron after a single oral administration of fatty acid-iron. *Acta Med. Okayama* **17**: 139-146.
- AMANO, T. (1963, 2). Absorption of fatty acid-iron from the intestine. II. Absorption of iron after repeated oral administrations of fatty acid-iron and intravenous injection of colloidal fatty acid-iron. *Acta Med. Okayama* **17**: 147-152.
- AMINE, E. K. en HEGSTED, D. M. (1971). Effect of diet on iron absorption in iron-deficient rats. *J. Nutr.* **101**: 927-936.
- APTE, S. V. en VENKATACHALAM, P. S. (1964). The influence of dietary calcium on absorption of iron. *Indian J. Med. Res.* **52**: 213-218.
- APTE, S. V. en VENKATACHALAM, P. S. (1965). The effect of ascorbic acid on the absorption of iron. *Indian J. Med. Res.* **53**: 1084-1086.
- AUSTONI, M. E. en GREENBERG, D. M. (1940). Studies in iron metabolism with the aid of its artificial radioactive isotope. The absorption, excretion and distribution of iron in the rat on normal and iron-deficient diets. *J. Biol. Chem.* **134**: 27-40.
- BANNERMAN, R. M., O'BRIEN, J. R. P. en WITTS, L. J. (1962). Studies in iron metabolism IV. Iron absorption in experimental iron deficiency. *Blood* **20**: 532-546.
- BERETTA ANGIUSSOLA, A. (1970). The nutritional value of wine as regards its iron content. Pag. 71-74. Uit: 'Iron Deficiency', Editors: Hallberg, L., Harwerth, H.-G. en Vannotti, A. Academic Press, London.
- BERGEIM, O. en KIRCH, E. R. (1949). Reduction of iron in the human stomach. *J. Biol. Chem.* **177**: 591-596.
- BLANC, B., MAGNENAT, P. en DELALOYE, B. (1970). Factors affecting the bonding of iron and their influence on absorption and metabolism. Pag. 71-74. Uit: 'Iron Deficiency', Editors: Hallberg, L., Harwerth, H.-G., Vannotti, A. Academic Press, London.
- BOENDER, C. A. (1969). Absorptie en retentie van ijzer bij de mens. Van Gorcum en Comp. N.V., Assen.
- BOTHWELL, T. H., PIRZIO-BIROLI, G. en FINCH, C. A. (1958). Iron absorption. I. Factors influencing absorption. *J. Lab. clin. Med.* **51**: 24-36.
- BOTHWELL, T. H. (1964). Iron overload in the Bantu. Pag. 362-373. Uit: 'Iron Metabolism', Editor: F. Gross, Springer-Verlag, Berlin.
- BRISE, H. en HALLBERG, L. (1962). A method for comparative studies on iron absorption in man using two radioiron isotopes. *Acta Med. Scand. Suppl.* **376**: 7-22.
- BRISE, H. en HALLBERG, L. (1962). Influence of meals on iron absorption in oral iron therapy. *Acta Med. Scand. Suppl.* **376**: 39-45.
- BRODAN, V., BRODANOVÁ, M., KUHN, E., KORDAČ, V., en VÁLEK, J. (1967, 1). Influence of fructose on iron absorption from the digestive system of healthy subjects. *Nutr. Dieta (Basel)* **9**: 263-270.
- BRODAN, V., BRODANOVÁ, M., KUHN, E., KORDAČ, V. en VÁLEK, J. (1967, 2). Effect on the absorption of iron from the digestive tract by simultaneous absorption of nutrients II. Effect of fat. *Cesk. Gastroenterol. Vyz.* **21**: 393-400.
- BROWN, jr. E. B., DUBACH, R. en MOORE, C. V. (1958). Studies in iron transportation and metabolism. XI. Critical analysis of mucosal block by large doses of inorganic iron in human subjects. *J. Lab. clin. Med.* **52**: 335-355.
- CALLENDER, S. T. en WARNER, G. T. (1968). Iron absorption from bread. *Am. J. clin. Nutr.* **21**: 1170-1174.
- CALLENDER, S. T. en WARNER, G. T. (1970). Iron absorption from brown bread. *Lancet* **1**: 546-547.
- CAMPEN, D. R. van en MITCHELL, E. A. (1965). Absorption of ⁶⁴Cu, ⁶⁵Zn, ⁹⁹Mo and ⁵⁹Fe from ligated segments of the rat gastrointestinal tract. *J. Nutr.* **86**: 120-124.
- CHODOS, R. B., ROSS, J. F., APT, L., POLLYCOVE, M. en HALKETT, J. A. E. (1957). The absorp-

tion of radioiron labeled foods and iron salts in normal and iron-deficient subjects and in idiopathic hemochromatosis. *J. clin. Invest.* **36**: 314-326.

- CONRAD, M. E. en CROSBY, W. H. (1963). Intestinal mucosal mechanisms controlling iron absorption. *Blood* **22**: 406-415.
- CONRAD, M. E., WEINTRAUB, L. R., CROSBY, W. H. (1964). The role of the intestine in iron kinetics. *J. clin. Invest.* **43**: 963-974.
- CONRAD, M. E., FOY, A. L., WILLIAMS, H. L. en KNOSPE, W. H. (1967). Effect of starvation and protein depletion on ferrokinetics and iron absorption. *Am. J. Physiol.* **213**: 557-565.
- CONRAD, M. E. en SCHADE, S. G. (1968). Ascorbic acid chelates in iron absorption: a role for hydrochloric acid and bile. *Gastroenterology* **55**: 35-45.
- CROSBY, W. H., CONRAD, M. E., WHEBY, M. S. (1963).
The rate of iron accumulation in iron storage disease. *Blood* **22**: 429-440.
- DARYLL FORDE, C. (1934). *Habitat, Economy and Society*. Uitgegeven in 1934, in 1971 herdrukt door University Paperbacks.
- DAVIS, P. S., LUKE, C. G. en DELLER, D. J. (1966). Reduction of gastric iron-binding protein in haemochromatosis. *Lancet* **2**: 1431-1433.
- DIEZ-EWALD, M., WEINTRAUB, L. R. en CROSBY, W. H. (1968). Interrelationship of iron and manganese metabolism. *Proc. soc. Exp. Biol. Med.* **129**: 448-451.
- DOWDLE, E. B., SCHACHTER, D. en SCHENKER, H. (1960). Active transport of ⁵⁹Fe by everted segments of rat duodenum. *Am. J. Physiol.* **198**: 609-613.
- DUNN, J. A. (1968). The effect of dietary calcium salts and fat on iron absorption in the rat. *S. Afr. J. Med. Sci.* **33**: 65-70.
- DUTHIE, H. L., CODE, C. F. en OWEN JR., C. A. (1962). Absorption of iron from the small bowel of dogs. *Gastroenterology* **42**: 599-611.
- EDHOLM, O. G. (1969). On being lost on mountains, in deserts and at sea. Pag. 41.1-41.7.
A companion to medical studies. Volume 1. Editors in chief: R. Passmore, Robson, J. S. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh.
- ELNEIL, H. (1969). Man in hot and cold environments. Pag. 40.1-40.7. A companion to medical studies. Volume 1. Editors in chief: R. Passmore, Robson, J. S. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh.
- ELWOOD, P. C. (1963). A clinical trial of iron-fortified bread. *Brit. Med. J.* vol. i. 224-227.
- ELWOOD, P. C. (1968). Some epidemiological problems of iron deficiency anemia. *Proc. Nutr. Soc.* **27**: 14-23.
- ELWOOD, P. C., NEWTON, D., EAKINS, J. D. en BROWN, D. A. (1968). Absorption of iron from bread. *Am. J. clin. Nutr.* **21**: 1162-1169.
- FITCH, C. D., HARVILLE, W. E., DINNING, J. S. en PORTER, F. S. (1964).
Iron deficiency in monkeys fed diets containing soybean protein. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **116**: 130-133.
- FRITZ, J. C., PLA, G. W., ROBERTS, T., Boehne, J. W. en HOVE, E. L. (1970). Biological availability in animals of iron from common dietary sources. *J. Agr. Food Chem.* **18**: 647-651.
- FUJII, T., MATSUKI, Y. en HASEGAWA, H. (1968). Role of vitamin E in iron deficiency anemia. *Keio J. Med.* **17**: 207.
- GARINE, I. de (1971). Food is not just something to eat. *Ceres, FAO Review* **4** (1): 46-51.
- GEEVER, E. F., KAN, D. en LEVENSON, S. M. (1968). Effect of bacterial flora on iron absorption in the rat. *Gastroenterology* **55**: 690-694.
- GREENBERGER, N. J., RUPPERT, R. D. en CUPPAGE, F. E. (1967). Inhibition of intestinal iron transport induced by tetracycline. *Gastroenterology* **53**: 590-599.
- GROOT, R. DE (1971). Lokatie van ijzer aan melkeiwitten. Ingenieursonderzoek voor het vak Voeding aan de Landbouwhogeschool.
- GROSS, S., VERGIS, M. en GOOD, A. (1968). The relationship between milk protein and iron content on hematologic values in infancy. *J. Pediat.* **73**: 521-530.
- GROVES, M. L. (1960). The isolation of a red protein from milk. *J. Am. chem. Soc.* **82**: 3345-3350.
- GROVES, M. L. (1971) *Minor milk proteins and enzymes*. Uit: 'Milk Proteins, Chemistry and Molecular Biology'. Editor: McKenzie, H. A. Vol. II. Academic Press, London.

- HAFKESBRING, R. en FREEMAN, J. T. (1952). Comparative study of ascorbic acid levels in gastric secretion, blood, urine and saliva II. Saturation studies. *Am. J. med. Sci.* **224**: 324-328.
- HAHN, P. F., BALE, W. F., ROSS, J. F., BALFOUR, W. M. en WHIPPLE, G. H. (1943). Radioactive iron absorption by gastrointestinal tract. Influence of anemia, anoxia and antecedent feeding distribution in growing dogs. *J. exp. Med.* **78**: 169-188.
- HALKETT, J. A. E., PETERS JR., T. en ROSS, J. F. (1958). Studies on the deposition and nature of egg yolk iron. *J. Biol. Chem.* **231**: 187-199.
- HALL, G. J. L. en DAVIS, A. E. (1969). Inhibition of iron absorption by magnesium trisilicate. *Med. J. Aust.* **2**: 95-96.
- HALLBERG, L., SÖLVELL, L., BRISE, H. (1966). Search for substances promoting the absorption of iron. Studies on absorption and side-effects. *Acta Med. Scand. Suppl.* **459**: 11-21.
- HALLBERG, L., SÖLVELL, L. en ZEDERFELDT, B. (1966). Iron absorption after partial gastrectomy. A comparative study of the absorption from ferrous sulphate and hemoglobin. *Acta Med. Scand. Suppl.* **445**: 269-275.
- HALLBERG, L. (1970). Oral iron therapy absorption. Pag. 551-561.
Uit: 'Iron Deficiency'. Editors Hallberg, L., Harwerth, H.-G. en Vannotti, A. Academic Press, London.
- HALLGREN, B. (1953). Haemoglobin formation and storage iron in protein deficiency. *Acta Soc. med. Upsal.* **59**: 79-205.
- HALLY, A. D. en LLOYD, S. M. (1969). The gastrointestinal system. Pag. 30.1-30.55.
Uit: A companion to medical studies. Vol. 1. Editors in chief: R. Passmore and Robson, J. S. Blackwell Scientific Publications, Oxford en Edinburgh.
- HARTOG, C. DEN, (1969). *Nieuwe Voedingsleer*.
Aula-Boeken, Het Spectrum, Utrecht.
- HEGSTED, D. M., FINCH, C. A. en KINNEY, T. D. (1949). The influence of diet on iron absorption II. The interrelation of iron and phosphorus. *J. exp. Med.* **90**: 147-156.
- HEMMATI, A. (1968). Determination of the place of iron absorption in the intestinal canal by means of a remote-control intestinal capsule. *Deut. Med. Wochenschr.* **93**: 1468-1472.
- HENRY, R. J. (1964). *Clinical Chemistry, principles and technics*. Hoeber Medical Division, Harper and Row.
- HIROOKA, M., IKEDA, S. en KUBOTA, N. (1968).
Effect of dietary fat (soybean oil) on intestinal iron absorption in rats. *Tohoku J. exp. Med.* **95**: 243-252.
- HÖGLUND, S. (1969). Studies in iron absorption VI. Transitory effect of oral administration of iron on iron absorption. *Blood* **34**: 505-510.
- HÖGLUND, S. en REIZENSTEIN, P. (1969). Studies in iron absorption V. Effect of gastrointestinal factors on iron absorption. *Blood* **34**: 496-504.
- HÖGLUND, S. (1970). Deficiency and absorption of iron in man. *Acta Med. Scand. Suppl.* **518**: 5-24.
- HOPPING, J. M. en RULIFFSON, W. S. (1963). Effects of chelating agents on radioiron absorption and distribution in rats in vivo. *Am. J. Physiol.* **205**: 885-889.
- HUSSAIN, R. en PATWARDHAN, V. N. (1959). The influence of phytate on the absorption of iron. *Indian. J. med. Res.* **47**: 676-682.
- JACOBS, A. en GREENMAN, D. A. (1969). Availability of food iron. *Brit. med. J.* **1**: 673-676.
- JACOBS, A. M. en OWEN, G. M. (1969). The effect of age on iron absorption. *J. Gerontol.* **24**: 95-96.
- JOHNSTON, F. A. en CLARK, S. J. (1959). Reduction of ferric iron to the ferrous form during digestion in vitro with saliva. *Am. J. clin. Nutr.* **7**, 203-205.
- KAUFMAN, N., KLAVINS, J. V. en KINNEY, T. D. (1958). Excessive iron absorption in rats fed low-protein, high-fat diets. *Lab. Invest.* **7**: 369-376.
- KAUFMAN, R. M., POLLACK, S. en CROSBY, W. H. (1966). Iron-deficient diet: effect in rats and humans. *Blood* **28**: 726-737.
- KIMBER, C. en WEINTRAUB, L. R. (1968). Malabsorption of iron secondary to iron deficiency. *N. Engl. J. Med.* **279**: 453-459.

- KLAVINS, Y. V., KINNEY, T. D. en KAUFMAN, N. (1962). The influence of dietary protein on iron absorption. *Brit. J. exp. Pathol.* **43**: 172-180.
- KOIVISTOINEN, P., AHLSTRÖM, A. en JAPPINEN, T. (1968). Bioevaluation of dietary iron in growing rats. I. Relationship between the iron level in a milk powder diet and the response of growing rats. *Nutr. Dieta* **10**: 241-253.
- KRAUSE, U. en JENNER, H. (1970). Effect of fructose on iron absorption. *Acta Soc. Med. Upsal.* **75**: 266-270.
- KROE, D. J., KAUFMAN, N., KLAVINS, J. V. en KINNEY, T. D. (1966). Interrelation of amino acids and pH on intestinal iron absorption. *Am. J. Physiol.* **211**: 414-418.
- KROE, D. J., KINNEY, T. D., KAUFMAN, N., en KLAVINS, J. V. (1963). The influence of amino acids on iron absorption. *Blood* **21**: 546-552.
- KUHN, I. N., LAYRISSÉ, M., ROCHE, M., MARTÍNEZ-TORRES, C. en WALKER, R. B. (1968). Observations on the mechanism of iron absorption. *Am. J. clin. Nutr.* **21**: 1184-1188.
- LAHEY, M. E. (1970). Role of enteric blood loss related to ingestion of whole cow's milk. Uit: "Iron Nutrition in Infancy", Report of the sixty-second Ross Conference on Pediatric Research. Columbus, Ross Laboratories.
- LAYRISSÉ, M., COOK, J. D., MARTÍNEZ-TORRES, C., ROCHE, M., KUHN, I. N. WALKER, R. B. en FINCH, C. A. (1969). Food iron absorption: A comparison of vegetable and animal food. *Blood* **33**: 430-443.
- LAYRISSÉ, M., MARTÍNEZ-TORRES, C. en ROCHE, M. (1968). Effect of interaction of various foods on iron absorption. *Am. J. clin. Nutr.* **21**: 1175-1183.
- LEE, P. C., LEDWICK, J. R. en SMITH, D. C. (1967). Large and small doses of ascorbic acid in the absorption of ferrous iron. *Can. med. Ass. J.* **97**: 181-184.
- LUKE, C. G., DAVIS, P. S. en DELLER, D. J. (1967). Change in gastric iron binding protein (gastroferrin) during iron deficiency anaemia. *Lancet*, **1**: 926-927.
- MCCALL, M. G., NEWMAN, G. E., O'BRIEN, J. R. P. en WITTS, L. J. (1962). Studies in iron metabolism. I. The experimental production of iron deficiency in the growing rat. *Brit. J. Nutr.* **16**: 297-304.
- MCCOY, R. H. (1962). Dietary requirements of the rat. Pag. 68-103. Uit: 'The rat in laboratory investigation', Editors: Farris, E. J. en Griffith, J. Q. Hafner Publishing Company, 2nd edition, New York.
- MINNICH, V. et al (1968). Pica in Turkey II. Effect of clay upon iron absorption. *Am. J. clin. Nutr.* **21**: 78-86.
- MOORE, C. V. (1964). Iron nutrition. Pag. 241-255. Uit: 'Iron Metabolism', Editor: F. Gross. Springer-Verlag, Berlin.
- MOORE, C. V., DUBACH, R. (1951). Observations on the absorption of iron from foods tagged with radioiron. *Trans. Ass. Amer. Physicians.* **64**: 245-256.
- MORGAN, O. S., WEIR, D. G., GATENBY, P. B. B. en SCOTT, J. M. (1969). Study on an iron-binding component in human gastric juice. *Lancet*, **1**: 861.
- MURRAY, H. J., DELANEY, J. P. en STEIN, N. (1964). Use of isolated subcutaneous intestinal loops for direct study of intestinal absorption of radioisotopes in dogs. *Am. J. Dig. Dis.* **9**: 684-689.
- MURRAY, J. en STEIN, N. (1967). Effect of intestinal contents on uptake of radioiron by everted rat gut sacs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **125**: 411-413.
- NAJEAN, Y., ARDAILLOU, N. (1963). Technique de dosage de l'absorption digestive du fer à l'aide d'un indicateur inerte radio-actif. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* **3**: 82.
- Nutr. Rev.* (1967), **25**: 218-222.
- PETERS, T., APT, L., en ROSS, J. (1955). Iron-phosphate interactions influencing gastro-intestinal iron absorption. *Fed. Proc.* **14**: 415-416.
- PETERS, G. V. en MARTIN, H. E. (1937). Ascorbic acid in gastric juice. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **36**: 76-78.
- PIRZIO-BIROLI, G., BOTHWELL, T. H. en FINCH, C. A. (1958). Iron absorption. II. The absorption of radioiron administered with a standard meal in man. *J. Lab. clin. Med.* **51**: 37-48.
- PIRZIO-BIROLI, G. en FINCH, C. A. (1960). Iron absorption III. The influence of iron stores on iron absorption in the normal subject. *J. Lab. clin. Med.* **55**: 216-220.

- POLLACK, S., KAUFMAN, R. M. en CROSBY, W. H. (1964). Iron absorption: effects of sugars and reducing agents. *Blood* **24**: 577-581.
- POWELL, L. W. (1966). Normal human iron storage and its relation to ethanol consumption. *Australas. Ann. Med.* **15**: 110-115.
- RICHARDS, A. I. (1964). *Hunger and work in a savage tribe*. Meridian Books. The World Publishing Company, Cleveland and New York.
- RITCHIE, J. H., FISH, M. B., McMASTERS, V. en GROSSMAN, M. (1968). Edema and hemolytic anaemia in premature infants. A vitamine E deficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.* **279**: 1185-1190.
- ROMEIS, B. (1968). *Mikroskopische Technik*, 16e Auflage. R. Oldenburg Verlag, München.
- SALMOND, G. W. A. en GELLATLY, J. B. M. (1969). Some aspects of iron metabolism in rats, p.49-63. Uit: 'Nutrition and disease in experimental animals'. Editor: Tavernor, W. D. Baillière, Tindall en Cassell, London.
- SCHADE, S. G., FELSHER, B. F. en CONRAD, M. E. (1969). An effect of intestinal motility on iron absorption. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **130**: 757.
- SCHAUMLÖFFEL, E. (1965). Gewas destructie met een salpeterzuur-perchlorzuur-zwavelzuur mengsel. Uit: 'Voorschriften voor de analyse van gewassen'. Schouwenburg, J. Ch. van. Laboratorium voor Landbouwscheikunde, Instituut voor Bodemvruchtbaarheid.
- SCHOUWENBURG, J. CH. VAN (1965). Fotometrische bepaling van ijzer. Uit: 'Voorschriften voor de analyse van gewassen'. Laboratorium voor Landbouwscheikunde, Instituut voor Bodemvruchtbaarheid.
- SCHULZ, J. en SMITH, N. J. (1958, 1). A quantitative study of the absorption of food iron in infants and children. *Am. J. Dis. Child.* **95**: 109-119.
- SCHULZ, J. en SMITH, N. J., (1958, 2). A quantitative study of the absorption of iron salts in infants and children. *Am. J. Dis. Child.* **95**: 120-125.
- SORBIE, J., OLATUNBOSUN, D., CORBETT, W. E. N., VALBERG, L. S., LUDWIG, J. en JONES, C. (1971). Cobalt excretion test for the assessment of body iron stores. *Can. Med. Ass. J.* **104**: 777-782.
- SØRENSEN, E. W. (1965). Studies on iron absorption. *Acta Med. Scand.* **178**: 385-392.
- STEINKAMP, R., DUBACH, R. en MOORE, C. V. (1955). *Archs. intern. Med.* **95**: 181-193.
- STEWART, W. B., YUILE, C. L., CLAIBORNE, H. A., SNOWMAN, R. S. en WHIPPLE, G. H. (1950). Radioiron absorption in anemic dogs. Fluctuations in the mucosal block and evidence for a gradient of absorption in the gastro-intestinal tract. *J. exp. Med.* **92**: 375-382.
- TASKER, P. W. G. (1959). Ferrokinesics and iron utilization in malnutrition. *Trans. Roy. Soc. Trop. med. Hyg.* **53**: 467-474.
- TOMPSETT, S. L. (1940). Factors influencing the absorption of iron and copper from the alimentary tract. *Biochem. J.* **34**: 961-969.
- TURNBULL, A. L., CLETON, F. en FINCH, C. A. (1962). Iron absorption IV. The absorption of hemoglobin iron. *J. clin. Invest.* **41**: 1897-1907.
- VENKATACHALAM, P. S., BRADING, I. GEORGE, E. P. en WALSH, R. J. (1956). An experiment in rats to determine whether iron is absorbed only in the ferrous state. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **34**: 389-394.
- VERDOOREN, L. R. (1965). 'Change-over' proeven. *Stat. Neerl.* **19**: 323-333.
- VERLOOP, M. C., LIEM, K. S. en DE WIJN, J. F. (1970). Iron depletion and anemia due to iron deficiency. *Pag.* 383-390. Uit: 'Iron Deficiency'. Editors: Hallberg, L., Harwerth, H.-G. en Vannotti, A. Academic Press, London.
- WALSH, R. J. en CANTRILL, S. (1961). The site of absorption of iron from the gastro-intestinal tract. *N. Z. med. J.* **60**: 334-336.
- WAXMAN, S., PRATT, P. en HERBERT, V. (1968). Malabsorption of hemoglobin iron in pernicious anemia: correction with intrinsic factor-Containing substances. *J. Clin. Invest.* **47**: 1819-1825.
- WEINTRAUB, L. R., WEINSTEIN, M. B., HUSER, H. J. en RAFEL, S. (1968). Absorption of hemoglobin iron: the role of a heme-splitting substance in the intestinal mucosa. *J. clin. Invest.* **47**: 531-539.

- WHEBY, M. S., CONRAD, M. E., HEDBERG, S. E. en CROSBY, W. H. (1962). The role of bile in the control of iron absorption. *Gastroenterology* 42: 319-324.
- WHEBY, M. S. en CROSBY, W. H. (1963). The gastro-intestinal tract and iron absorption. *Blood* 22: 416-428.
- WIJN, J. F. DE, JONGSTE, J. L. DE, MOSTERD, W. en WILLEBRAND, D (1971). Haemoglobin, packed cell volume, serum iron and iron binding capacity of selected athletes during training. *J. Sports Med.* 11: 42-51.
- WILL, G. en BODDY, K. (1970). Influence of succinic acid on absorption of iron studied by whole-body monitoring. *Amer. J. clin. Nutr.* 23: 779-781.
- WORLD HEALTH ORGAN. Tech. Rep. Ser. (1971). Joint FAO/WHO Expert Committee on Nutrition, Eighth Report, no 477. Food Fortification, Protein-calorie Malnutrition. Geneva.
- WYNTER, C. V. A. en WILLIAMS, R. (1968). Iron-binding properties of gastric juice in idiopathic haemochromatosis. *Lancet* 2: 534-537.

CURRICULUM VITAE

A. B. Cramwinckel werd op 4 juni 1940 te Thimahi (Indonesië) geboren. In 1959 slaagde hij voor het eindexamen HBS-B aan het Hervormd Lyceum te Amsterdam. Na het vervullen van de militaire dienstplicht begon hij in 1961 aan de studie Levensmiddelenchemie aan de Landbouwhogeschool te Wageningen. Naast het hoofdvak zijn de vakken Levensmiddelenmikrobiologie, Fysische en Kolloïdchemie en Pedagogiek en Algemene Didaktiek in de doktoraalstudie opgenomen. In 1968 werd de studie voltooid, waarna hij als promotie-assistent bij de afdeling Voeding en Voedselbereiding van de Landbouwhogeschool het bovengenoemde onderzoek verrichtte.