

Weitere Beiträge zur Frage der Kreatinbildung aus Cholin und Betain.

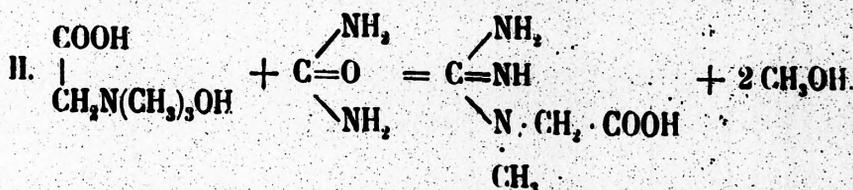
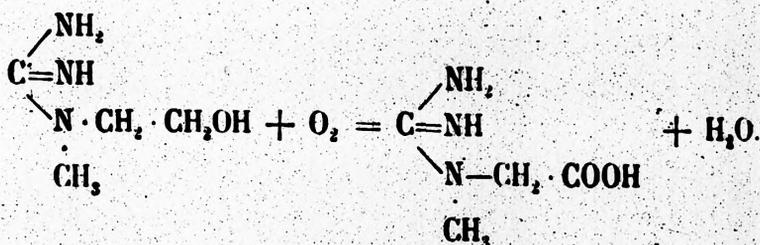
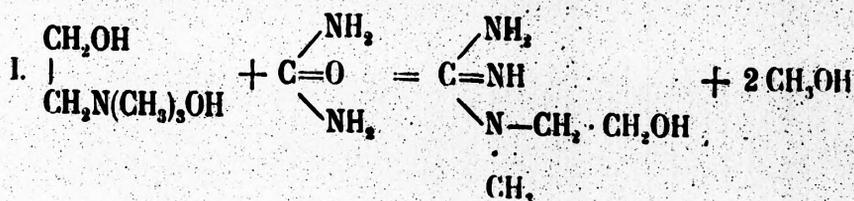
Von
Otto Riesser.

Mit einer Kurvenzeichnung im Text.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie
zu Königsberg i. Pr.)

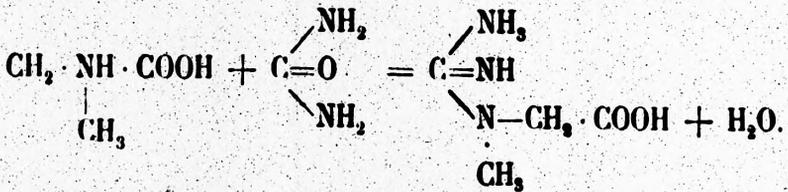
(Der Redaktion zugegangen am 22. Februar 1914.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ suchte ich Anhaltspunkte und Beweise für eine neue Theorie der Kreatinbildung im tierischen Organismus zu erbringen, die in einer Synthese aus Cholin oder dessen Oxydationsprodukt, dem Betain, und Harnstoff besteht, nach folgenden Formeln:



Diese Synthese ist, wie leicht ersichtlich, nahe verwandt mit der von Volhard ausgeführten Kreatinsynthese aus Sarkosin und Harnstoff.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 86, S. 415 (1913).



Die oben skizzierte Synthese aus Cholin und Betain setzt eine Abspaltung von Methylgruppen voraus. Daß Cholin nach subcutaner Injektion zu einer Vermehrung der Ameisensäureausscheidung im Harn führt, hat schon v. Hoeßlin¹⁾ beobachtet und auf eine Abspaltung von Methylgruppen zurückgeführt. Das Gleiche scheint, nach einem von mir mitgeteilten Versuch, auch nach Betaininjektion einzutreten.²⁾ Die leichte Abspaltbarkeit der Methylgruppen aus Betain wie aus Cholin konnte ich auch im Reagenzglasversuch demonstrieren. Vor allem suchte ich experimentelle Beweise für eine vitale Reaktion der oben geschiderten Art dadurch zu erbringen, daß ich den Kreatingehalt des Kaninchenmuskels nach Injektion von Cholin oder Betain am lebenden Tier mit dem Kreatingehalt normaler Kaninchenmuskeln verglich.

¹⁾ Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, S. 27 (1906).

²⁾ l. c., S. 439.

Anm. Bei Fortsetzung der Versuche über die Ameisensäureausscheidung nach Betaininjektion hat sich der Übelstand herausgestellt, daß der Kaninchenharn, selbst bei vorsichtigster Destillation mit Phosphorsäure, neben «präformierter» Ameisensäure zu einer steten Neubildung von Ameisensäure aus irgendwelchen Vorstufen (Kohlenhydraten?) Anlaß gibt, wodurch eine schwer zu beseitigende Fehlerquelle in die Versuche hineinkommt. Hält man stets gleiche Fütterung ein und arbeitet man unter stets gleichen Bedingungen, so lassen sich zwar wohl vergleichbare Resultate erzielen, auf Genauigkeit haben aber solche Bestimmungen keinen Anspruch. Inzwischen haben Dakin, Janney und Wakeman (Journ. of Biol. Chem., Bd. 14, S. 341), sowie Finke (Biochem. Zeitschr., Bd. 51, S. 253) ebenfalls auf diese Schwierigkeit hingewiesen, und Dakin gibt auch ein Verfahren an, bei dem eine Bestimmung nur der präformierten Ameisensäure gesichert sein soll. Ich beabsichtige dieses Verfahren auf das weitere Studium der Ameisensäureausscheidung nach Betaininjektion anzuwenden. Bemerkenswert ist für mich die Angabe von Dakin, Janney und Wakeman, daß nach Verabfolgung von Theobromin und Kaffein Ameisensäurevermehrung, offensichtlich durch Abspaltung von Methylgruppen, auftritt. Die Frage des Ursprungs der Harnameisensäure aus Methylgruppen bedarf sicher noch eingehenderen Studiums.

In Übereinstimmung mit Myers und Fine¹⁾ konnte ich feststellen, daß bei Einhaltung genau gleicher Bedingungen im Muskel normaler Kaninchen stets die gleiche Menge von Kreatin in auffallend genauer Übereinstimmung gefunden wird, und zwar 0,521‰. Inzwischen hat Beker²⁾ im Laboratorium von Pekelharing genau die gleiche Zahl gefunden, die damit dreifach bestätigt ist.³⁾ Angesichts dieser Konstanz der normalen Kreatinzahlen gewinnt die Tatsache an Wert, daß ich in der Mehrzahl meiner Versuche mit Injektion von Cholin und in allen Versuchen mit Betain höhere Kreatinzahlen im Kaninchenmuskel fand, zwischen 0,554 und 0,603‰. Es ist von Interesse, daß Myers und Fine in einer kürzlich erschienenen Arbeit⁴⁾ ganz ähnliche Zahlen nach Injektion von Kreatin erhielten. Endlich verdanke ich Herrn Prof. Pekelharing den liebenswürdigen Hinweis auf die im Hinblick auf die von mir aufgestellte Hypothese sicher beachtenswerte Tatsache, daß nach den Bestimmungen von Beker diejenigen Organe (mit Ausnahme der Muskeln) am meisten Kreatin enthalten, die am reichsten an Cholin sind, nämlich Gehirn und Hoden.

In der vorliegenden Arbeit gebe ich, als Ergänzung zu den früheren Versuchen, die Resultate der Untersuchung der Kreatininausscheidung nach Injektion von Cholin oder Betain beim Kaninchen. Die Versuche sind alle an ein und demselben Tiere angestellt, einem kräftigen Kaninchenbock unbekanntes, aber jedenfalls noch jugendlichen Alters, der ausschließlich mit Hafer und wenig Heu gefüttert wurde und soviel Wasser erhielt, als er trinken wollte. Das Tier befand sich vom Mai bis zum Dezember 1913 mit einigen Unterbrechungen während der Ferien in Untersuchung. Es gedieh vorzüglich, war stets gesund und nahm in der Zeit recht erheblich an Gewicht zu. Die ungewöhnlich lange Beobachtungs-

¹⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. 14, S. 9 (1912).

²⁾ Diese Zeitschrift. Bd. 87, S. 21 (1913).

³⁾ Anm. bei der Korrektur. Baumann (Journ. of Biol. Chem., Bd. 17, S. 15 [1914]) findet in 4 Bestimmungen mit variiertem Methodik der Extraktion 0,517, 0,528, 0,521 und 0,532‰, im Mittel 0,525‰.

⁴⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. 16, S. 169 (1913).

dauer der Kreatininausscheidung darf vielleicht auch an und für sich ein gewisses Interesse beanspruchen. Der Harn wurde alle 48 Stunden gesammelt (24stündige Perioden sind beim Kaninchen wegen der sehr großen Schwankungen nicht so zu empfehlen). Der Harn wurde, entsprechend den schon früher¹⁾ von mir gegebenen Vorschriften, stets auf das gleiche Volumen (600 ccm) verdünnt, wovon ein bestimmter Teil (10 ccm) zur kolorimetrischen Messung diente. Das Kolorimeter von Autenrieth und Königsberger hat sich auch für diese Versuche als sehr zuverlässig und stabil erwiesen. Eine Kontrolle des Chromatkeils mit einer bekannten Menge Kreatinin ergab nach mehr als 1 $\frac{1}{4}$ jähriger Benutzung, daß die von mir selbst konstruierte Eichungskurve noch immer genau stimmte, und eine von Herrn Dr. Matsuoka im hiesigen Institut mit reinem Kreatinin vorgenommene Eichung führte zu genau der gleichen Kurve, wie ich sie mit durch HCl in der üblichen Weise umgewandeltem reinem Kreatin erhalten hatte. Der Ablesungsfehler beträgt nicht mehr als einen Teilstrich nach oben oder unten, was einer Fehlerbreite von 0,2 bis 0,25 mg entspricht. Auf die gesamte Harnportion einer Bestimmung berechnet, beträgt also die Fehlerquelle 60 mal so viel (Verdünnung 600 ccm, angewandt 10 ccm) = 0,012 bis 0,015 g.

Schon in meiner ersten Arbeit hatte ich einen Versuch angeführt, in dem ein Kaninchen innerhalb 4 Tagen nicht weniger als 15 g Betainchlorid, das mit NaOH neutralisiert war, injiziert bekam. Es folgte eine über 5×48 Stunden bemerkbare Mehrausscheidung von Kreatinin. (l. c., S. 452.)

Im folgenden gebe ich die neueren Versuche wieder: Sie zerfallen in zwei Serien. Die erste vom 21. V.—9. VIII., die zweite vom 28. IX.—23. XII. Aus später zu erörternden Gründen soll die zweite Periode (Sept.—Dez.) an erster Stelle besprochen werden. Tabelle I gibt die Bestimmungen in zeitlicher Reihenfolge. Als Kreatininkoeffizient bezeichne ich nach dem Vorgang von Meyers und Fine die Menge des Gesamtkreatinin-N bezogen auf 1 kg und 24 Stunden.

¹⁾ l. c., S. 449.

Tabelle I.

Datum	Harn- menge ccm	Präform. Kreatinin g	Gesamt- Kreatinin g	Ge- wicht g	Gesamt- Kreatinin- Koeffizient	Bemerkungen
28. IX.	230	0,367	0,367	4050	16,8	
30.	185	0,360	0,367	4030	16,8	
2. X.	250	0,420	0,435	3900	20,6	Versuch 1
4.	330	0,348	0,348	3910	16,5	am 1. X. $2 \times 0,5$ g
6.	220	0,354	0,354	4040	16,2	Cholin, mit HCl neu-
8.	140	0,348	0,348	3960	16,2	tralisiert, subcutan.
10.	180	0,384	0,384	4050	17,5	Versuch 2
12.	120	0,360	0,360	4080	16,3	am 8. X. 1,5 g Betain-
14.	160	0,354	0,354	4050	16,2	chlorid, mit NaOH-
16.	125	0,360	0,360	4060	16,4	neutralis., subcutan.
18.	115	0,327	0,327	3965	15,3	
20.	130	0,348	0,348	4300	15,0	
22.	175	0,367	0,367	4250	16,0	
24.	150	0,360	0,375	4170	16,6	
26.	110	0,346	0,346	4200	15,5	Versuch 3
28.	390	0,420	0,429	4220	18,8	am 26. und 27. X.
30.	250	0,405	nicht unter-	4330	17,3	5 g neutrales Betain-
1. XI.	220	0,399	sucht	4270	17,3	chlorid in 3 Dosen.
3.	160	0,384	0,399	4250	17,4	
5.	140	0,360	0,360	4380	15,2	
7.	400	0,346	0,346	4390	14,6	
9.	180	0,420	0,420	4330	17,9	
11.	290	0,399	0,399	4330	17,0	
13.	500	0,405	0,405	4290	17,5	
15.	240	0,354	0,354	4330	—	
17.	240	0,390	0,390	4330	16,7	
19.	280	0,367	0,367	4210	16,1	
21.	240	0,345	0,345	4330	14,8	
23.	300	0,345	0,345	4210	15,1	
25.	290	0,399	—	4230	17,4	
27.	410	0,399	0,399	4250	17,4	
29.	220	0,390	—	4230	17,1	
1. XII.	330	0,348	0,348	4240	15,1	

Tabelle I (Fortsetzung).

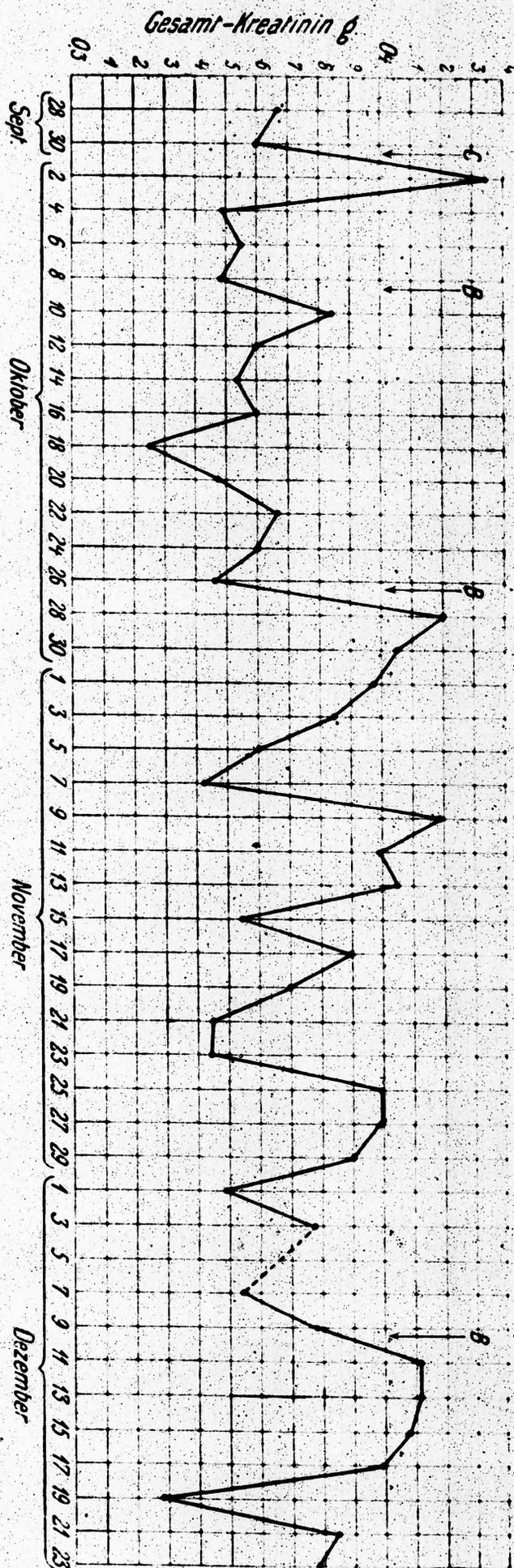
Datum	Harn- menge ccm	Präform. Kreatinin g	Gesamt- Kreatinin g	Ge- wicht g	Gesamt- Kreatinin- Koeffizient	Bemerkungen
3. XII.	340	0,378	—	4270	16,3	
5.	verloren	—	—	4230	—	
7.	?	0,354	0,354	4300	15,2	
9.	160	0,378	0,378	4230	16,5	Versuch 4 am 9. und 10. XII. 4 g neutrales Betain- chlorid subcutan.
11.	210	0,414	nicht bestimmt	4350	17,5	
13.	200	0,378	0,414	4300	17,8	
15.	220	0,408	0,408	4180	18,0	
17.	210	0,399	0,399	4180	17,7	
19.	190	0,327	0,327	4200	14,4	
21.	220	0,384	0,384	4330	16,4	
23.	200	0,378	0,378	4210	16,6	

Betrachten wir die Tabelle, so ergibt sich zunächst als für uns wichtigstes Resultat, daß jede Injektion, sei es von Betain oder von Cholin, von einem starken Anstieg der Kreatininausscheidung gefolgt ist. Dies ist besonders deutlich auch in der Kurve der Gesamtkreatininausscheidung (siehe folgende Seite) zu erkennen, in der die Pfeile Injektionen anzeigen. Die Mehrausscheidung ist in Versuch 1, nach Injektion von 1 g Cholin, schon nach 48 Stunden beendet, ebenso in Versuch 2, in dem das Tier die geringe Menge von 1,5 g Betainchlorid erhielt. Es folgt dann eine Periode von 16 Tagen, in der die Schwankungen der Kreatininausscheidung die Fehlergrenzen kaum überschreiten. In Versuch 3 wurden 5 g Betainchlorid injiziert. Es war mittels NaOH neutralisiert und sodann von dem NaCl tunlichst dadurch befreit worden, daß es vorsichtig verdunstet und wiederholt mit absolutem Alkohol aufgenommen war. Da Betainchlorid, wenn auch nicht leicht, so doch viel leichter als NaCl in Alkohol löslich ist, ließ sich der größte Teil des Kochsalzes entfernen, was mir zur Vermeidung eines unbekanntes Faktors und einer allzu starken Diurese wünschenswert erschien.

Die Injektion des Betains führte zu einem schroffen Anstieg der Kreatininausscheidung, und die Vermehrung hielt zu-

nächst acht Tage lang an. Als am zehnten und zwölften Tage normale Werte erreicht waren, hielt ich den Versuch für beendet, als plötzlich ein neuer Anstieg auftrat, der wiederum sechs Tage dauerte und dem erst allmählich, nicht ohne erhebliche Schwankungen, normale Werte folgten.

Soll man diese zweite Vermehrung der Kreatininausscheidung noch auf die Betaininjektion zurückführen, oder ist eine solche Annahme als gezwungen oder widersinnig zu verwerfen? Hierzu ist folgendes zu sagen. Schon bei meinem ersten Betainversuch (l. c. s. 452) konstatierte ich eine über zehn Tage andauernde Mehrausscheidung von Kreatinin. Ich habe damals



schon auseinandergesetzt, daß unter der voll begründeten oder bewiesenen Voraussetzung, daß neu gebildetes Kreatin zunächst im Muskel gespeichert wird, eine allmähliche Ausscheidung dieses Mehr an Kreatin durchaus wahrscheinlich ist. Und es ist klar, daß die vermehrte Ausscheidung um so protrahierter sein muß, je mehr Betain injiziert wurde. Daneben wird die mehr oder minder starke Diurese insofern eine Rolle spielen, als sie die Bedingungen für eine Ausscheidung unveränderten Betains begünstigt oder nicht. Insofern ist es von Bedeutung, daß ich in meinen neuen Versuchen die Diurese durch Entfernung des NaCl einzuschränken suchte. Dazu kommt weiterhin die Möglichkeit einer Speicherung des Betains im Muskel, was nach den Befunden am Muskel der Wirbellosen wohl denkbar ist. Endlich haben wir bisher noch keinen Anhaltspunkt zur Beurteilung der Frage, wie lange ein Mehr an Kreatin im Muskel gespeichert wird und von welchen Faktoren die Ausscheidung dieses Plus abhängt. Aus allen diesen Gründen kann die Möglichkeit einer protrahierten Ausscheidung durchaus nicht als unwahrscheinlich betrachtet werden, ebensowenig wie eine schubweise Ausscheidung, wie sie im Versuch 3 anzunehmen wäre und auch im früheren Versuch (l. c. s. 452) deutlich zutage tritt. Auszuschließen wäre diese Annahme nur dann, wenn die Mehrausscheidung an Kreatinin diejenigen Zahlen überträfe, die ich für die Vermehrung des Muskelkreatins nach Injektion analoger Mengen von Betain in meiner früheren Arbeit erhielt. Diese Zahlen betragen, als Mindestwerte berechnet, 0,14, 0,18, 0,3, 0,39 und 0,55 g Kreatin (l. c. s. 448). Im Versuch 3 sind bis zum 3. XI. 0,208 g Kreatinin = 0,250 g Kreatin mehr ausgeschieden gegenüber der Vorperiode. Bei dem zweiten Schub vom 9. bis 13. XI. kommen 0,156 g Kreatinin = 0,180 g Kreatin mehr zur Ausscheidung. Die Summe: 0,430 g liegt also innerhalb der Grenzen der Muskelkreatinvermehrung. Ich glaube aus allen diesen Gründen daher annehmen zu dürfen, daß auch der zweite Anstieg der Kreatininausscheidung noch als Folge der Betaininjektion zu betrachten ist.

Weiterhin findet man den normalen Wert im Durchschnitt etwas höher als einen Monat vorher, was wohl sicher mit der

inzwischen eingetretenen Gewichtsvermehrung des Tieres zusammenhängt.

Am 10. und 11. XII. erhielt das Tier (Versuch 4) wiederum eine Injektion von ca. 4 g neutralem Betainchlorid (ebenfals NaCl-frei). Wiederum tritt der typische Anstieg auf und wiederum dauert die Mehrausscheidung mehrere Tage. Da ich aus äußeren Gründen gezwungen war, den Versuch bald danach zu unterbrechen, konnte ich nicht feststellen, ob auch hier wiederum ein Nachschub, nach dem anfänglichen Absinken, eingetreten ist. Ich darf mich aber wohl, mit der Tatsache begnügen, daß wiederum ein Anstieg der Kurve erfolgte und zwar von genau demselben «protrahierten» Typus wie in Versuch 3. Noch auf eine weitere Tatsache sei verwiesen, die im Sinne meiner Hypothese sprechen dürfte. Nach 3 von 4 Injektionen, mit Ausnahme des mit sehr geringen Mengen angestellten Versuchs 2, trat Kreatin im Harn auf, während sonst während der ganzen Versuchszeit, also in 3 Monaten nur ein einziges Mal Kreatin beobachtet wurde. Leider fehlt bei Versuch 4 die Kreatinbestimmung bei der ersten Harnfraktion nach der Injektion, zumal die zweite Bestimmung, am 13. XII., eine außerordentlich große Menge an Kreatin ergab. Dieses Auftreten von Kreatin darf wohl mit Recht darauf zurückzuführen sein, daß ein Teil des mehr gebildeten Kreatins der normalen Umwandlung in Kreatinin entgeht.

Einem weiteren Beispiel dieser Art werden wir in Serie 2 der Versuche begegnen, zu deren Besprechung ich jetzt übergehe. Wie erwähnt fallen diese Versuche in eine frühere Zeit, Mai—August 1913. Das Gewicht des Tieres war damals um mehrere hundert Gramm geringer, als in der späteren Periode. Einige Erscheinungen in dieser ersten Periode boten der Erklärung gewisse Schwierigkeiten. Da diese sich an der Hand der Ergebnisse der zweiten Periode vielleicht eher erklären lassen, habe ich die Besprechung der früheren Periode an zweiter Stelle folgen lassen. Ich gebe zunächst wieder die Versuche in ihrer zeitlichen Reihenfolge (s. umstehende Tab. II).

Bei der Betrachtung der Tabelle II wollen wir uns zunächst auf die Zeit bis zum 18. VII. beschränken. In erster

Tabelle II.

Datum	Harn- menge ccm	Präform. Kreatinin g	Gesamt- Kreatinin g	Ge- wicht g	Gesamt- Kreatinin- Koeffizient	Bemerkungen
21. V.	225	0,276	0,276	3290	15,5	
23.	215	0,261	—	3320	14,5	
25.	100	0,213	0,213	3350	11,9	
27.	100	0,189	0,189	3440	10,2	
29.	205	0,228	0,228	3380	12,5	
31.	290	0,270	0,282	3500	14,9	
2. VI.	250	0,270	0,270	3430	14,6	
4.	395	0,246	—	3470	13,1	
6.	290	0,261	0,261	3480	13,9	
8.	200	0,282	0,288	3600	14,8	
10.	160	0,180	0,180	3550	9,4!	
12.	190	0,228	0,228	3530	11,9	
14.	210	0,306	0,306	3580	15,8	
16.	160	0,228	0,228	3500	12,0	
18.	120	0,246	0,246	3600	12,7	
20.	90	0,282	0,282	3550	14,7	
22.	70	0,171	0,171	3580	8,8!	
24.	130	0,240	0,240	3680	12,1	
26.	200	0,195	0,195	3700	9,8	
28.	160	0,360	0,399	3670	20,1	
30.	130	0,214	0,214	3750	10,6	
2. VII.	—	0,256	0,256	3750	12,6	
4.	210	0,244	0,244	3820	11,8	
6.	370	0,267	0,267	3850	12,8	
8.	160	0,156	0,156	3780	7,7!	
10.	250	0,258	0,267	3790	13,0	
12.	330	0,224	0,224	3750	11,1	
14.	185	0,282	0,282	3820	—	
16.	340	—	—	3860	—	
18.	—	—	—	—	—	

Versuch A.
Am 2. und 3. VI. je
2 g Betainchlorid, mit
NaOH neutralisiert,
subcutan.

Versuch B.
Am 24. und 25. VI.
1,5 g Cholin, mit HCl
neutralisiert,
in 3 Dosen, subcutan.

Versuch C.
10., 11. u. 12. 1,75 g
Cholin, mit HCl neu-
tralisiert, subcutan.

Verspritzt seinen
Harn!

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Harn- menge ccm	Präform. Kreatinin g	Gesamt- Kreatinin g	Ge- wicht g	Gesamt- Kreatinin- Koeffizient	Bemerkungen
20.VII.	335	0,384	0,408	3730	20,2	
22.	—	0,360	0,360	3730	17,9	
24.	450	0,390	—	3730	19,3	
26.	—	—	—	—	—	
28.	—	—	—	—	—	
30.	730	0,360	0,360	3650	18,2	
1.VIII.	430	0,384	0,390	3640	19,8	Versuch D.
3.	520	0,346	0,346	3500	18,3	Am 1. und 2.VIII. 1,5 g
5.	320	0,367	0,367	3550	19,1	Cholin, in 3 Dosen, subcutan.
7.	220	0,360	0,360	3570	18,7	
9.	320	0,375	—	3550	19,5	

Linie fällt auf, daß die Kreatininwerte sämtlich niedriger sind als die in der Tabelle I. Allerdings sind auch die Gewichtszahlen niedriger, doch ersehen wir aus den niedrigen Kreatinin-koeffizienten, daß auch in bezug auf das Gewicht die Kreatininwerte niedrige sind. Auch finden wir recht erhebliche normale Schwankungen, die die Fehlergrenzen der Bestimmung mitunter stark überschreiten.

Betrachten wir nun die einzelnen Versuche. In Versuch A, am 2. und 3. VI., erhielt das Tier 6 g Betainchlorid mit ziemlich viel NaCl (bei der Neutralisation gebildet) subcutan. Ein plötzlicher Anstieg ist nicht erkennbar. Zwar ist das Mittel der sechs Bestimmungen nach der Injektion mit 0,251 g etwas höher als das Mittel der sechs Bestimmungen vorher, 0,239, und nachher 0,234 g, auch sieht man, am zwölften Tage!, eine außergewöhnlich hohe Zahl, doch muß der Versuch als mindestens zweifelhaft, wenn nicht negativ gelten. Der Grund liegt wahrscheinlich an der Gegenwart des NaCl, das eine zu schnelle Ausschwemmung des Betains bewirkte (Diurese am 4. VI.!).

Am 24. und 25. VI. (Versuch B) erhielt das Tier 1,5 g Cholin, mit HCl neutralisiert, in drei Dosen subcutan. Am 26. VI. ist nichts zu erkennen. Am 28. VI. dagegen finden wir ein

überaus starkes Hochschnellen der Kreatininmenge und gleichzeitig erscheint Kreatin in nicht geringer Menge im Harn. Dieser Versuch erscheint mir wegen der verzögerten Ausscheidung und des Auftretens von Kreatin recht charakteristisch.

Am 10.—12. Juli (Versuch C) wurde wieder Cholin injiziert. Der Versuch konnte leider nicht zu Ende geführt werden. Das Tier, das in diesen Tagen ziemlich plötzlich in Brunstzustand geriet, spritzte nämlich, wie am 14. VII. bemerkt wurde, seinen Harn zu einem nicht unerheblichen Teil durch die Gitterstäbe des Käfigs ins Zimmer. Es wurde daher in einen mit Glaswänden abgeschlossenen Käfig gebracht, in dem ein Verlust des Harns unmöglich war. Die erste Harnportion aus diesem Käfig, am 20. VII. gesammelt, ergab nun die hohe Kreatininmenge von 0,384 g und 0,408 g Gesamtkreatinin. Diese hohen Zahlen hielten aber nun weiter an bei gleichzeitig stark gesteigerter Harnmenge (siehe Tabelle).

Diese auffallende Erscheinung bedurfte einer Erklärung. Am nächsten liegt natürlich die Annahme, daß erst in dem neuen Käfig der Harn quantitativ gewonnen wurde, während vorher durch Verspritzen stets etwas verloren gegangen ist. Hätte diese Annahme auch nur eine Spur von Wahrscheinlichkeit, so hätte ich mir die Wiedergabe der früheren Versuche gern erspart. Indessen ich muß diese Annahme als ausgeschlossen bezeichnen. Es ist unmöglich, daß mir ein Verspritzen des Harns in den ganzen zwei Monaten vorher entgangen wäre, ja auch noch einen Monat vorher, da schon im April mit demselben Tiere im gleichen Käfig Versuche anderer Art unternommen waren mit folgenden Kreatininwerten: 0,282, 0,276, 0,300, 0,288, 0,270, 0,287, 0,287. Und da alle diese Werte um einen Mittelwert herum liegen, der weit unter dem neuen Wert liegt, so müßte man obendrein annehmen, daß täglich etwas und sogar täglich annähernd die gleiche Menge durch Verspritzen verloren ging, eine mehr als unwahrscheinliche Annahme.

Wir müssen also nach einer anderen Erklärung suchen, und diese scheint mir durch den Zustand des Tieres gegeben zu sein. Dieses befand sich in außerordentlicher Erregung. Es

behte förmlich und war so wild, daß es beim Füttern mehr als einmal nach mir biß, während es bis dahin durchaus ruhig gewesen war. Es befand sich zweifellos in einem Zustand «erhöhter Intensität der Lebenserscheinungen»,¹⁾ des erhöhten Tonus. Dem entsprechen die überaus hohen Kreatininwerte und die exzessiven Kreatininkoeffizienten (im Mittel 19,0). Dazu kommt, daß das Tier bei guter Nahrungsaufnahme rapide an Gewicht verlor. Es gingen also Zellen zugrunde und Vorstufen des Kreatins (evtl. Lipoide) standen in erhöhtem Umfang zur Verfügung. Ja sogar der negative Ausfall des Cholinversuchs D paßt zwanglos zu dieser Annahme. Denn es ist klar, daß bei einer solchen Überladung des Organismus mit Kreatin, wie sie sich in den hohen Kreatininkoeffizienten ausspricht, die Zuführung von noch mehr Kreatinvorstufen nicht noch zu einer weiteren Steigerung der Kreatinbildung führen konnte.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß auch später die Kreatininausscheidung dauernd auf ähnlicher Höhe blieb, obwohl inzwischen der Erregungszustand des Tieres verschwunden war. Inzwischen, in der Pause vom 9. VIII. bis 28. X., war aber das Gewicht des Tieres ganz erheblich gestiegen, und der auf 16,3 im Durchschnitt herabgegangene Koeffizient zeigt, daß relativ zum Körpergewicht jetzt viel weniger Kreatinin zur Ausscheidung kommt als in der sexuellen Erregungsperiode des August.

Der plötzliche Anstieg der Kreatininausscheidung um den 20. VII. ist also einer Erklärung zugänglich, die sogar ein gewisses biologisches Interesse hat. Ob sie zutrifft, ließe sich nur feststellen, wenn es gelänge, ähnliche plötzliche Anstiege auch bei anderen Tieren unter analogen Umständen zu beobachten, unter besonderer Berücksichtigung des Kreatininkoeffizienten. Bemerkenswert bleibt schließlich noch die Tatsache, daß der Kreatininkoeffizient im Sommer durchschnittlich nur 12,4,²⁾ im Herbst und Winter aber 16,3 betrug. Zwischen

¹⁾ Vgl. van Hoogenhuyze und Verploegh, Diese Zeitschrift, Bd. 46, S. 415 (1905).

²⁾ In dem in der früheren Arbeit (l. c., S. 452) wiedergegebenen Versuch an einem anderen Tiere berechnet sich der normale Quotient zu 12,6 im Mittel.

beiden Werten liegt die von Myers und Fine angegebene Zahl 14,3. Ich halte es angesichts der starken Gewichtszunahme des Tieres im August—September für wahrscheinlich, daß es bei Beginn des Versuchs noch nicht ausgewachsen war und erst im Herbst und Winter allmählich völlig heranwuchs. Dabei ist noch zu bemerken, daß es sich um ein außergewöhnlich kräftiges und großes Tier handelt. Leider fehlt es zur Stütze dieser Annahme noch an vergleichenden Bestimmungen des Kreatininkoeffizienten bei jungen und erwachsenen Tieren.

An dieser Stelle sei noch ein älterer Betainversuch angeführt, der an einem anderen Tiere ausgeführt ist und, wenn er auch nicht genügend lange durchgeführt wurde, doch im gleichen Sinne wie die späteren Versuche ausfiel. Das Tier wurde, nach dem Vorgang von Laqueur,¹⁾ ausschließlich mit Milch gefüttert, die es spontan in größeren Mengen aufnahm. Die Gewichtszahlen fehlen mir leider. Der Harn wurde auf 1000 ccm verdünnt; 25 ccm dienten zur Bestimmung.

Tabelle III.

Datum	Aufgenommene Milch ccm	Harnmenge ccm	Präform. Kreatinin g	Gesamt-Kreatinin g	Bemerkungen
19. IV.	Hafer	70	0,160	0,160	
21.	660	560	0,160	0,160	
23.	1200	970	0,160	0,160	
25.	1000	725	0,178	0,178	
27.	900	760	0,160	0,160	
29.	1000	750	0,204	0,204	
1. V.	1100	850	0,178	0,178	
3.	1000	730	0,192	0,192	
5.	?	235	0,160	—	

Versuch
am 27. und 28. je
4 g Betainchlorid mit
NaOH neutralisiert
subcutan.

Betrachten wir nun endlich alle Versuche mit Betain und Cholin vom Standpunkt unserer Hypothese, ohne Rücksicht auf irgend welche theoretische Deutungen, so haben wir drei Versuche mit Cholin (Versuch C muß unberücksichtigt bleiben, weil

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 109.

hier sicher Harn in nicht unbeträchtlicher Menge verloren ging), von denen zwei positiv sind, der dritte, in die Erregungsperiode fallend, negativ. An Betainversuchen stehen sechs zur Verfügung, einschließlich des in der früheren Arbeit publizierten. Davon sind fünf positiv, einer (Versuch a, bei Gegenwart von viel NaCl) negativ. Ich darf demnach auch in diesen Versuchen eine Bestätigung meiner Hypothese der Kreatinbildung sehen. Es sind Versuche im Gang zur Klärung der Frage, ob ein überlebender, im normalen Tonus befindlicher Muskel, nämlich das Herz, aus Cholin oder Betain Kreatin zu bilden vermag.