

# Die Verteilung des Kreatins im Säugetierkörper.

Von

J. C. Beker.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. Juli 1913.)

Die zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre über die Ausscheidung und die Bildung des Kreatinins haben den von einigen Forschern gehegten Zweifel über die Herstammung des Harnkreatinins aus dem Kreatin der Organe wohl größtenteils aufgehoben. Über das Maß, in welchem die verschiedenen Organe des Säugetierkörpers zur Bildung von Kreatin beitragen, ist aber nur wenig bekannt. Sicher ist es wohl, daß die willkürlichen Muskeln weitaus den größten Teil des im Körper vorhandenen Kreatins enthalten und daß auch die Leber kreatinreicher ist als das Blut. Man weiß auch schon seit langer Zeit, daß im Gehirn Kreatin vorkommt.<sup>1)</sup> Es ist aber für die Kenntnis des Kreatins als Stoffwechselprodukt wünschenswert, zu wissen, in welcher Menge dieser Stoff in allerhand Organen vorkommt.

Es ist zwar, wenn in irgend einem Organ mehr Kreatin als im Blut gefunden wird, nicht ohne weiteres daraus zu folgern, daß dieses Kreatin auch in diesem Organ gebildet worden sei. Es wäre denkbar, daß es vom Blut zugeführt und in dem Organ aufgestapelt wäre. Man hat aber für eine solche Annahme keinen positiven Grund. Auch wäre man dann, wenn der Kreativegehalt des Organs ziemlich konstant gefunden wurde, genötigt, einen der Zufuhr entsprechenden Verbrauch von Kreatin im Organ anzunehmen.

Der Hauptzweck dieser Mitteilung ist, einen Beitrag zur Kenntnis des Kreativegehalts verschiedener Organe zu liefern.

<sup>1)</sup> W. Müller, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 103, S. 132.

Ssubotin, Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 28, S. 114.

Die Kreatinbestimmung im Blut fand in folgender Weise statt.

Vom defibrinierten Blut wurde eine abgemessene Menge, gewöhnlich 1 l, sofort in die zweifache Menge mit Salzsäure angesäuerten, kochenden Wassers ausgegossen und, unter Zusatz von soviel Salzsäure, daß empfindliches Lackmuspapier eben gerötet wurde, eine Viertelstunde lang gekocht. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zweimal mit Wasser zerrieben und in einer Handpresse ausgepreßt. Die vereinigten Filtrate wurden auf dem Wasserbad bis zu 1 l eingeeengt und dann, zur Entfernung von noch gelöstem Eiweiß und Farbstoff, mit 10 ccm Bleiessig versetzt. Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, bis auf 20 ccm eingedampft und mit dem doppelten Volumen n-Cl eine halbe Stunde im Autoklaven auf 115° C. erhitzt. Dann wurde der Gehalt an Kreatinin in der bekannten Weise nach Folin bestimmt.

In willkürlichen Muskeln wurde die Kreatinbestimmung in der von Pekelharing und van Hoogenhuyze<sup>1)</sup> beschriebenen Weise gemacht.

Das 5stündige Kochen mit 1%iger Salzsäure, zur Aufschließung, lieferte aber bei mehreren anderen Organen große Schwierigkeiten. Die Dekokte von Leber, Niere, Pankreas waren sehr dunkel gefärbt und ließen sich, auch mittels kolloidalem Eisen, nicht genügend klären, sodaß eine einigermaßen genaue kolorimetrische Kreatininbestimmung nicht möglich war. Es mußte also versucht werden, das Kreatin ohne Kochen mit Salzsäure aus diesen Organen zu entfernen.

Mittels Kontrollversuchen mit willkürlichen Muskeln ließ sich nachweisen, daß auch das Ausziehen des möglichst gut zerkleinerten Organs mit kaltem Wasser ziemlich wohl zum Ziel führt.

Zerhackte Muskelsubstanz wurde in zwei gleiche Teile verteilt. Die eine Hälfte wurde in der üblichen Weise mit HCl zerkocht und weiter zur Kreatininbestimmung verarbeitet. Die andere Hälfte wurde erst in Wasser gekocht, nach Abgießen des Wassers mit Sand und Kieselgur tüchtig verrieben, in Wasser aufgenommen und nach drei Stunden in der Handpresse aus-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 264.

gepreßt. Das Zerreiben, Ausziehen mit Wasser und Auspressen wurde dreimal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden eingengt und für die Kreatininbestimmung verwendet. So wurde in vier Versuchen gefunden:

	Mit HCl gekocht	Mit Wasser ausgezogen
I.	391 mg Kreatinin	374 mg Kreatinin
II.	479 „ „	464 „ „
III.	417 „ „	382 „ „
IV.	440 „ „	401 „ „

Das Kreatin wird also dem Muskel, auch bei möglichst gutem Zerreiben, durch Wasser nicht vollständig entzogen. Immerhin ist der Fehler bei weitem nicht so groß und so unberechenbar, wie es bei der kolorimetrischen Bestimmung in stark gefärbten Flüssigkeiten der Fall ist.

Die wässerigen Extrakte von Leber, Niere, Pankreas, werden aber beim Kochen mit Salzsäure im Autoklaven viel stärker gefärbt als die Muskelextrakte. Jetzt konnte die Entfärbung mittels kolloidalen Eisens mit Vorteil verwendet werden. In bezug auf Blut hat Rona<sup>1)</sup> mitgeteilt, daß das Kreatin vom kolloidalen Eisen nicht adsorbiert wird. Das hat auch Geltung für das Gemenge von Kreatin und Kreatinin, welches im durch Zerkochen des Muskels in 1%iger Salzsäure bereiteten Extrakt enthalten ist. Das Filtrat des unter Neutralisation gekochten Extraktes wurde in zwei gleiche Hälften verteilt. Die eine Hälfte wurde in der gewöhnlichen Weise zur Kreatininbestimmung verwendet, die andere, vor dem Kochen mit Salzsäure im Autoklaven, mit der Lösung von Ferrum oxydatum dialysatum (1 ccm für 1 g Muskel) und ein wenig Magnesiumsulfat versetzt, filtriert und ein aliquoter Teil des Filtrates weiter verarbeitet. Dadurch wurde kein Kreatinin der Bestimmung entzogen. In vier Versuchen wurde gefunden:

	Ohne Eisen	Mit Eisen
I. Muskel, Hund	326,4 mg Kreatinin	322,2 mg Kreatinin
II. „ Kaninchen	451 „ „	450 „ „
III. „ „	452 „ „	459 „ „
IV. Herzmuskel, Hund	215,9 „ „	221,2 „ „

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. 27, S. 348.

Bei den glatten Muskeln ließ sich die Aufschließung mittels Kochens mit Salzsäure gut verwenden. In Anbetracht des relativ kleinen Kreatiningehaltes mußte aber die Menge des Ausgangsmateriales größer genommen werden als bei den willkürlichen Muskeln. Infolgedessen wurde auch hier die Lösung beim Kochen im Autoklaven zu dunkel. Hier führte aber die Reinigung des Salzsäureextraktes mit kolloidalem Eisen in völlig genügender Weise zum Ziel.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse meiner Bestimmungen, welche hier folgen, muß also in Betracht genommen werden, daß die Zahlen für alle untersuchten Organe — nur die Muskeln ausgenommen — infolge der Extraktion mit kaltem Wasser statt mit kochender Salzsäure — Minimalwerte angeben. Nach den oben erwähnten Befunden bei Muskeln zu urteilen, wird bei den mit Sand und Kieselgur zerriebenen, mit Wasser extrahierten und ausgepreßten Organen etwa 10% Kreatinin zu wenig gefunden.

Zur Vermeidung jeder Enzym- oder Bakterienwirkung wurden die Organe immer unmittelbar nach dem Tod des Tieres zerschnitten, gewogen und mit Wasser bei schwach saurer Reaktion aufgeköcht.

Alle Befunde sind in Milligrammen Kreatinin ausgedrückt.

#### I. Leber.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin		Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ			in mg	in mg per 100 g Organ
Rind	100	—	26,4	Kalb	100	—	26,54
„	100	—	26,9	Kaninchen	100	—	21,2
„	100	—	27,8	„	100	—	18,9
„	100	—	24,9	Katze	42	8,652	20,6
„	100	—	36,05	Ziege	61,1	7,332	11,2
„	100	—	25,5	Schwein	100	—	16,86
„	100	—	37,24	„	100	—	15,72
„	100	—	28,22	„	100	—	16,8
„	100	—	34,86	„	100	—	17,46
„	100	—	25,33				

## II. Pankreas.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin		Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ			in mg	in mg per 100 g Organ
Rind	100	—	12,507	Rind	100	—	13,5
„	100	—	12,79	Hund	35	5,64	16,13
„	100	—	13,67	„	43	5,55	12,9
„	100	—	19,62	„	30	4,31	14,36
„	100	—	14,57	Schwein	100	—	10,69
„	100	—	13,67	„	100	—	14,2

## III. Glandula thyreoidea.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ
Rind . . . . .	52	6,428	11,4

## IV. Niere.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin		Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ			in mg	in mg per 100 g Organ
Rind	100	—	17,6	Rind	100	—	15,4
„	100	—	15,8	Hund	100	—	16,34
„	100	—	12,404	„	68	6,99	10,28
„	100	—	12,26	„	100	—	14,2
„	100	—	15,69	Schwein	100	—	15,2

## V. Milz.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin		Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ			in mg	in mg per 100 g Organ
Rind	100	—	14,67	Hund	29	5,18	17,88
Hund	39,7	6,23	15,77	„	46	7,268	15,8
„	40	5,3	13,28	„	36	6,18	16,9
„	41	7,99	19,5				

## VI. Glandula Thymus.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ
Kalb	100	—	9,76

## VII. Testis.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ
Rind	50	48,6	97,2
„	25	19,1	76,4

## VIII. Gehirn.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ
Rind . . . . .	100	—	51,4
„ . . . . .	100	—	54,6
„ . . . . .	50	25,7	51,4
„ . . . . .	75	42,9	58,2
„ . . . . .	30	18,9	63
„ . . . . .	25	23,88	59,7
Weisse Substanz .	100	—	56,2
„ „ . . . . .	50	23,95	47,9
Kleinhirn . . . . .	30	21,39	71,3
„ . . . . .	30	20,76	69,2
„ . . . . .	30	19,26	64,2
Hund . . . . .	80	46	57,5
„ . . . . .	75	40,86	54,6

## IX. Willkürlicher Muskel.

Tierart	Zahl der Bestimmungen	Maximum	Minimum	Durchschnittlich
				gefundenes Kreatinin in mg per 100 g Muskel
Rind . . . . .	20	457	363	403
Hund . . . . .	6	330,4	296,6	314,6
Schwein . . . . .	3	354	314	338
Kaninchen (weißer Muskel) .	4	473	426	451
(roter „) . . . . .	2	330	322	326
Katze . . . . .	1	—	—	354
Ziege (neonatus) . .	1	—	—	316

## X. Herzmuskel.

Tierart	Gefundenes Kreatinin in mg per 100 g Muskel
Rind	220
„	207
„	218
Hund	245,9
„	221
„	247,6
„	257,4

## XI. Gebärmuttermuskel.

Die Muskulatur wurde möglichst sorgfältig von Schleimhaut und Peritoneum befreit.

Jedesmal 30 g Muskel.

Tierart	Gefundenes Kreatinin in mg per 100 g Muskel
Rind	37,2
„	29,9
„	40,5
„	40,3
„	43
„	38,2
Schwein	31,2
„	29,9

## XII. Darmmuskel.

Mucosa und Submucosa durch Abkratzen mit einer Glasscherbe entfernt.

Tierart	Gewicht des Organs in g	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	in mg per 100 g Organ
Kaninchen Dickdarm	14	4,55	32,5
Dünndarm	33	7,722	23,4

## XIII. Blut.

Tierart	Menge ccm	Gefundenes Kreatinin	
		in mg	per 100 ccm Blut in mg
Rind	1000	—	2,36
„	1000	—	2,265
„	1000	—	1,99
„	1000	—	2,12
„	1000	—	1,93
„	1000	—	1,91
„	1000	—	2,68
Hund	400	8,56	2,14
„	1000	18,6	1,86
„	500	11,2	2,24
„	500	12,2	2,44
Schwein	1000	—	2,08
„	1000	—	2,00

## XIV. Übersicht.

Organ	Tierart	Maximum mg	Minimum mg	Durchschnittlich mg	Zahl der Bestimmungen
Willkürlicher Muskel	Rind	457	363	403	20
	Kaninchen	473	426	451	4
	Schwein	354	314	338	3
	Hund	350	296	314	6
Herzmuskel	Rind	220	207	215	3
	Hund	257	221	243	4
Gebärmuttermuskel	Rind	43	29,9	38,18	6
	Schwein	31,2	29,9	30,05	2
Dickdarmmuskel	Kaninchen	—	—	32,5	1
Dünndarmmuskel	„	—	—	23,4	1
Testis	Rind	97,2	76,4	86,8	2
Gehirn	Rind	63	51,4	56,4	6
	Hund	57,5	54,6	56,1	3
Kleinhirn	Rind	71,3	69,2	40,25	3
Leber	Rind	37,24	24,9	29,32	10
	Kaninchen	21,2	18,9	20,05	2
	Schwein	17,46	15,72	16,71	4
Niere	Rind	17,6	12,26	15,91	6
	Hund	16,34	10,28	13,61	3
	Schwein	—	—	15,2	1
Pankreas	Rind	19,62	12,504	14,34	7
	Schwein	14,2	10,69	12,445	2
	Hund	16,13	12,9	14,46	3
Milz	Rind	—	—	14,67	1
	Hund	19,5	13,28	16,52	6
Glandula thyreoidea	—	—	—	11,4	1
Glandula thymus	—	—	—	9,76	1
Blut	Rind	2,68	1,91	2,179	7
	Hund	2,44	1,86	2,17	4
	Schwein	2,08	2,00	2,04	2



Alle untersuchten Organe enthalten also erheblich mehr Kreatin als das Blut. Mit den schon in der Literatur bekannten Zahlen für den Kreatingehalt von verschiedenartigen Muskeln, von Leber und von Blut zeigen die von mir gefundenen eine genügende Übereinstimmung. Auffallend ist der beträchtliche Kreatingehalt des Hodens und des Gehirns. In bezug auf das letztgenannte Organ habe ich mich noch besonders davon überzeugt, daß der positive Ausschlag der Jafféschen Reaktion tatsächlich auch hier der Anwesenheit von Kreatinin zugeschrieben werden darf. Aus dem in der gewöhnlichen Weise bereiteten, im Autoklaven mit Salzsäure erhitzten und dann neutralisierten Extrakt des Gehirns erhielt ich reichlich Krystalle von Kreatininchlorzink. Aus dem zur Trockene eingedampften Extrakt ließ sich das Kreatinin aber nicht gut mit Alkohol auflösen. Deshalb wurde die Lösung wiederholt, bis auf ein kleines Volumen eingeeengt und mit absolutem Alkohol gefällt. Die mit Alkohol ausgewaschenen Niederschläge gaben, in Wasser gelöst, die Jaffésche Reaktion nicht. Die schließlich erhaltene Lösung in starkem Alkohol lieferte mit alkoholischer Chlorzinklösung einen teilweise amorphen Niederschlag, welcher in wenig Wasser aufgenommen wurde. Das Filtrat gab mit viel Alkohol und einigen Tropfen alkoholischer Chlorzinklösung eine schöne Fällung von anscheinend reinem Kreatininchlorzink. Selbstverständlich wäre es ganz zwecklos gewesen, bei einer so umständlichen Bereitung die ohnehin schon unzuverlässige Bestimmung des Kreatinins als Chlorzinkverbindung zu versuchen.

Nachdem die Bildung von Kreatin aus Arginin im Tierkörper von Inouye<sup>1)</sup> nachgewiesen worden ist, darf vielleicht der relativ hohe Kreatingehalt des Gehirns mit dem von Abderhalden und Weil<sup>2)</sup> mitgeteilten Befund in Verband gebracht werden, daß bei der Hydrolyse der Gehirnssubstanz ziemlich viel Arginin erhalten wird (auf 100 g Gehirn 0,13 g in der weißen, 0,38 g in der grauen Substanz).

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 71.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 83, S. 425.

Im embryonalen Leben enthält der Körper viel weniger Kreatin als nach der Geburt. In bezug auf willkürliche Muskeln, Herzmuskel, Leber und Gehirn des Rindsfoetus erhielt ich die hier folgenden Zahlen.

## XV. Muskel des Fötus.

Alter des Fötus	Gefundenes Kreatinin in mg per 100 g Muskel	Alter des Fötus	Gefundenes Kreatinin in mg per 100 g Muskel
2 monatlich	22	5 monatlich	112,8
3 „	36,6	5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	138
3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	64,7	6 „	184,9
4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	114	7 „	185,7
4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	105,02	8 „	219
4 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> „	88,9	8 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> „	258
5 „	116	9 „	250,4

## XVI. Organe des Fötus.

Organ	Alter	Gewicht des Organs g	Gefundenes Kreatinin	
			in mg	in mg per 100 g Organ
Herzmuskel	6 monatlich	26	12,22	47
	5 „	15	5,415	36,1
	3 „	8	+ 2,16	+ 27
Leber	9 „	360	44,46	12,35
	8 „	345	38,29	11,1
	8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	—	—	11,84
	6 „	181	19,005	10,5
	5 „	80	8,69	10,84
	5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	74	8,806	11,9
	4 „	25	+ 1,625	+ 6,5
Gehirn	7 „	32	10,49	32,8

Auch Mendel und Leavenworth<sup>1)</sup> fanden in den Muskeln des Schweinsfötus nur sehr geringe Kreatinmengen. E. Mellanby<sup>2)</sup> konnte in den Muskeln eines 21tägigen Ka-

<sup>1)</sup> Amer. Journ. of Physiol., Bd. 21, S. 100.

<sup>2)</sup> Journ. of Physiol., Bd. 36, S. 447.

ninchenfötus Kreatin nur spurweise finden, während er in Kaninchenmuskeln nach der Geburt eine erst schnelle, dann immer langsamer werdende Zunahme des Kreatingehaltes nachweisen konnte. Die Annahme, daß die Anhäufung von Kreatin in den Muskeln nach der Geburt der vermehrten Aktivität der Muskeln zuzuschreiben sein dürfte, wird von diesem Forscher von der Hand gewiesen, nachdem ja Kreatinbildung bei der Muskelzuckung nicht nachgewiesen werden konnte. Aus seinen Befunden am bebrüteten Hühnerei, in welchem vor dem 12. Tag, als doch Muskelgewebe schon da war, kein Kreatin gefunden wurde, während von diesem Tag ab der Kreatingehalt (des ganzen Fötus) ziemlich regelmäßig anstieg, leitet er ab, daß das Kreatin gar nicht in den Muskeln gebildet wird, vielmehr aber in der Leber entsteht, da der Zuwachs dieses Organs nach dem Auskriechen des Hühnchens mit dem Kreatinzuwachs des ganzen Körpers gleichen Schritt hielt.

Demgegenüber möchte ich bemerken, daß die von Melanby beobachtete Kreatinanhäufung im ganzen Körper am Tag des Auskriechens aus dem Ei  $23-13,25 = 9,75$  mg Kreatinin betrug, während am selben Tag das Lebergewicht von 0,57 bis auf 1,04 g anstieg. Nach der Annahme Melanbys würde also im Verlauf eines Tages nahezu 10 mg Kreatinin von einer am Ende des Tages nur 1,04 g wiegenden Leber gebildet worden sein — das ist etwa 50mal so viel, als in 1 g Leber eines erwachsenen Säugetieres vorhanden ist.

Andererseits scheint mir eine vermehrte Kreatinbildung in den Muskeln nach der Geburt keineswegs auszuschließen, sondern auf die Verstärkung des Muskeltonus zurückzuführen zu sein, welche von den auf das neugeborene, mit der Außenwelt in Berührung gekommene Tier vielfach einwirkenden Reizen ausgelöst wird.

Daß auch in den glatten Muskelfasern beim Tonus Kreatin entsteht, wird durch Befunde am schwangeren Uterus wahrscheinlich gemacht.

Ich hatte die Gelegenheit, in 15 Fällen den Kreatingehalt dieses Organs beim Rind in verschiedenen Perioden der Gravidität zu bestimmen. Bekanntlich entwickelt sich beim Rind

der Fötus in dem einen, gewöhnlich dem rechten, Uterushorn, streckt sich aber die Fruchtblase mehr oder weniger weit in das andere Horn aus, sodaß beide Hörner in verschiedenem Maß gedehnt werden. Während nun beim Rind im nicht trächtigen Uterus, wie aus den oben mitgeteilten Zahlen hervorgeht, im Mittel 38,18 mg Kreatinin auf 100 g Muskelsubstanz gefunden wurde, zeigte sich in der Schwangerschaft eine stetig zunehmende, nicht nur absolute, sondern auch relative Vermehrung des Kreatingehaltes und zwar im trächtigen Horn mehr als in anderen, weniger gedehnten. Die Zahlen lasse ich hier folgen.

## XVII.

Graviditätsdauer	Gravidus Horn mg	Nicht gravidus Horn mg	Graviditätsdauer	Gravidus Horn mg	Nicht gravidus Horn mg
1 monatlich	40,8	37,2	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> monatlich	72	54,9
1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	52,4	37,1	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	69,1	66,53
2 »	39,8	—	4 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> »	72,5	72
2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	50,2	47,9	5 »	65	—
2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	45,8	—	7 »	70,3	—
3 »	56	52,6	8 »	62,4	57,9
3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> »	47,8	46,18	8 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> »	89,9	59,8
3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> »	60	52,8	8 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> »	84,1	60,2

Einen Uterus des Rindes gleich nach dem Partus konnte ich nicht zur Untersuchung erhalten. Wohl aber konnte ich den Kreatingehalt der Uterusmuskulatur eines Rindes bestimmen, welches nach dem Partus an Verblutung infolge von Uterusruptur eingegangen war. Ich erhielt aber den Uterus erst zwei Tage nach dem Tod des Tieres. Obgleich das Kreatin wohl teilweise postmortal zersetzt worden war, fand ich noch 73 mg Kreatinin auf 100 mg Muskelsubstanz.

Der Uterus enthält also am Ende der Gravidität eine beträchtliche Menge Kreatin, welches bei der Involution zu einem großen Teil in den Blutstrom gelangen muß.

Zur approximativen Schätzung der Kreatinmenge, welche

beim Menschen im Puerperium von der Uterusmuskulatur abgegeben wird, können folgende Beobachtungen verwendet werden.

Ein nicht gravider menschlicher Uterus, wegen Carcinoma Cervicis extirpiert, enthielt, nach Entfernung von Cervix und Tumormasse, 44,6 mg Kreatinin auf 100 g Muskel.

Ein gravider, am Ende der Schwangerschaft, vor dem Anfang des Partus, wegen ausgedehnten Sarcoma Recti extirpierter Uterus lieferte 76,6 mg Kreatinin auf 100 g Muskel. Auch beim Menschen häuft sich also das Kreatin während der Gravidität im Uterus an.

Dann wurde noch, aber erst 24 Stunden post partum, der Uterus einer durch Verbluten nach Uterusruptur gestorbenen Frau untersucht. Hier wurde aus 100 g Muskel 44,1 mg Kreatinin erhalten.

Im 12 Stunden nach dem Tode untersuchten Uterus einer 36 Stunden post partum an Eklampsie gestorbenen Frau wurde auf 100 g Muskel 46,8 mg Kreatinin gefunden.

Der am Ende der Schwangerschaft untersuchte, 76,6% Kreatinin liefernde Uterus wog 880 g, enthielt also im ganzen 781,9 mg Kreatin (674,08 mg Kreatinin entsprechend). Das Gewicht des nicht schwangeren Uterus beträgt höchstens 100 g. Ich erhielt daraus 44,6 mg Kreatinin, 51,9 mg Kreatin entsprechend.

Daraus würde zu folgern sein, daß der Uterusmuskel in den ersten Tagen post partum etwa 730 mg Kreatin abgibt.

Daraus ist die regelmäßig zu beobachtende Vermehrung der Kreatinausscheidung mit dem Harn, nach Heynemann<sup>1)</sup> am stärksten am dritten und am siebenten Tag post partum, wohl, teilweise wenigstens, zu erklären.

Nach den Beobachtungen von Wakulenko<sup>2)</sup> wird in den letzten Tagen der Schwangerschaft im Mittel 0,17 g Kreatin pro Tag ausgeschieden, in den ersten vier Tagen post partum dagegen 0,42 g. Dieser Forscher fand auch den Kreatininhalt des Harnes im Puerperium erhöht.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk., Bd. 71, S. 110.

<sup>2)</sup> Arch. f. Gynäk., Bd. 98, S. 474.

Schließlich habe ich einige Versuche zu erwähnen über das Verhalten des Kreatins in der Leber bei der Autolyse. Die bei der Autolyse dieses Organs von Gottlieb und Stanggasser<sup>1)</sup> gefundene Abnahme des Kreatingehaltes ist von E. Mellanby<sup>2)</sup> der Bakterienwirkung zugeschrieben worden. Rothmann<sup>3)</sup> fand aber auch bei völlig aseptischer Autolyse Verlust an Kreatin. Auch in den hierauf bezüglichen Versuchen von van Hoogenhuyze und Verploegh<sup>4)</sup> wurde ein, obgleich geringfügiger Verlust bei aseptischer Autolyse gefunden.

In meinen Versuchen habe ich Zerstörung von Kreatin in der Leber, bei Ausschluß von Bakterienwirkung, nicht nachweisen können. Wenn aber auch nur eine geringe Spur von Fäulnis, durch Verfärbung der Flüssigkeit, angedeutet wurde, fand ich erheblichen Kreatinverlust.

Völlig aseptische Versuche habe ich bei 6 Kaninchen und einem Hunde angestellt.

Alle Instrumente, das Hackbrett, das Glasgerät, wurden mittels viertelstündigen Kochens im Sterilisiertopf bakterienfrei gemacht. Nachdem das Tier durch Verbluten getötet war, wurde der Bauch rasiert, mit Jodtinktur eingerieben, geöffnet, mit steriler Gaze abgedeckt, und dann wurde die Leber herausgenommen. Die Hände hatte ich mit sterilisierten Handschuhen geschützt. Die Leber wurde feingehackt, im Mörser, unter Zusatz von wenig Toluol, zerrieben, dann in den ersten zwei Versuchen mit 0,9% iger Kochsalzlösung, in den folgenden mit Wasser angerührt und einige Stunden bei Zimmertemperatur im geschlossenen Gefäß hingesezt. Dann wurde durch sterile Gaze filtriert und dem Filtrat eine abgewogene Menge Kreatin zugesetzt. Es wurde dem Organbrei soviel Flüssigkeit zugesetzt, daß 1 g Leber etwa 1 ccm Extrakt lieferte.

Nachdem das Kreatin sich gelöst hatte, wurde tüchtig geschüttelt, der trüben Flüssigkeit mit steriler Pipette 10 ccm zur Ausgangsbestimmung entnommen und das Extrakt bei 37° C.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 52, S. 1.

<sup>2)</sup> a. a. O.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 57, S. 131.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 57, S. 161.

aufbewahrt. Jeden Tag wurde wieder 10 ccm zur Kreatininbestimmung verwendet. Die Bestimmung fand in der gewöhnlichen Weise, nach Erhitzen mit 20 ccm n-HCl, statt. Das Gewicht der Leber variierte von 87—135 g.

10 ccm Extrakt lieferten Kreatinin, in Milligramm:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Sofort . . . . .	8,84	8,99	8,08	10,06	8,99	7,95	8,82
Nach 24 Stunden . .	8,98	8,03	8,18	10,02	9,10	7,94	9,09
» 48 » . .	8,96	7,78	8,20	10,01	9,08	7,86	9,06
» 72 » . .	9,14	8,14	8,24	10,06	9,16	7,84	9,10
» 96 » . .	9,03	7,70	8,19	—	9,18	—	8,95

In diesen Versuchen zeigte sich keine Spur von Fäulnis. Die Flüssigkeit behielt ihre rötliche Farbe bei und in den Fällen, in welchen Plattenkulturen zu machen versucht wurde, entwickelte sich keine einzige Bakterienkolonie. Nur in Versuch II wurde eine, freilich sehr unbedeutende, Verringerung des Kreatingehaltes gefunden.

In einem anderen Versuch dagegen, in welchem, ohne daß sonstige Spuren von Fäulnis zu beobachten waren, die Flüssigkeit eine grünliche Verfärbung zeigte, enthielt dieselbe sofort untersucht in 10 ccm 9,04 mg, nach 24 Stunden aber nur 6,78 mg Kreatinin.

Auch in der möglichst intakt gelassenen Leber fand ich bei der Autolyse keine Zerstörung von Kreatin. Einer ganz frischen Rindsleber wurden drei Stücke entnommen. Das eine wurde sofort untersucht, während die beiden anderen in Ringerscher Flüssigkeit mit Toluol resp. 3 und 7 Stunden auf 37° C. erwärmt und dann analysiert wurden. Das Resultat war in drei Versuchen:

	I	II	III
Sofort . . . . .	31,73 mg	30,59 mg	37,24 mg
Nach 3 Stunden . .	29,78 »	30,67 »	35,39 »
» 7 » . .	30,6 »	29,92 »	—

Auch hier ließ sich also, wenn man die unvermeidlichen Bestimmungsfehler in Betracht nimmt, eine autolytische Kreatininzerstörung nicht sicher feststellen.

Ich denke nicht daran, die Möglichkeit einer Zersetzung von Kreatin, insbesondere gegenüber den Durchblutungsversuchen von Gottlieb und Stangassinger, in der Leber in Abrede zu stellen. Nur muß ich sagen, daß ich mit der von mir gebrauchten Methode diese Zersetzung nicht habe nachweisen können.

Anders ist es aber in bezug auf die Bildung von Kreatinin in der Leber.

Zur Beantwortung der Frage, ob die Leber neben Kreatin auch Kreatinin enthält, ist die Extraktion mit Wasser nicht brauchbar, nachdem, wie besonders Mellanby betont hat, beim Einengen des Extraktes bei schwach saurer Reaktion Kreatin anhydriert werden kann. Es wurde deshalb ein alkoholisches Extrakt gemacht und zwar, zur Erleichterung des Einengens bei niedriger Temperatur, nachdem die Leber mit wasserfreiem Natriumsulfat verrieben worden war. Für jeden Versuch wurden 200 g ganz frische Leber gebraucht.

Das Alkoholextrakt wurde dann im Hladik'schen Vakuumapparat<sup>1)</sup> bei 37° C. eingedampft.

So wurde eine sirupöse Masse erhalten, welche aber, wegen des großen Gehaltes an lipoiden Stoffen, zum Nachweis von Kreatinin nicht zu verwenden war. Auch der neuerdings von Folin und Denis<sup>2)</sup> angegebene Kunstgriff zur Entfernung von lipoiden Stoffen aus dem Blutextrakt führte hier nicht zum Ziel.

Ich verfuhr deshalb so, daß die mit Natriumsulfat verriebene, trockene Lebersubstanz erst mit Chloroform, dann mit Äther wiederholt ausgezogen wurde. Die in dieser Weise nahezu vollständig von Lipoiden befreite Substanz wurde jetzt dreimal mit 92%igem Alkohol extrahiert. Nach Verdampfen des Alkohols der vereinigten Filtrate bei 37° C. im Hladik'schen Apparat wurde der Rückstand in 30 ccm Wasser aufgenommen. Die so erhaltene, schwach gelbliche, opalescente Lösung wurde in der üblichen Weise mit Pikrinsäure und Natronlauge versetzt. Bei der Rindsleber fand ich in drei

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 28, S. 29.

<sup>2)</sup> Journ. of Biol. Chem., Bd. 12, S. 141.



Fällen gar kein, in drei anderen Fällen eine Spur (weniger als 1 mg auf 200 g Leber) Kreatinin.

Daß sich übrigens das Kreatinin, wenn es vorhanden ist, in dieser Weise in den Organen gut nachweisen läßt, zeigte sich bei der, genau wie oben beschrieben behandelten, Niere des Rindes. Aus 200 g Niere erhielt ich 6 mg Kreatinin.

Jetzt konnte untersucht werden, ob bei der Autolyse Kreatinin in der Leber gebildet wird.

Die Versuche wurden bei großen Hunden angestellt. Drei Stunden vor dem Tod wurden die Tiere, nachdem sie in etwa 15 Stunden keine Nahrung erhalten hatten, reichlich mit Fleisch und Brot gefüttert. Der Hund wurde, nach Betäubung mittels Morphin und Chloroform, durch Verbluten aus der Carotis getötet und dann wurde die Leber unter streng aseptischen Kautelen herausgenommen. Zwei Stücke, jedes 200 g schwer, wurden ausgeschnitten, das eine direkt verarbeitet, das andere in ein sterilisiertes Becherglas gebracht, welches in einer Flasche mit ein wenig Chloroformwasser auf 37° C. erwärmt wurde. Nach 24 Stunden wurde die Flasche geöffnet, das Stück Leber herausgenommen, mit wasserfreiem Natriumsulfat verrieben usw.

In vier Versuchen war der Ausschlag der Kreatininreaktion:

	Sofort	Nach 24 Stunden
I	schwach positiv	1,3 mg
II	negativ	positiv
III	positiv	2 mg
IV	„	stärker positiv

Es braucht kaum gesagt zu werden, daß bei diesen kleinen Kreatininmengen eine genaue Bestimmung nicht möglich war. Jedenfalls aber ist es klar, daß nach der Autolyse der Gehalt an Kreatinin größer war als in der frischen Leber. Mit dem Wort «positiv» wird angedeutet, daß Pikraminsäure gebildet wurde, die Menge des Kreatinins aber sicher weniger als 1 mg betrug.

Diese Beobachtungen bestätigen also die Auffassung, daß die Leber imstande ist, Kreatin zu Kreatinin zu anhydrieren.