

## AANHANGSEL I

Bij: Hoofdstuk VI, 6, § 2c.

### STATISTISCH VERSLAG OMTRENT EEN IJKMETHODE VOOR LEVER- EXTRACTEN, MET BEHULP VAN LANGS PERORALE WEG MET LOOD VERGIFTIGDE KONIJNEN \*).

#### § 1. Inleiding.

Om te onderzoeken of door proefnemingen op konijnen een activiteitsbepaling van leverextracten uitvoerbaar is, werd bij 18 konijnen in de loop van 5 jaar de verandering van de „kleurindex” onderzocht bij injectie met verschillende leverpreparaten na een voorafgaande perorale „vergiftiging” met lood (reeks 8 tot en met 17).

Ter vergelijking werden eveneens de veranderingen van de kleurindex onderzocht bij injectie met aminozuren (reeks 5) of cobalt (reeks 6) of te sterk verdunde preparaten van met lood vergiftigde konijnen (reeks 7). Als blanco bepalingen werden opgegeven: de normale kleurindexschommelingen bij onbehandelde dieren (reeks 1), de kleurindexverandering bij injectie van niet vergiftigde konijnen met een leverpreparaat (reeks 2), de kleurindexverandering na injectie van vergiftigde dieren met fysiologisch zout (reeks 3) en de kleurindexschommelingen tijdens het toedienen van het lood (reeks 4).

De kleurindex werd waargenomen om de 6 uur, gedurende een periode van ongeveer 72 uur na de inspuiting (indien er een inspuiting plaats vond; anders gewoon gedurende 72 uur).

Als maat voor de verandering van de kleurindex werd de maximale kleurindexdaling genomen, uitgedrukt in procenten van de hoogste waarde voor de daling.

De uitkomsten der verschillende reeksen waren, om een voorlopige indruk te krijgen, reeds vergeleken met behulp van de toets van Student.

Zoals uit de bijgevoegde histogrammen (zie fig. 25) blijkt, is de verdeling der waarnemingen bij de meeste behandelingswijzen verre van normaal; alleen de waarnemingen der normale kleurindexschommelingen (reeks 1) vormen een uitzondering.

Bij 4 reeksen is op de waarnemingen een toets voor normaliteit volgens R. C. Geary en E. S. Pearson toegepast; de resultaten zijn te vinden in tabel I.

In de eerste kolom betekent b.v. „3w — Mrt niet”: die waarnemingen uit de 3e reeks, die in de wintermaanden gedaan zijn, waarbij we die in Maart weglaten. Als wintermaanden werden bij dit onderzoek genomen: Januari, Februari, Maart, October, November en December.

---

\*) Door Mej. G. Grobben en Dr J. Hemelrijk Jr. Rapport S 60 van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum te Amsterdam. De Afdeling staat onder leiding van Prof. Dr D. van Dantzig.

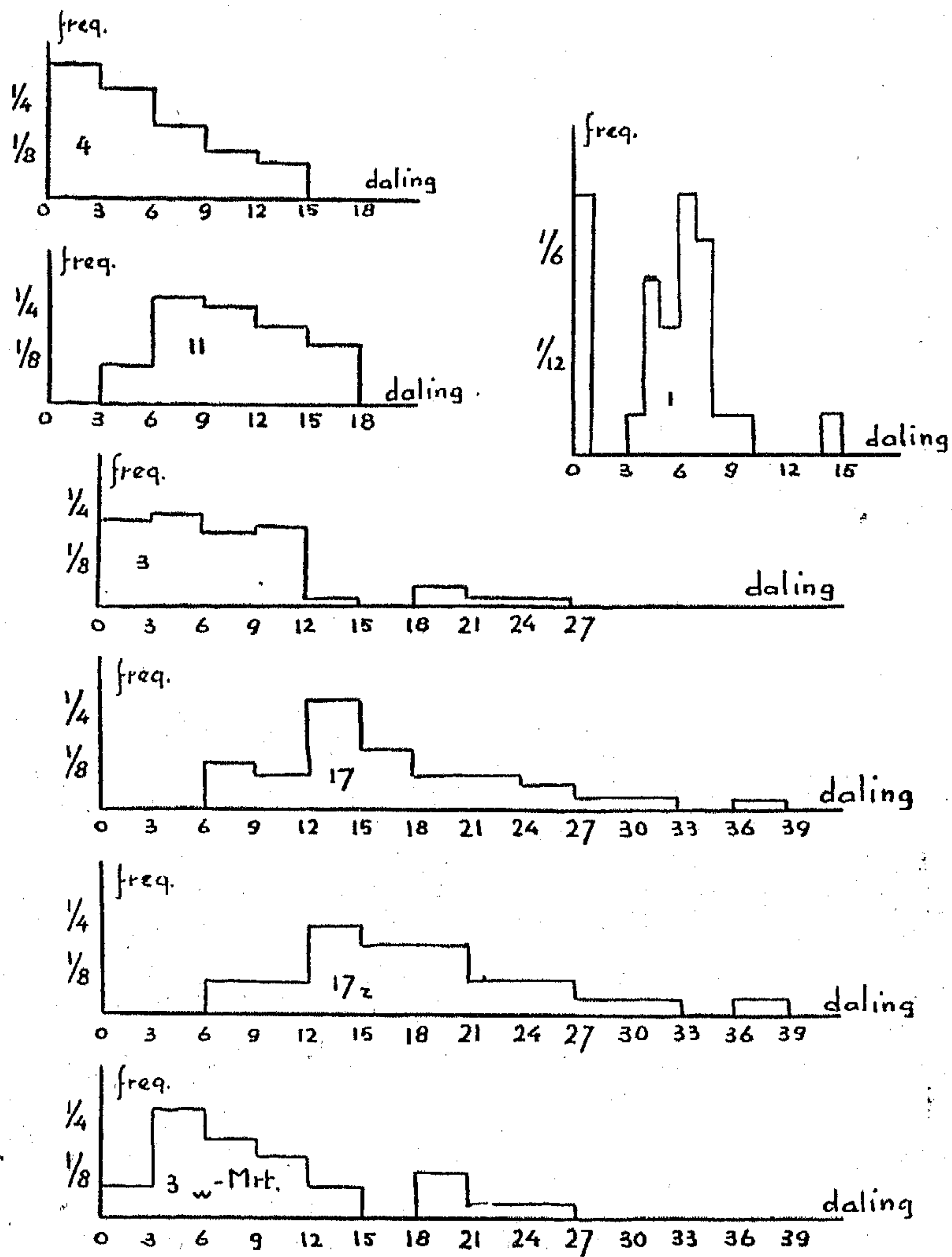


Fig. 25 Histogrammen van de maximale procentuele kleurindelingen.  
(de groepsnummers zijn in de figuren aangegeven)

Tabel I.  
Normaliteitstoetsing.

reeks	$a$	$\sqrt{b_1}$	ov. kans voor $\sqrt{b_1}$	ov. kans voor $a$
1	0.736	0.25	$>> 0.05$	$> 0.1$
$3_w$ - Mrt niet	0.799	0.895	$< 0.05$	$> 0.1$
$17_z$	0.88	1.03	$< 0.005$	$> 0.1$
17	0.785	0.944	0.01	$> 0.1$

De overige verdelingen wijken, blijkens hun histogrammen, nog sterker van normale af. Door vergelijking van de gevonden waarden van  $a$  en  $\sqrt{b_1}$  met de door Geary en Pearson opgegeven waarden blijkt:

De waarden van  $a$  wijken niet sterk af van die voor normale verdelingen, waarbij  $a$  in de buurt van 0.8 behoort te liggen (d.w.z. het maximum van de verdeling is niet stomper of scherper dan bij een steekproef uit een normale verdeling verwacht zou kunnen worden).

De waarde van  $\sqrt{b_1}$  bij reeks 1 wijkt niet te veel af van die bij een normale verdeling ( $\sqrt{b_1} = 0$ ).

Bij de proeven  $3_w$ ,  $17_z$  en 17 is de te grote waarde van  $\sqrt{b_1}$  aanleiding tot het verwerpen van een normale verdeling en tot de conclusie, dat de verdelingen scheef zijn.

Op grond van deze resultaten is bij de verdere onderzoeken de toets van Wilcoxon (zie aanhangsel IV) gebruikt, waarbij geen normaliteit hoeft te worden ondersteld.

## 2. Vergelijking van de reacties op een preparaat-injectie met de blanco-bepalingen.

De resultaten van dit onderzoek, welke dus vergeleken kunnen worden met de toekomst, berekend met de Student-toets, zijn samengevat in tabel II.

In tabel II en de volgende betekenen de tussen haakjes geplaatste getallen de aantallen waarnemingen in de desbetreffende waarnemingsreeksen. De eerste en tweede kolom geven de reeksen die vergeleken worden, in kolom drie is  $u$  het aantal inversies (= aantal malen dat een waarneming van de eerste reeks groter dan één van de tweede), kolom vier geeft de verwachtingswaarde van  $u$  (deze is gelijk aan  $mn/2$ , als  $m$  en  $n$  de aantallen der waarnemingen in de beide waarnemingsseries zijn), kolom vijf vermeldt de reeks waarin de waarnemingen het laagst waren en kolom zes geeft de twee-zijdige overschrijdingskansen bij de gevonden waarden voor  $u$ .

Vergelijking met de overschrijdingskansen, die met behulp van de toets van Student berekend zijn en in de laatste kolom opgenomen werden, geeft een goede overeenstemming te zien, behalve bij de vergelijking van 3 en 4. Dit laatste kan een gevolg zijn van de sterke afwijking van normaliteit, die 3 en 4 vertonen (zie de histogrammen van 3 en 4 in figuur 25). De toets van Student moet in dit geval als onbetrouwbaar worden beschouwd.

## 3. Onderzoek van het verstrekte materiaal.

Bij het voorafgaande onderzoek is er nog geen rekening mee gehouden, dat de proeven onder verschillende omstandigheden zijn verricht, waardoor verschillen zouden kunnen optreden, die niet het gevolg zijn van het verschil in de reparaten-toediening.

Tabel II.  
Toetsing van de werking der preparaten.

vergelijking tussen reeks		tussen reeks		u	Eu	kleinste waarn.	overschr. kans	ov. kans vlg. Student
1	(28)	2	(11)	47.5	154	1	0.0009	0.01
1	(28)	3	(60)	674.5	840	1	0.14	0.03
1	(28)	4	(33)	509.5	462	4	0.50	0.28
3	(60)	4	(33)	1229	990	4	0.056	0.01
3	(60)	5	(11)			3	0.00001	—
3	(60)	6	(2)			3	0.048	—
3	(60)	7	(7)	208.5	210	3	0.9	—
3	(60)	8	(8)	21.5	240	3	0.00003	0.01
3	(60)	9	(6)	233	180	9	0.25	0.45
3	(60)	10	(4)	45	120	3	0.044	—
3	(60)	11	(21)	118.5	630	3	0.00001	0.01
3	(60)	12	(6)	191	180	12	0.84	—
3	(60)	13	(6)	54	180	3	0.0060	—
3	(60)	15	(5)	17.5	150	3	0.0014	—
3	(60)	16	(3)	13	90	3	0.01	—
3	(60)	17	(33)	236.5	990	3	0.00001	0.01

Teneinde nu de onderlinge vergelijkbaarheid der verschillende reeksen waarnemingen na te gaan, is in principe een splitsing van de waarnemingen van iedere reeks naar de volgende kenmerken gewenst:

- 1) het jaar, waarin de proeven zijn verricht;
- 2) de jaargetijden, waarin de proeven vielen;
- 3) proeven in Maart en April en in overige maanden (Maart en April vormen de bronsttijd);
- 4) zomer en winter;
- 5) het geslacht der konijnen;
- 6) de konijnen zelf.

De onder 1) en 2) genoemde splitsingen konden niet worden uitgevoerd, daar er dan in iedere reeks te weinig waarnemingen van verschillende jaren resp. jaargetijden overbleven.

#### Splitsing 3.

Bij verschillende reeksen (waar de aantallen waarnemingen dit toelieten) werd de invloed van Maart en April onderzocht door de waarnemingen in Maart en April te vergelijken met de overige waarnemingen. De resultaten zijn verwerkt in tabel III.

In tabel III komen 2 significante verschillen voor tussen de maanden Maart en April en de overige maanden n.l. bij reeks 3 en reeks 4. Daar reeks 3 de voornameste blancobepaling is, is bij de volgende onderzoeken steeds nagegaan welk effect het weglaten der waarnemingen in Maart en April heeft op de resultaten.

#### Splitsing 4.

De resultaten van de toetsing tussen zomer- en winterwaarnemingen van de reeksen, waarbij dit mogelijk was, worden gegeven in tabel IV.

Tabel III.  
Invloed van Maart en April.

reeks	vergelijking tussen maanden		u	Eu	kleinere waarn.	overschr. kans
1	Mrt + Apr. (6)	rest (22)	62.5	66	Mrt + Apr.	0.8
3	Mrt + Apr. (20)	rest (40)	294.5	400	Mrt + Apr.	0.037
3w ♀	Mrt (6)	rest (13)	36.5	39	Mrt	0.78
3z ♀	Apr. (5)	rest (8)	10.5	20	Apr.	0.18
3w ♂	Mrt (5)	rest (13)	12.5	32.5	Mrt	0.052
3z ♂	Apr. (4)	rest (6)	15.5	12	rest	0.54
4	Mrt + Apr. (8)	rest (25)	162.5	100	rest	0.012
8	Mrt + Apr. (3)	rest (5)	12	7.5	rest	0.25
11	Mrt + Apr. (6)	rest (15)	48.5	45	rest	0.8

Tabel IV.  
Vergelijking van zomer- en winterwaarnemingen.

reeks	vergelijking tussen		u	Eu	kleinere waarn.	overschr. kans
1	zomer (19)	winter (9)	78.5	85.5	zomer	0.76
3	zomer (23)	winter (37)	279	425.5	zomer	0.026
3 ♀	zomer (13)	winter (19)	77	123.5	zomer	0.08
3 ♂	zomer (10)	winter (18)	62	90	zomer	0.19
4	zomer (20)	winter (13)	81.5	130	zomer	0.09
7	zomer (3)	winter (4)	7.5	6	winter	0.7
11	zomer (9)	winter (12)	66	54	winter	0.42
17	zomer (23)	winter (10)	168.5	115	winter	0.038
17 ♀	zomer (10)	winter (5)	27.5	25	winter	0.75
17 ♂	zomer (13)	winter (5)	56	32.5	winter	0.022

De waarnemingen in Maart en April weggelaten:

reeks	vergelijking tussen		u	Eu	kleinere waarn.	overschr. kans
1	zomer (17)	winter (3)	21.5	25.5	zomer	0.68
3	zomer (14)	winter (26)	114.5	182	zomer	0.057
3 ♀	zomer (8)	winter (13)	42	52	zomer	0.48
3 ♂	zomer (6)	winter (13)	16.5	39	zomer	0.055
4	zomer (20)	winter (5)	50	50	—	1
11	zomer (7)	winter (8)	39	28	winter	0.23

Het verschil tussen zomer- en winterwaarnemingen is bij de proeven van de reeksen 3 en 17 (bij splitsing volgens de geslachten alleen bij mannelijke dieren in reeks 17) significant. Hoewel door weglaten voor de waarnemingen in Maart en April deze significantie bij reeks 3 verdwijnt (bij reeks 17 kwamen geen waarnemingen in Maart en April voor, dus blijft de significantie bestaan) is toch



voor alle zekerheid bij het volgende gelet op een eventueel verschil tussen zomer- en winterwaarnemingen.

#### Splitsing 5.

De uitkomsten van de vergelijking der waarnemingsuitkomsten bij mannelijke en vrouwelijke dieren zijn verzameld in tabel V, (weer voor zover mogelijk in verband met de aantallen waarnemingen).

Tabel V.  
Onderzoek naar de invloed van het geslacht.

reeks	vergelijking tussen		u	Eu	kleinere waarn.	overschr. kans
3	1z	♂ (11)    ♀ (8)	52	44	♀	0.54
		♂ (28)    ♀ (31)	455.5	434	♀	0.64
	3z	♂ (10)    ♀ (31)	71.5	65	♀	0.70
17	3w	♂ (18)    ♀ (19)	168	171	♂	0.9
		♂ (18)    ♀ (15)	129.5	135	♂	0.9
	17z	♂ (13)    ♀ (10)	77	65	♀	0.48
11	17w	♂ (5)    ♀ (5)	7.5	12.5	♂	0.76
		♂ (7)    ♀ (14)	61.5	49	♀	0.36
	11z	♂ (2)    ♀ (7)	10	7	♀	0.072
	11w	♂ (5)    ♀ (7)	22.5	17.5	♀	0.5

De waarnemingen in Maart en April weggelaten:

reeks	vergelijking tussen		u	Eu	kleinere waarn.	overschr. kans
3		♂ (19)    ♀ (21)	206	199.5	♀	0.9
	3z	♂ (6)    ♀ (8)	18	24	♂	0.49
	3w	♂ (13)    ♀ (13)	93	84.5	♀	0.68
11	4z	♂ (9)    ♀ (11)	51	49.5	♀	0.9
		♂ (5)    ♀ (10)	30	25	♀	0.59
17		♂ (18)    ♀ (15)	142.5	135	♀	0.84
	17z	♂ (13)    ♀ (10)	77	65	♀	0.48
	17w	♂ (5)    ♀ (5)	5.5	12.5	♂	0.20

Uit deze tabel blijkt, dat er op grond van dit materiaal geen reden is onderscheid te maken tussen mannelijke en vrouwelijke dieren, daar er geen kleine overschrijdingskansen voorkomen.

#### Splitsing 6.

Om te onderzoeken of er een verschil bestaat tussen de konijnen, werden de konijnen verdeeld in konijnen met een grote en een kleine kleurindexdaling volgens reeks 1 en het verschil tussen deze beide groepen onderzocht bij verschillende reeksen.

Ook werd op dezelfde wijze gesplitst volgens grote en kleine daling in reeks 3 en deze verdeling getoetst bij andere reeksen.

Tenslotte werden, daar er bij splitsing volgens reeks 1 een significant verschil tussen beide groepen bij reeks 4 gevonden werd en bovendien vele waarnemingen uit reeks 1 en reeks 4 in dezelfde periode verricht waren n.l. Juli en Augustus

1947, de konijnen, alleen voor zover het de waarnemingen in deze maanden betrof, nog eens gesplitst in hoge en lage waarnemingen en deze verdeling werd getoetst in reeks 1.

De resultaten zijn opgenomen in tabel VI.

Tabel VI.

Onderzoek naar individuele verschillen tussen de konijnen.

Splitsing in hoog en laag volgens reeks 1.						
proef	vergelijking tussen		u	Eu	lagere waarn.	overschr. kans
3	laag (27)	hoog (25)	271.5	337.5	lage	0.40
4	laag (16)	hoog (15)	69	120	lage	0.05
5	laag	hoog	16	15	hoog	0.92
11	laag	hoog	63.5	55	hoog	0.57
17	laag	hoog	66	55	hoog	0.46

Splitsing in hoog en laag volgens reeks 3. Maart en April waarnemingen weggelaten.						
1z	laag (9)	hoog (10)	54	45	hoog	0.49
4z	laag (9)	hoog (8)	43.5	32	hoog	0.51
11	laag (6)	hoog (6)	12	18	laag	0.39
17	laag (16)	hoog (15)	122	120	hoog	1
17z	laag (11)	hoog (10)	47.5	55	laag	0.60
17w	laag (5)	hoog (5)	14.5	12.5	hoog	0.69

Splitsing in hoog en laag volgens reeks 4. Alleen voor de waarnemingen in Juli en Augustus 1947.						
1	laag (9)	hoog (10)	38.5	45	laag	0.60

Uit de grote overschrijdingskansen van deze tabel volgt, dat er geen reden is om systematische verschillen van enige betekenis tussen de bij de verschillende konijnen verkregen uitkomsten aan te nemen.

§ 4. Definitief onderzoek naar verschillen tussen de kolommen.

De reeksen onderling zijn nog eens vergeleken, maar nu met de onderscheiding tussen zomer en winter en voor zover mogelijk nog met weglating van de waarnemingen in Maart en April.

De resultaten staan in tabel VII. In de significanties komt door de weglating van Maart en April geen verandering, uitgezonderd bij de vergelijking tussen 3w en 17w.

Wanneer tabel IV met tabel II en de met de toets van Student verkregen overschrijdingskansen vergeleken worden, blijkt dat op drie na alle significante verschillen blijven bestaan. Deze 3 uitzonderingen zijn de verschillen tussen 1w en 2w, 3w en 6w, 3w en 10w, welke niet meer significant zijn. Bovendien is bij vergelijking van 11w met 15w zonder de Maart- en April-waarnemingen een significant verschil gevonden (wanneer als grens voor significantie en overschrijdingskans 0.05 genomen wordt); dit verschil werd met de toets van Student niet gevonden. In het algemeen zal hier het met de toets van Wilcoxon verkregen resultaat betrouwbaarder zijn dan het met de toets van Student

Tabel VII.  
Vergelijking der preparaten en blanco bepalingen.

vergelijking tussen		u	Eu	kl. waarn.	overschr. kans	Mrt+Apr. aant. waarn.	weggelaten ov. kans
1z (19)	2z (4)	1.5	38	1	0.0038	—	—
1w (9)	2w (7)	15	31.5	1	0.09	—	—
1w (9)	2w (4)	0	18	1	0.0028	—	—
1z (19)	3z (23)	215	218.5	1	0.9	(19)—(14)	0.60
1w (9)	3w (37)	120	166.5	1	0.20	—	—
3z (23)	4z (20)	254.5	230	4	0.60	(14)—(20)	0.26
3w (37)	4w (13)	286	240.5	4	0.26	(26)—(5)	0.01
3w (37)	5w (11)	32	203.5	3	0.00006	(26)—(7)	0.0044
3w (37)	6w (2)	10	37	3	0.102	—	—
3w (37)	7w (4)	69.5	74	3	0.8	—	—
3z (23)	7z (3)	21.5	34.5	3	0.32	—	—
3z (23)	8z (3)	0	34.5	3	0.007	—	—
3w (37)	8w (5)	7	92.5	3	0.0009	—	—
3w (37)	8z (3)	14.5	55.5	3	0.036	—	—
3z (23)	9z (4)	45.5	46	3	1	—	—
3w (37)	9w (2)	59	37	9	0.19	—	—
3w (37)	10w (4)	37.5	74	3	0.114	—	—
3z (23)	11z (9)	5	103.5	3	0.00004	(14)—(7)	0.0026
3w (37)	11w (12)	70.5	222	3	0.00048	(26)—(8)	0.014
3z (23)	12z (6)	58.5	69	3	0.58	—	—
3z (23)	13z (3)	7	34.5	3	0.024	—	—
3w (37)	13w (3)	15.5	55.5	3	0.044	—	—
3w (37)	15w (5)	9.5	92.5	3	0.0002	(26)—(5)	0.012
3w (37)	16w (3)	13	15.5	3	0.024	—	—
3z (23)	17z (23)	14	264.5	3	0.00001	(14)—(23)	0.00001
3w (37)	17w (10)	94	185	3	0.018	(26)—(10)	0.060
3w (37)	17z (23)	116	425.5	3	0.00001	(26)—(23)	0.00014
5w	11w			11		(7)—(8)	0.152
5w	15w			5		(7)—(5)	0.48
5w	17w			17		(7)—(10)	0.012
5w (11)	17z (23)	123.5	126.5	5	0.9	(7)—(23)	0.69
11w	15w			11		(8)—(5)	0.044
11z	17z			17		(7)—(23)	0.64
11w	17w			17		(8)—(10)	0.18

verkregene, wegens de afwijkingen van de normaliteit. Anderzijds is het mogelijk dat door de splitsing in kleinere groepen bepaalde werkelijk bestaande verschillen niet meer worden gevonden. Dit kan gecontroleerd worden door het uitvoeren van een groter experiment met proeven, die onder gelijke omstandigheden genomen worden.

#### § 5. Conclusies.

1). De gebruikte maat (maximale kleurindexdaling) is niet normaal verdeeld. Men gebruikte daarom een niet op normaliteit gebaseerde toetsingsmethode.

2). Er is een aanwijzing dat de reactie 's winters van die des zomers verschilt. De reactie is in de maanden Maart en April onregelmatig in vergelijking met de rest van het jaar.



3). De kleurindexdaling is bij inspuiting met aminozuren en met de preparaten A (reeks 8), D (reeks 11), G (reeks 13), K (reeks 15), L (reeks 16), M (reeks 17) duidelijk groter dan bij inspuiting met fysiologisch zout (vgl tabel VII). Wij vonden echter geen verschil in reactie met de fysiologisch-zout reeks (3) bij de sterk verdunde preparaten en bij de preparaten B (reeks 9), C (reeks 10) en F (reeks 12).

Verder bleek er een significant verschil te zijn tussen de kleurindexdalingen bij onbehandelde dieren en de niet met lood vergiftigde dieren, die een leverinjectie kregen (reeksen 1 en 2). Vergiftiging met lood en injectie van fysiologisch zout deed de dalingen echter niet significant stijgen (reeksen 1 en 3).

Wij zien dus, dat de aminozuren een dergelijke reactie veroorzaken als de leverpreparaten en dat ook zonder loodvergiftiging reactie optreedt tengevolge van leverpreparaten.

Een deel van de berekeningen is uitgevoerd door de rekenafdeling van het Mathematisch Centrum.