



Het voorkomen van kreatine en kreatinine in het lichaam van zoogdieren

<https://hdl.handle.net/1874/257357>

A. 4292

Med. 2 Juli 1913

HET VOORKOMEN VAN KREATINE
EN KREATININE IN HET LICHAAM
VAN ZOOGDIEREN.



Diss.
Utrecht

1913

J. C. BEKER

HET VOORKOMEN VAN KREATINE
EN KREATININE IN HET LICHAAM
VAN ZOOGDIEREN.



Diss. Utrecht 1913

HET VOORKOMEN VAN KREATINE EN KREATININE IN HET LICHAAM VAN ZOOGDIEREN.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT
TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
DR. C. EIJKMAN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER
GENEESKUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT
DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG
DEN 1^{EN} JULI 1913, DES NAMIDDAGS TE VIER UUR, DOOR

JOHAN CORNELIS BEKER

GEBOREN TE BREDA * * * * *



UITGEGEVEN DOOR A. OOSTHOEK TE UTRECHT IN 1913

AAN MIJNE TWEEDE MOEDER

AAN MIJN VADER.



Bij het voltooiën van mijn proefschrift is het mij een groot genoegen, U, Hooggeleerde PEKELHARING, Hooggeachte Promotor, mijn hartelijken dank te kunnen brengen voor uw hulp, mij bij het bewerken van mijn proefschrift geboden. Uwe vriendschappelijke belangstelling voor mijn werk, hebben mij het chemisch werken als eene aangename afwisseling in mijn klinischen tijd leeren beschouwen.

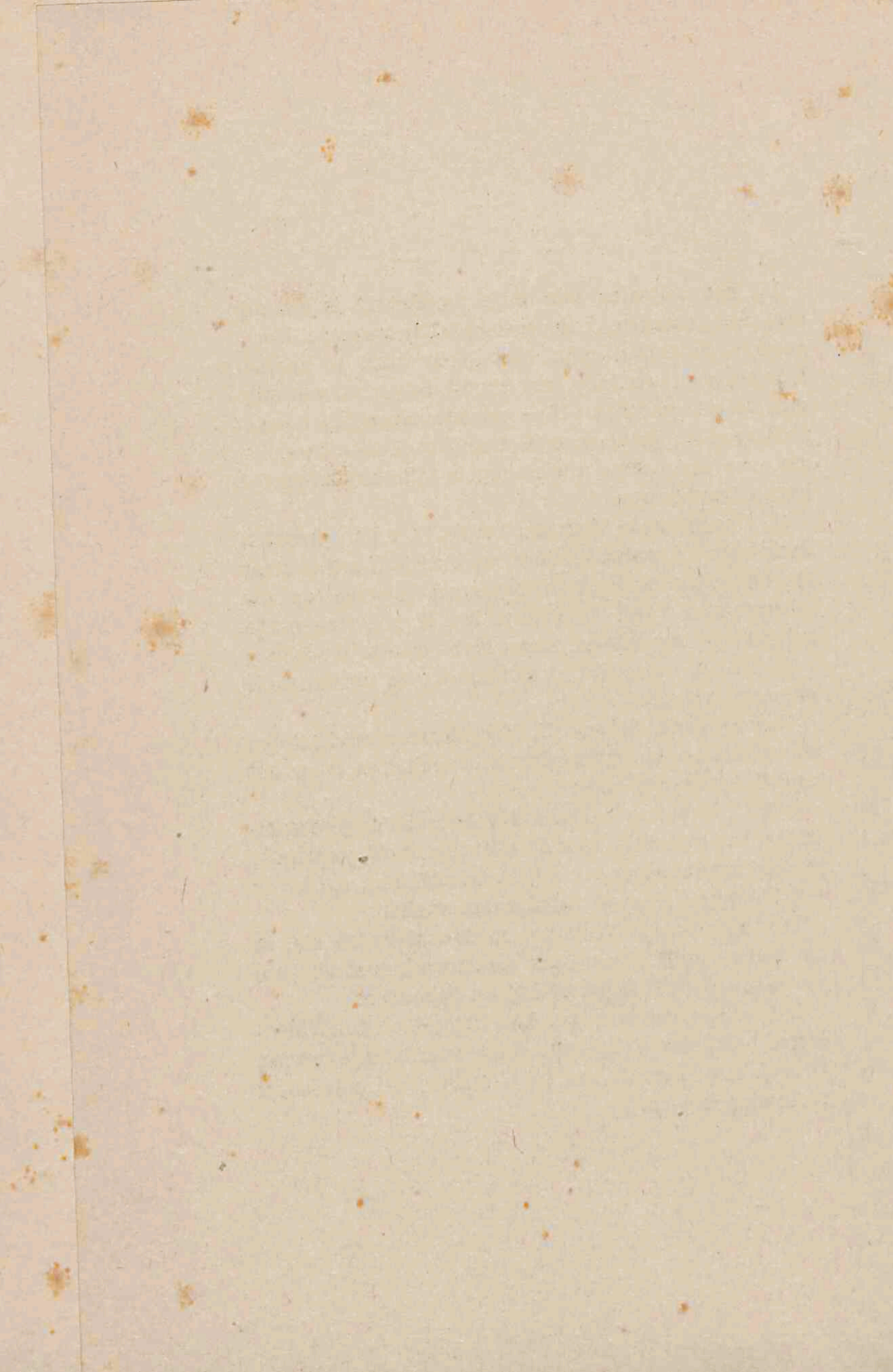
U, Hooggeleerde KOUWER, betuig ik mijn oprechten dank voor de welwillendheid, waarmede U mij in staat steltet mijne nauwelijks begonnen proeven op uw laboratorium voort te zetten. Dat ik nog langen tijd gelegenheid zal hebben, onder uwe persoonlijke leiding mijn blik in de medische wetenschap te verruimen is mij eene vreugde.

Gaarne dank ik ook U, Hoogleeraren en Lectoren der Medische en Philosophische Faculteiten, voor het van U ontvangen onderwijs.

Ook U, Directeur en Onder-directeur van de gemeenteslachtplaats dank ik voor de welwillendheid, waarmede gij uw laboratorium ter mijner beschikking steltet en mij bij mijne proeven behulpzaam waart.

De vriendschap van mijne mede-assistenten stel ik op hoogen prijs, moge ons samenwerken steeds een vriendschappelijk karakter blijven behouden.

Lid te zijn geweest van het Utrechtsch Studentencorps, beschouw ik steeds als een voorrecht, moge het U. S. C. steeds hecht aan de Utrechtsche Hoogeschool verbonden blijven.



INLEIDING.

Sedert Folin¹⁾ in 1904 de door Jaffé gevonden reactie op kreatinine uitwerkte tot eene zeer nauwkeurige quantitatieve bepalingsmethode, is de kennis omtrent het voorkomen en de afscheiding van kreatine en kreatinine, althans bij zoogdieren, belangrijk vermeerderd.

Voor dien tijd werd steeds de methode van Neubauer²⁾, later door Salkowski gewijzigd, gebruikt.

Deze methode gaf, zooals door van Hoogenhuyze en Verploegh³⁾ werd aangetoond, te geringe waarden voor de hoeveelheid kreatinine.

Folin⁴⁾ zelf was de eerste, die met zijne methode de afscheiding van kreatinine onder normale omstandigheden naging.

Hij stelde een zestal personen op kreatinine-vrij dieet en onderzocht gedurende 30 dagen de hoeveelheid kreatinine gedurende 24 uur in de urine afgescheiden.

Hij vond nu, dat de absolute hoeveelheid kreatinine constant is, verschillend voor verschillende personen, maar geheel onafhankelijk van de schommelingen in de totale stikstofafscheiding.

1) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLI, S. 223.

2) Zeitschr. f. Analyt. Chem., Bd. I, S. 22.

3) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLVI, S. 421.

4) American Journ. of Physiol., Vol. XIII, p. 66.

Tevens merkte hij op, dat de hoeveelheid afgescheiden kreatinine niet wisselt bij verandering van de hoeveelheid in het voedsel gebruikt eiwit. Hij maakte hieruit op, dat, mits het lichaam voldoende gevoed wordt, de kreatinine-afscheiding niet afhankelijk is van het voedsel, maar het product is van de endogene stofwisseling van het lichaam.

Deze waarneming werd bevestigd door de onderzoekingen van van Hoogenhuyze en Verploegh¹⁾, die bij een langdurig kreatinine-vrij dieet eene vrijwel constante kreatinine-afscheiding waarnamen.

Folin wees erop, dat de hoeveelheid kreatinine, bij verschillende personen in de urine verschijnend, niet geheel evenredig is met het lichaamsgewicht, doch waarschijnlijk wel met de hoeveelheid actief weefsel.

Shaffer's²⁾ opvattingen zijn eenigszins beperkend, wat de plaats van deze kreatinine-stofwisseling aangaat.

Hij meent, dat de afscheiding van kreatinine een index is van een speciaal voor het grootste deel, zoo niet geheel, in de spieren gezeteld stofwisselingsproces, waarbij wordt aangenomen, dat door de spieren in den bloedsomloop gebrachte kreatine door de nieren als kreatinine uit het lichaam wordt verwijderd. De vraag, of deze onderstelling gerechtvaardigd is, zal ik straks bespreken.

Shaffer voerde het begrip kreatinine-coëfficiënt in, de hoeveelheid kreatinine-stikstof in 24 uur afgescheiden per kilogram lichaamsgewicht.

Hij steunde zijne veronderstelling met de opmerking, dat bij personen met een minder goed ontwikkeld spierstelsel de kreatinine-coëfficiënt laag is. Hiermede komen overeen de waarnemingen van Spriggs³⁾ en

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLVI, S. 421.

²⁾ American Journ. of Physiol., Vol. XXIII, p. 1.

³⁾ Bio-Chemical Journ., Vol. II, p. 216.

Forschbach¹⁾, die bij personen met progressieve spieratrofie een laag kreatinine-coëfficiënt vonden.

Ook bij vrouwen en kinderen vond Shaffer den kreatinine-coëfficiënt laag, wat bevestigd werd door Benedict en Myers²⁾. Grocco³⁾ had ook bij oude menschen eene geringe afscheiding van kreatinine gevonden.

Tegen de hypothese van Folin pleiten echter geen dezer feiten, daar tevens bij deze personen naast de spier-stofwisseling ook de algemeene weefsel-stofwisseling minder krachtig kan zijn.

Gaan wij na, welken invloed de veranderingen in de spierstofwisseling op de afscheiding van kreatinine hebben, dan moeten wij onderscheid maken tusschen de stofwisseling tijdens de spiercontracties en de stofwisseling in de spieren tengevolge van den tonus.

Het blijkt uit de onderzoekingen van Weber⁴⁾, dat de flink werkende hartspier meer kreatine afgeeft aan de omgevende vloeistof dan de rustende spier. Waarschijnlijk wordt dus ook tijdens de contractie kreatine aan de omgeving afgegeven. Hieruit volgt echter nog niet, dat de vorming van kreatine met de contractie zelve onmiddellijk samenhangt, aangezien, zooals bekend is, bij de hartswerking ook de tonus een belangrijke rol speelt.

Vermeerderde arbeid der willekeurige spieren heeft, tenminste volgens de onderzoekingen van van Hoogenhuyze en Verploegh⁵⁾ geen invloed op de afscheiding van kreatinine in de urine. Evenmin blijkt vermindering van spierarbeid invloed te hebben.

¹⁾ Arch. f. Experim. Pathol., Bd. LVIII, S. 112.

²⁾ American Journ. of Physiol., Vol. XVII—XVIII, p. 362.

³⁾ Maly's Jahresber., Bd. XVI.

⁴⁾ Archiv. f. Exper. Path. u. Pharm., Bd. LVIII, S. 93.

⁵⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 161.

Het kreatine-gehalte van de spier neemt na langdurige contracties evenmin toe. (Forschbach¹⁾, Mellanby²⁾, Graham Brown en Cathcart³⁾, Pekelharing en van Hoogenhuyze⁴⁾ en v. Fürth en Schwarz⁵⁾)

Wel blijkt het kreatinine-gehalte van de urine vermeerderd te worden door vermeerdering van tonus.

Pekelharing⁶⁾ deelde de uitkomsten mede van een onderzoek, waarbij de kreatine in de urine van een persoon werd bepaald, die enkele uren daags zijne spieren in sterken tonus bracht. Op deze dagen bleek het kreatinine-gehalte van de urine verhoogd te zijn.

Tevens blijkt uit de onderzoekingen van Pekelharing en van Hoogenhuyze⁷⁾ dat ook het kreatine-gehalte van in tonus verkeerende spieren verhoogd is.

Ook op grond van het feit, dat de gedurende den nacht geloosde urine minder kreatinine bevat, dan de overdag geloosde, (van Hoogenhuyze en Verploegh⁸⁾, Wolf en Osterberg⁹⁾) gedurende welken tijd de tonus der spieren ook als hooger kan beschouwd worden dan des nachts, is het dus wel als zeker aan te nemen, dat de stofwisseling der spieren invloed heeft op de afscheiding van kreatinine.

Het is bekend, dat het gehalte aan kreatine der

1) Archiv. f. Exp. Path. u. Pharm., Bd. LVIII, S. 112.

2) Journ. of Physiol., Vol. XXXVI, p. 447.

3) Bio-Chemical Journ., Vol. IV, p. 420.

4) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LXIV, S. 262.

5) Bio-Chem. Zeitschr., Bd. XXX, S. 413.

6) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LXXV, S. 207.

7) ibidem, Bd. LXIV, S. 262.

8) ibidem, Bd. LVII, S. 161.

9) Journ. of Biol. Chem., Vol. III, p. 165.

spieren (0,4 %) veel hooger is dan het gehalte aan kreatine van het bloed (0,002 % Rothmann¹⁾).

Het zou denkbaar zijn, dat de kreatine, ergens anders gevormd, door het bloed naar de spieren gevoerd en daar vastgehouden zou worden. Er is daarvoor echter geen enkele grond aan te voeren. Bovendien zou men dan — daar het gehalte aan kreatine van de spieren vrij wel standvastig is — moeten aannemen, dat door verbruik in, of door afvoer uit de spieren, of door beiden, de toevoer wordt opgewogen.

Veel eenvoudiger is het aan te nemen, dat kreatine in de spieren bij de stofwisseling ontstaat.

Men heeft intusschen niet het recht uitsluitend de spieren als bronnen van kreatine te beschouwen. Ook verscheidene andere organen bevatten meer kreatine dan het bloed. Ook hier dient men dus aan te nemen, dat deze stof als stofwisselingsproduct wordt gevormd.

Omtrent het gehalte aan kreatine van andere organen als spieren, is evenwel nog weinig bekend.

In de litteratuur vindt men daaromtrent slechts enkele waarnemingen.

Zoo vonden Gottlieb en Stangassinger²⁾ kreatine in de lever (0,0086 %) evenzoo Inouye³⁾ (0,0285 %).

Reeds veel vroeger is kreatine gevonden in de hersenen door W. Müller⁴⁾ en later door Ssubotin⁵⁾.

Toch is het voor het verkrijgen van eenig juist begrip van de beteekenis van kreatine als stofwisselingsproduct noodzakelijk, gegevens te verzamelen omtrent de hoeveelheid, waarin deze stof in verschillende organen

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 131.

²⁾ ibidem, Bd. LV, S. 332.

³⁾ ibidem, Bd. LXXXI, S. 71.

⁴⁾ Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. CIII, S. 132.

⁵⁾ Zeitschr. f. Rat. Med., Bd. XXVIII.

voorkomt. Het hier mede te deelen onderzoek heeft ten doel, de in dit opzicht bestaande leemten eenigermate aan te vullen.

Alvorens tot de beschrijving hiervan over te gaan, moet ik echter nog een paar vragen bespreken. Voor eerst de straks reeds gestelde vraag, of men het recht heeft aan te nemen, dat de in de urine afgescheiden kreatinine van in het organisme gevormde kreatine afkomstig is.

F o l i n meende, dat kreatinine niets te maken heeft met de in het lichaam zich bevindende kreatine.

Zooals bekend is, komt in de urine onder normale omstandigheden geen kreatine voor. F o l i n ¹⁾ vond nu, dat, wanneer kreatine bij het voedsel gegeven wordt, dit nooit eene vermeerdering van de hoeveelheid kreatinine in de urine gaf.

Niet geheel hiermede in overeenstemming zijn de uitkomsten van Van Hoogenhuyze en Verploegh ²⁾, die bij toedienen van kreatine bij het voedsel een deel, hoewel een klein deel, als kreatinine in de urine terugvonden. Ook bij proeven met konijnen en met een hond, waarbij P e k e l h a r i n g en Van Hoogenhuyze ³⁾ intraveneus of subcutaan kreatine inspoten, werd steeds een deel als kreatinine in de urine teruggevonden, te grooter naarmate, door kleine hoeveelheden tegelijk onder de huid in te spuiten, plotselinge overlading van het bloed met kreatine beter werd vermeden. Deze proeven bewijzen meer dan die van F o l i n en anderen, waarbij kreatine per os werd toegediend, omdat in het laatste geval zeker een, nu eens grooter, dan weer kleiner deel van de kreatine in den darm door bacteriën

¹⁾ Festschrift f. O. Hammarsten, 1907, III.

²⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 161.

³⁾ ibidem, Bd. LXIX, S. 395.

wordt ontleed, zoodat men niet kan nagaan, hoeveel er in den bloedstroom is opgenomen.

Ook bij den parenteralen toevoer bleek het lichaam steeds in staat te zijn een deel van de kreatine verder om te zetten. Steeds werd slechts een deel van de kreatine als zoodanig of als kreatinine in de urine teruggevonden en wel des te minder, naarmate meer geleidelijk de kreatine in circulatie gebracht was. Ook vond de afscheiding dikwijls niet direct plaats, doch werd den volgenden dag soms vermeerdering in de urine gevonden.

Dat ook in den darm kreatinine gevormd kan worden is wel waarschijnlijk, sedert Antonoff¹⁾ en Tiber Germán²⁾ gevonden hebben, dat vele bacteriën en wel speciaal *bact. coli* in staat zijn kreatinine uit pepton te vormen.

Als pleitende voor den samenhang tusschen kreatine en kreatinine zijn verder die gevallen aan te halen, waar, bij vermindering van het kreatinine-gehalte van de urine, een daarmede overeenkomstige hoeveelheid kreatine in de urine verschijnt.

Dit is waargenomen in alle proeven, die genomen zijn over den invloed van hongeren op de afscheiding van kreatinine en kreatine.

Het is dus wel aan te nemen, dat kreatine omgezet wordt tot kreatinine en als zoodanig afgescheiden, hoewel ook een deel verder gesplitst wordt.

Waar heeft nu deze omzetting plaats? Gottlieb en Stangassinger³⁾ meenen, dat in bijna alle organen deze omzetting kan plaats hebben, en dat tevens in bijna alle organen kreatine en kreatinine verder gesplitst worden.

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. I Orig., Bd. XLIII, S. 209.

²⁾ ibidem, Bd. LXIII, S. 545.

³⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LII, S. 1.

Zij voegden bij extracten van lever, milt, nier en long, kreatine en vonden dan na enkele dagen een deel van de toegevoegde kreatine als kreatinine terug, en tevens merkten zij op, dat het totaal van kreatine plus kreatinine verminderd was.

Hun proeven werden bestreden door Mellanby ¹⁾, die meende, dat de vermeerdering van kreatinine ontstond door het langdurig verhitten bij het indampen en dat de verdere omzetting van de kreatine berustte op bacteriewerking.

Nadien herhaalde Rothmann ²⁾ hun proeven onder steriele omstandigheden en met inachtneming van de door Mellanby aangegeven bron van fouten, nl. het verwarmen boven 40°.

Hoewel de door hem gevonden veranderingen minder groot zijn, dan die door Gottlieb gevonden, meent hij toch aan verschillende organen het vermogen te moeten toeschrijven om kreatine in kreatinine om te zetten en verder te kunnen ontleden.

Ook in de glandula thyreoïdea en parathyreoïdea, benevens in de bijnier, is volgens het onderzoek van A. H. Rowe ³⁾ een kreatine-splitsend ferment aanwezig.

Meer bewijzend schijnen mij de latere onderzoekingen van Gottlieb en Stangassinger ⁴⁾, waarbij zij door overlevende organen (lever en nier), kreatine bevattende Ringer's vloeistof lieten stroomen. Na enkele uren vonden zij bij dieren, die kort te voren voedsel gekregen hadden, eene vermeerdering van de totale hoeveelheid kreatine plus kreatinine in twee hunner proeven, waarbij de vloeistof door de lever geleid werd. Zij vonden steeds vermindering bij dieren die eenigen tijd gehongerd hadden.

¹⁾ Journ. of Physiol., Vol. XXXVI, p. 447.

²⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 131.

³⁾ American. Journ. of Physiol., Vol. XXXI, p. 169.

⁴⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 476.

Op verschillende andere wijzen is getracht den invloed van de lever op de afscheiding van kreatinine na te gaan. Door verschillende stoffen, hydrazinesulfaat (Underhill en Kleiner)¹⁾, amyralcohol, phosphorus (Lefmann)²⁾ en chloroform (Lindsay)³⁾ werden de levercellen beschadigd en steeds zag men daarna kreatine in de urine verschijnen.

Als pleitende tegen den invloed van de lever op de omzetting van kreatine tot kreatinine worden de proeven van London en Boljarski⁴⁾ aangemerkt. Zij vonden bij honden, bij wie zij een fistel van Eck hadden aangelegd, in het voedsel toegevoerde kreatine, voor een deel als kreatinine in de urine terug.

Deze proeven zijn echter niet bewijzend. Vooreerst scheidden de honden, niet alleen bij honger, maar ook bij voeding met melk en brood, kreatine af in merkbare hoeveelheid, hetgeen bij normale honden niet het geval is. Maar bovendien wordt door het aanleggen van een fistel van Eck de circulatie van de lever niet geheel opgeheven. Het bloed van de arteria hepatica blijft nog evengoed in het capillair net van de leverlobuli stroomen en vandaar in de venae hepaticae.

Tevens wordt bij iedere inademing de lever onder verhoogde drukking gebracht, terwijl de drukking in de borstholte daalt, zoodat een deel van het bloed uit de haarvaten der lever, door de venae hepaticae, welker lumen niet veranderlijk is, naar de vena cava moet stroomen.

Bij elke uitademing stroomt bloed uit de vena cava in de lever terug. De levercellen zijn dus, wanneer het

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LV, S. 322.

²⁾ Journ. of Biol. Chem., Vol. IV, p. 165.

³⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LVII, S. 476.

⁴⁾ Bio-Chem. Journal, Bd. V.

⁵⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LXII, S. 465.

bloed uit de vena portae onmiddellijk in de vena cava afvloeit, geenszins geheel buiten staat gesteld hare werking voort te zetten en hare producten in circulatie te brengen.

Waarschijnlijk wijst ook het voorkomen van kreatine in de urine van zwangeren op eene verminderde werking van de lever.

Regelmatig is door van Hoogenhuyzen en ten Doesschate ¹⁾ en door Krause en Cramer ²⁾ kreatine in de urine van gravidæ gevonden.

Zeer hoog was het kreatine-gehalte bij en na eclampsie, waar waarschijnlijk de lever nog meer te kort schiet in hare functie om kreatine tot kreatinine om te zetten.

De groote hoeveelheid kreatine, gevonden bij vrouwen de eerste dagen na de baring (Murlin ³⁾, Shaffer ⁴⁾) wordt waarschijnlijk terecht toegeschreven aan de bij de involutie van den uterus vrijkomende kreatine. Het feit, dat de uterusspier bij zijne contracties kreatine kan afgeven, is aangetoond door de proeven van Rübsem en Gusikoff ⁵⁾. Over de hoeveelheid kreatine, die in de uterusspier is opgehoopt, waren geen gegevens bekend. Hierover zijn bij mijne proeven enkele bepalingen gedaan.

Zoo zien wij, dat wel als zeker mag worden aangenomen, dat het lichaam in staat is, kreatine tot kreatinine om te zetten. Ook is het wel zeker, dat kreatine en kreatinine producten zijn van de eiwitstofwisseling en nu doet zich de vraag voor, uit welke

¹⁾ Ann. de gynécologie et d'obstétrique, T. VIII.

²⁾ Proc. of the Physiol. Soc., p. 34; Journ. of Physiol., Vol. XLII.

³⁾ Proc. of the Amer. Physiol. Soc., *Baltimore*, 1908.

⁴⁾ American. Journ. of Physiol., Vol. XXIII, p. 1.

⁵⁾ Archiv. f. Gynaecologie, Bd. XCV, S. 461.

stoffen kreatine en kreatinine kunnen ontstaan. Het meest waarschijnlijk is, dat zij ontstaan uit de guanidine-groepen.

Inderdaad vond Jaffé¹⁾ dat bij konijnen met glycoyamine (guanidine-azijnzuur) in het voedsel, meer kreatinine in de urine verscheen, terwijl hij tevens eene vermeerdering van het kreatine-gehalte van de spieren waarnam.

Dorner²⁾ kon deze proeven bevestigen bij konijnen (bij kikvorschen was het resultaat negatief). Bij toevoegen van methylguanidine vond hij geen vermeerdering van kreatine in de urine. Wel vond Achelis³⁾, dat bij een voedsel met veel kreatine, de hoeveelheid methylguanidine in de urine een weinig toenam.

Seeman⁴⁾ meent, dat de atoomgroepeering van kreatinine in het molecuul der eiwitlichamen gepraeformeed voorkomt. Het ware volgens hem te denken, dat door enzymwerking uit het spiereiwit de kreatinine-componenten afgesplitst worden en bij alkalische reactie in kreatine overgaan. De kreatinine zou uit arginine-peptiden ontstaan.

Voor de hand ligt de veronderstelling dat kreatine zou ontstaan door methyleering uit arginine.

Bij het nemen van arginine in het voedsel vond Jaffé⁵⁾ geen vermeerdering van kreatine in de urine. Evenmin vonden van Hoogenhuyze en Verploegh⁶⁾ bij toevoegen van gelatine of van caseïne aan het voedsel, verschil. Thompson⁷⁾ vond arginine

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLVIII, S. 430.

²⁾ ibidem, Bd. LII, S. 225.

³⁾ ibidem, Bd. L, S. 10.

⁴⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. XLIX, S. 333.

⁵⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLVIII, S. 430.

⁶⁾ ibidem, Bd. XLVI, S. 415.

⁷⁾ Journ. of Physiol., Vol. XXXII, p. 137.

bij honden in het voedsel gegeven, voor het grootste deel als ureum terug. Hier heeft echter de arginine steeds den darm moeten passeeren en er is dus rijkelijk gelegenheid geweest tot verder omzetten.

Inouye ¹⁾ nam nu proeven, waarbij hij lever-extracten maakte en hierbij arginine toevoegde. Steeds vond hij hierbij vermeerdering van kreatine.

Ook bij het doorleiden door overlevende lever van arginine-bevattende vloeistoffen vond hij vermeerdering van kreatine. Hij komt dus tot de conclusie, dat een deel van de kreatine in het lichaam zich vormt onder methyleering uit arginine.

Zoo zien wij dan, dat vele feiten pleiten voor de hypothese, dat kreatinine een product is van de endogene stofwisseling. Veel pleit er ook voor, dat de vorming niet alleen in de spieren, maar ook in andere organen plaats heeft.

Het doel van dit onderzoek is daarom geweest, na te gaan, in hoeverre de kreatine, onder normale omstandigheden in het lichaam verdeeld, voorkomt.

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LXXXI, S. 71.

Methode.

Voor de bepaling van kreatinine in de urine wordt sedert 1904 steeds de methode van Folin¹⁾ gebruikt. Ook bij orgaanextracten bleek de methode bruikbaar, hoewel bij donkere kleur van de vloeistof de fouten, bij de aflezing gemaakt, over het algemeen grooter zijn, dan bij weinig gekleurde vloeistof.

Bij bepalingen in spierextracten werd de methode geregeld gebruikt.

Emmet en Grindley²⁾ gaven aan, dat de kleur hierbij weinig of geen invloed heeft, terwijl ook Gottlieb en Stangassinger³⁾ bij hunne extracten van organen, de methode als zeer bruikbaar beschouwden.

Steeds heb ik er naar gestreefd nauwkeurig de aanduidingen van Folin te volgen. Zooveel mogelijk werd tot 500 c.c.m. verdund en afgelezen bij een kolomhoogte tusschen 4 en 12 m.m., terwijl ook inachtgenomen werd de temperatuur van 15° C.

Voor de omzetting van kreatine tot kreatinine werd gebruik gemaakt van de methode van Benedict en Myers⁴⁾. De kreatine-bevattende vloeistof werd dus met eene dubbele hoeveelheid normaal zoutzuur gedurende een half uur in de autoclaaf verhit op 115° C., daarna nauwkeurig geneutraliseerd en vervolgens werd de quantitative bepaling volgens Folin verricht met behulp van den colorimeter van van Hoogenhuyze en Verploegh⁵⁾.

1) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLI, S. 223.

2) Journ. of Biol. Chem., Vol. III, p. 491.

3) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LII, S. 1.

4) American Journ. of Physiol., Vol. XVIII, p. 397.

5) Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XLVI, S. 415.

Voor het bereiden van de orgaanextracten kon niet steeds dezelfde methode gebruikt worden.

Voor het bereiden van de extracten der spieren werd de fijngehakte spiermassa gekookt met 1 % zoutzuur gedurende vijf uur, terwijl zooveel mogelijk indampen werd vermeden.

De troebele vloeistof werd dan door koken en neutraliseeren van eiwit bevrijd en na afkoelen tot een bepaald volumen gebracht

Dit werd gefiltreerd en van het filtraat eene bepaalde hoeveelheid genomen en ingedampt tot een zoodanig volumen, dat 10 c.c.m. van de ingedampte vloeistof ongeveer 10 mgr. kreatinine bevatten.

Deze 10 c.c.m. extract werden met 20 c.c.m. normaal zoutzuur gedurende een half uur in de autoclaaf op 115° C. verhit. Daarna werd geneutraliseerd en volgens Folin de bepaling gedaan.

Hinderlijk voor de bepaling is de eenigszins bruine tint na het verhitten in de autoclaaf niet, daar steeds tot 500 c.c.m. verdund kon worden.

Daarom werd het spierextract gebruikt als contrôle voor de genomen proeven, om de veel sterker gekleurde extracten der andere organen te ontkleuren.

Het helder maken met dierlijke kool was gebleken niet bruikbaar te zijn, daar veel kreatinine in de kool achterbleef (Mellanby¹⁾). Ook het gebruik van loodacetaat was af te raden (Dreibholz²⁾).

Rona³⁾ had aangegeven dat colloïdaal ijzer kreatinine niet adsorbeert, zoodat deze stof geheel in de eiwitvrije, heldere, neutrale filtraten overgaat.

Na het filtreren van de geneutraliseerde troebele

¹⁾ Journ. of Physiol., Vol. XXXVI, p. 447.

²⁾ Inaug. Dissert., Greifswald, 1908.

³⁾ Bio-Chem. Zeitschr., Bd. XXVII, S. 348.

vloeistof werd dus nu van het heldere filtraat de helft met colloïdaal ijzer behandeld.

Het neerslag werd afgefiltreerd en van dit filtraat werd wederom een bepaald gedeelte genomen en ingedampt. Hierbij bleek, dat de kreatinine niet geadsorbeerd wordt door het neerslag en dat de vloeistof aanmerkelijk minder gekleurd is.

Bij gewone spierbepalingen is de methode niet toegepast, maar wel later bij de veel sterker gekleurde extracten van de lever en andere organen.

Ook bij de bepaling der gladde spieren, waar, wegens het geringe gehalte aan kreatine, eene grootere hoeveelheid spier gebruik werd, bleek de methode van nut.

Hier volgen enkele bepalingen.

De cijfers geven aan het aantal milligrammen kreatine (als kreatinine uitgedrukt) op 100 gram spier.

	niet behandeld met colloïdaal ijzer.	wel behandeld met colloïdaal ijzer.
spier (hond)	326,4 mgr.	322,2 mgr.
spier (konijn)	451 "	450 "
spier (konijn)	452 "	459 "
hartspier (hond)	215,9 "	221,2 "

Om eene volledige praecipitatie te krijgen werd meestal een weinig magnesiumsulfaat toegevoegd.

De hoeveelheid gebruikt colloïdaal ijzer bedroeg ongeveer 1 c.c.m. per gram spier. Werde dus, zooals gewoonlijk, ± 10 gr. spier gebruikt, dan werd 10 c.c.m. colloïdaal ijzer gebruikt.

Voor bepalingen der organen bleek het opkoken met 1 % zoutzuur niet bruikbaar, daar dan steeds een veel te donkere kleur ontstond, die ook met colloïdaal ijzer niet te klaren was.

De spier werd nu gebruikt om te zien of op andere wijze, nl. door herhaald fijnwrijven en uitpersen, eene voldoende hoeveelheid kreatine werd vrijgemaakt.

De spier werd gekookt en de vloeistof afgeschonken. De gekookte spiermassa werd nu met gezuiverd zand en infusoriënaarde in een mortier met zwaren stamper grondig fijngewreven en daarna gedurende enkele uren in water uitgetrokken, daarna door een vruchtenpers uitgeperst.

Dit fijnwrijven en uitpersen werd driemaal herhaald en zoodoende werd minstens 12 uur met water uitgetrokken.

De drie porties extract werden met de oorspronkelijke vloeistof op een bepaald volumen gebracht, daarna gekookt, geneutraliseerd en gefiltreerd.

Een afgemeten deel van het filtraat werd dan ingedampt en voor de bepaling gebruikt.

Het bleek dat bij de spieren nooit de geheele hoeveelheid kreatinine werd gevonden.

Spier met zoutzuur gekookt.	Spier driemaal uitgeperst.
391 milligr.	374 milligr.
479 " "	464 " "
417 " "	382 " "
440 " "	401 " "

Hoewel dus nooit zooveel gevonden werd als na koken met zoutzuur, zijn de verschillen toch zoo gering, dat de methode toch bruikbaar scheen bij het bepalen van het kreatine-gehalte der organen. De gevonden waarden zijn dus steeds iets te laag te noemen.

De uitgeperste, door koken, neutraliseeren en filtrereen nagenoeg van eiwit bevrijde vloeistof werd nu behandeld met colloïdaal ijzer en gefiltreerd door een

zuigfilter van fijngewreven filtreerpapier en een afgemeten deel van het filtraat werd verder gebruikt.

Alle bepalingen hebben dus betrekking op het totaal van kreatine en kreatinine samen, uitgedrukt als kreatinine.

Samenvattend waren dus de gebruikte methoden:

voor willekeurige spieren:

5 uur koken met 1 % HCl.;

voor gladde spieren:

5 uur koken met 1 % HCl, en later, zoo noodig, behandelen met colloïdaal ijzer;

voor andere organen:

driemaal uitpersen en uittrekken en later, zoo noodig, behandelen met colloïdaal ijzer.

Het bloed (meestal een liter) werd door kloppen direct gedefibrineerd, daarna met de dubbele hoeveelheid kokend water gemengd, en door toevoegen van zoutzuur zwak zuur gemaakt, een kwartier gekookt en door een zeef gegoten.

Daarna werd 10 c.c.m. basisch loodacetaat toegevoegd en nu door een zuigfilter van fijngewreven filtreerpapier gefiltreerd. Daarna werd de vloeistof met zwavelwaterstof verzadigd, afgefiltreerd en ingedampt.

Met de beschreven methoden werden dus nu allereerst de verschillende organen onderzocht.

De organen werden op het slachthuis direct na het slachten, op het laboratorium aldaar in stukjes gesneden, gewogen en bij zwakzure reactie opgekookt, om alle enzym- en bacteriewerking te vermijden.

Daar steeds een vrij groote hoeveelheid van het

orgaan noodig bleek te zijn om voor de bepaling op 500 c.c.m. te kunnen verdunnen, werden meestal organen van het rund gebruikt. Indien een andere hoeveelheid dan 100 gram orgaan gebruikt werd, is dit in de tabellen vermeld.

De hier volgende tabellen geven de hoeveelheid kreatinine plus kreatine als kreatinine uitgedrukt aan.

L E V E R.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr.	Aantal mgr. per 100 gr. orgaan.
rund	100 gram		26,4 mgr.
	"		26,9 "
	"		27,8 "
	"		24,9 "
	"		36,05 "
	"		25,5 "
	"		37,24 "
	"		28,22 "
	"		34,86 "
	"		25,33 "
kalf	"		26,54 "
foetus (9 maand.)	360 gram	44,46 mgr.	12,35 "
(8 ")	345 "	38,29 "	11,1 "
(8 $\frac{1}{2}$ ")			11,84 "
(6 ")	181 "	19,005 "	10,5 "
(5 ")	80 "	8,69 "	10,87 "
(5 $\frac{1}{2}$ ")	74 "	8,806 "	11,9 "
(4 ")	25 "	$\pm 1,625$ "	$\pm 6,5$ "
konijn			21,2 "
			18,9 "
varken			16,86 "
			15,72 "
			16,8 "
			17,46 "
kat (4 maand.)	42 gram	8,652 mgr.	20,6 "
geit (pasgeboren)	61,1 "	7,332 "	11,2 "

NIER.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine.	Aantal mgr. kreatinine per 100 gr. orgaan.
rund	100 gr.		17,6 mgr.
	"		15,8 "
	"		12,404 "
	"		12,26 "
	"		15,69 "
	"		15,4 "
hond	100 gr.		16,34 "
	68 "	6,99 mgr.	10,28 "
	100 "		14,2 "
varken	100 gr.		15,2 "

MILT.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine.	Aantal mgr. kreatinine per 100 gr. orgaan.
rund	100 gr.		14,67 mgr.
hond	39,7 "	6,23 mgr.	15,77 "
	40 "	5,3 "	13,28 "
	41 "	7,99 "	19,5 "
	29 "	5,18 "	17,88 "
	46 "	7,268 "	15,8 "
	36 "	6,18 "	16,9 "

PANCREAS.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine	Aantal mgr. kreatinine per 100 gr. orgaan.
Rund	100 gram		12.507 mgr.
	"		12.79 "
	"		13.67 "
	"		19.62 "
	"		14.57 "
	"		13.67 "
	"		13.5 "
Hond	35 gram	5,64 mgr.	16.13 "
	43 "	5,55 "	12.9 "
	30 "	4,31 "	14.36 "
Varken	100 "		10.69 "
	100 "		14.2 "

	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine.	Aantal mgr. kreatinine per 100 gr. orgaan.
Glandula thyreoidea (rund)	52 gr.	6.428 mgr.	11.4 mgr.
Thymus (kalf)	100 "		9.76 "
Testis (stier)	50 "	48.6 "	97.2 "
	25 "	19.1 "	76.4 "

HERSENEN.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine.	Aantal mgr. kreatinine p. 100 gr. orgaan.
Rund	100 gram		51,4 mgr.
	100 "		54,6 "
	50 "	25,7 mgr.	51,4 "
	75 "	42,9 "	58,2 "
	30 "	18,9 "	63 "
	25 "	23,88 "	59,7 "
Witte stof	100 "		56,2 "
	50 "	23,95 "	47,9 "
Kleine hersenen	30 "	21,39 "	71,3 "
	30 "	20,76 "	69,2 "
	30 "	19,26 "	64,2 "
Hond	80 "	46 "	57,5 "
	75 "	40,86 "	54,6 "
Foetus (rund)	100 "		56,3 "
	7 maand. 32 "	10,49 "	32,8 "

Hierbij werd een betrekkelijk hoog gehalte van de hersenen aan kreatinine gevonden. Daar het niet absoluut zeker was, of ook nog niet andere stoffen in de hersenen de reactie van Jaffé konden geven, scheen het niet overbodig hier de kreatinine ook nog als kreatinine-chloorzink aan te toonen.

Hiertoe werd op de gewone wijze een waterig extract van de hersenen gemaakt en dit met de dubbele hoeveelheid zoutzuur in de autoclaaf verhit. De vloeistof werd daarna geneutraliseerd en uitgedampt tot een klein volumen: ± 10 c.c.m. Hieraan werd ± 50 c.c.m. absolute alcohol toegevoegd, waarbij een vlokkig prae-

cipitaat ontstond. Dit mengsel werd een dag in een fleschje bewaard en daarna afgefiltreerd. Het filter werd uitgewasschen met sterken alcohol en bleek geen noemenswaardige hoeveelheid kreatinine te bevatten.

Het filtraat werd nu tot bijna droog uitgedampt en wederom met absoluten alcohol vermengd en na een dag afgefiltreerd. Nadat dit nogmaals herhaald was, bleek er bij toevoegen van alcohol geen praecipitaat meer te ontstaan.

Daarna werden enkele druppels alcoholische chloorzink-oplossing toegevoegd. Na enkele dagen werd het praecipitaat, daar er behalve kreatinine-choorzink ook veel amorph praecipitaat zich gevormd had, nogmaals in weinig water opgelost, afgefiltreerd en met absoluten alcohol en enkele druppels chloorzink-oplossing vermengd. Er bleek zich nu na enkele dagen uit 300 gram hersenen een rijkelijk praecipitaat van kreatinine-cloorzink gevormd te hebben, zoodat wij wel mogen aannemen, dat de reactie, die als grondslag dient voor de bepaling volgens Folin ook in dit geval door kreatinine wordt veroorzaakt.

UTERUSSPIER.

De uterus werd zorgvuldig van mucosa en peritoneum ontdaan en steeds werd ongeveer 30 gram spier voor de bepaling gebruikt.

Diersoort.	hoeveelheid kreatinine op 100 gr. spier.
Rund	37,2 mgr.
	29,9 "
	40,5 "
	40,3 "
	43 "
	38,2 "
Varken	31,2 "
	29,9 "

DARMSPIER.

De darm werd door schrapen met een glasscherf van mucosa ontdaan.

Diersoort.	Hoeveelheid orgaan.	Aantal mgr. kreatinine.	Aantal mgr. kreatinine op 100 gr. orgaan.
Konijn:			
dikke darm	14 gr.	4,55 mgr.	32,5 mgr.
dunne darm	33 „	7,722 „	23,4 „

HARTSPIER.

Bij de hartspier en de willekeurige spier werd steeds ongeveer 10 gram spier voor de bepaling gebruikt.

Diersoort.	Hoeveelheid kreatinine op 100 gram spier.
Rund	220 mgr.
	207 „
	218 „
Hond	245,9 „
	221 „
	247,6 „
	257,4 „
Geit (pasgeboren)	201 „

Foetus rund, leeftijd.	Hoeveelheid spier van 't hart.	Hoeveelheid kreatinine.	Hoeveelheid kreatinine op 100 gram spier.
6 maanden	26 gr.	12,22 mgr.	47 mgr.
	15 „	5,415 „	36,1 „
	8 „	± 2,16 „	± 27 „

Willekeurige spier.

Hoewel reeds zeer veel waarnemingen over het kreatine-gehalte van de willekeurige spier bij verschillende dieren gedaan zijn, heb ik toch enkele bepalingen hiervan verricht. Ik geef mijne uitkomsten met die van anderen in de hier volgende tabel.

Diersoort.	Aantal bepalingen.	Maximum.	Minimum.	Gemiddeld aantal mgr. kreatine op 100 gr. spier.	
Rund				379.3	van Hoogenhuyze en Verploegh.
"				321.9	Cabella.
"				410	Grindley en Woods.
"	20	457	363	403	eigen waarneming.
Hond				229.8	Cabella.
"	6	330.4	296.6	314.6	eigen waarneming.
Varken				355	van Hoogenhuyze en Verploegh.
"	3	354	314	338	eigen waarneming.
Konijn witte spier				366.8	Cabella
"				448	Pekelharing en v. Hoogenhuyze.
"	4	473	426	451	eigen waarneming.
Roode spier				292.5	Pekelharing en v. Hoogenhuyze.
"	2	330	322	326	eigen waarneming.
Kat				373.8	Pekelharing en v. Hoogenhuyze
Jonge kat				354	eigen waarneming.
Geit (pasgeboren)				316	eigen waarneming.
Paard				336	van Hoogenhuyze en Verploegh.
Schaap				355	van Hoogenhuyze en Verploegh.

BLOED.

			Per 100 c.c.m. bloed.
Rund	1000 c.c.m.	23,6 mgr.	2,36 mgr.
	" "		2,265 "
	" "		1,99 "
	" "		2,12 "
	" "		1,93 "
	" "		1,91 "
	" "		2,68 "
Hond	400 "	8,56 mgr.	2,14 "
	1000 "	18,6 "	1,86 "
	500 "	11,2 "	2,24 "
	500 "	12,2 "	2,44 "
Varken	1000 "		2,08 "
			2,00 "

Uit de medegedeelde waarnemingen blijkt dus, dat in alle onderzochte organen belangrijk meer kreatine voorkomt dan in het bloed.

Om het overzicht gemakkelijk te maken, laat ik hier een opgaaf volgen van het aantal milligrammen kreatine (als kreatinine opgegeven), dat in de verschillende organen en in het bloed bij verschillende diersoorten op 100 gram versche stof gemiddeld werd gevonden.

Orgaan	Diersoort	Maximum	Minimum	Gemiddeld	Aantal bepalingen
Willekeurige spier	rund	457 mgr.	363 mgr.	403 mgr.	20
	konijn	473 "	426 "	451 "	4
	varken	354 "	314 "	338 "	3
	hond	330 "	296 "	314 "	6
Hartspier	rund	220 mgr.	207 mgr.	215 mgr.	3
	hond	257 "	221 "	243 "	4
Uterusspier	rund	43 mgr.	29.9 mgr.	38.18 mgr.	6
	varken	31.2 "	29.9 "	30.05 "	2
Dikke darmspier	konijn			32.5 mgr.	1
	Dunne "			23.4 "	1
Testis	rund	97.2 mgr.	76.4 mgr.	86.8 mgr.	2
Hersenen	rund	63 mgr.	51.4 mgr.	56.4 mgr.	6
	hond	57.5 "	54.6 "	56.1 "	3
Kleine hersenen	rund	71.3 "	69.2 "	40.25 "	3
Lever	rund	37.24 mgr.	24.9 mgr.	29.32 mgr.	10
	konijn	21.2 "	18.9 "	20.05 "	2
	varken	17.46 "	15.72 "	16.71 "	4
Nier	rund	17.6 mgr.	12.26 mgr.	15.91 mgr.	6
	hond	16.34 "	10.28 "	13.61 "	3
	varken			15.2 "	1
Pancreas	rund	19.62 mgr.	12.504 mgr.	14.34 mgr.	7
	varken	14.2 "	10.69 "	12.445 "	2
	hond	16.13 "	12.9 "	14.46 "	3
Milt	rund			14.67 mgr.	1
	hond	19.5 mgr.	13.28 mgr.	16.52 "	6
Gl. thyreoïdea.				11.4 mgr.	1
Gl. thymus.				9.76 mgr.	1
Bloed	rund	2.68 mgr.	1.91 mgr.	2.179 mgr.	7
	hond	2.44 "	1.86 "	2.17 "	4
	varken	2.08 "	2.00 "	2.04 "	2

Verreweg het grootste deel van de in het lichaam aanwezige kreatine, wordt dus in de willekeurige spieren gevonden. Alle andere organen hebben niet alleen een geringer gehalte aan kreatine, maar maken ook een veel kleiner deel van het lichaamsgewicht uit.

Opmerkelijk is het betrekkelijk hooge gehalte aan kreatine van de hersenen. Misschien mag dit in verband worden gebracht met een onlangs door *Abderhalden* en *Weil*¹⁾ medegedeelde bevinding. Deze vonden, dat bij hydrolyse der hersenen, daaruit vrij veel arginine vrijkomt (op 100 gram hersenen 0,13 gram arginine in de witte stof en 0,38 gram in de grijze stof).

Daar nu door het onderzoek van *Inouye*²⁾ bewezen is, dat arginine omgezet kan worden tot kreatine, is het mogelijk, dat ook in de hersenen de daarin aanwezige kreatine uit arginine ontstaat.

Zooals ik vroeger reeds heb opgemerkt, is er geen reden om aan te nemen, dat er organen zijn, die door het bloed aangevoerde kreatine opstapelen. Men moet dus aannemen, dat allerwege in het lichaam kreatine als stofwisselingsprodukt van eiwit wordt gevormd.

De omvang dier vorming in een of ander orgaan kan echter niet onmiddellijk uit den rijkdom van dat orgaan aan kreatine worden afgeleid. Want het gehalte hangt niet enkel van de productie af, maar ook van de snelheid waarmede de kreatine aan het bloed afgestaan, of ook in het orgaan zelf verder ontleed wordt.

Zooals *Urano*³⁾ aantoonde, geven ongedeerde levende spieren slechts zeer langzaam kreatine aan de vloeistof, waardoor zij omspoeld worden, af. Of andere

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. LXXXI.

²⁾ ibidem, Bd. LXXXI, S. 71.

³⁾ Hofmeister's Beiträge, Bd. IX, S. 104.

organen zich in dit opzicht op dezelfde wijze gedragen, is geheel onbekend.

Bij het onderzoek van de lever bleek verder, dat in de embryonale lever het gehalte aan kreatine geringer is dan bij het volwassen dier, wat eveneens bij het onderzoek van de hersenen bleek.

Over de embryonale spieren heeft Mellanby¹⁾ onderzoekingen gedaan.

Deze geeft van het konijn op verschillende leeftijden de volgende tabel.

7 dagen oud,	191 mgr. kreatinine op 100 gr. spier.
9 " "	228 " " " "
12 " "	283 " " " "
19 " "	316 " " " "
25 " "	300 " " " "
39 " "	390 " " " "
46 " "	373 " " " "
jong konijn	435 " " " "

Bij kippeneieren vond hij:

12 ^{de} dag	spoor kreatinine.
14 ^{de} "	3,8 mgr. "
16 ^{de} "	6,6 " "
17 ^{de} "	11,8 " "
18 ^{de} "	13 " "
1 dag na het uitbroeden	23 " "

Daarbij merkt Mellanby op, dat de vorming van kreatine in de spier onafhankelijk is van den groei van dat orgaan. Hij vond direct na het uitbroeden eene sterke vermeerdering van kreatine.

¹⁾ Journ. of Physiol., Vol. XXXVI, p. 447.

Letten op het gewicht van de lever merkte hij op, dat gedurende de incubatieperiode de ontwikkeling van de lever synchroon is met die van de spier (op het lichaamsgewicht berekend).

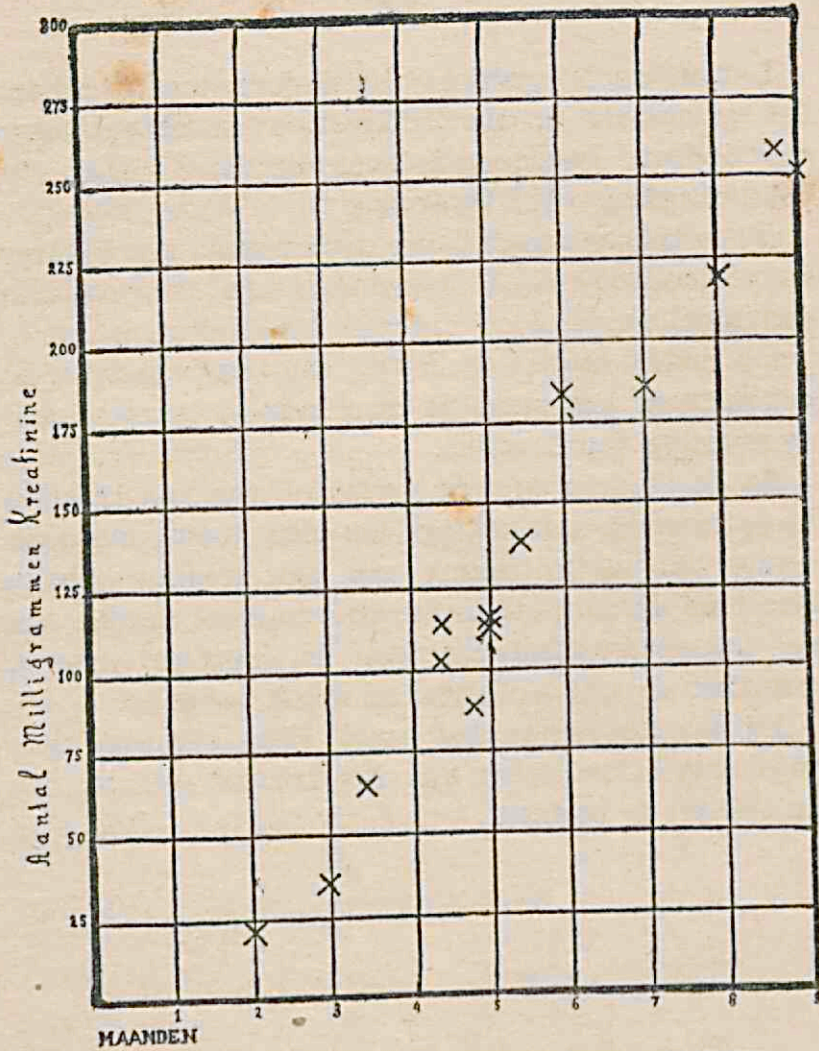
Na de geboorte zag hij een snellen groei van de lever en tevens eene snelle toeneming van de productie van kreatine.

Hij maakt daaruit op, dat dit een bewijs te meer is, dat de lever aansprakelijk moet gesteld worden voor de vorming van kreatine.

Na de proeven over de vermeerdering van kreatine in de spier bij versterking van den tonus, meen ik eerder, dat de toeneming van het kreatine-gehalte direct na de geboorte toegeschreven moet worden aan de tonus-vermeerdering van de jeugdige spieren, waardoor de spierstofwisseling wordt aangezet.

Bij den foetus van het rund blijkt eveneens eene regelmatige toeneming van het kreatine-gehalte van de spieren te bestaan.

FIG. I



Leeftijd van den foetus.	Aantal mgr. kreatinine op 100 gr. spier.
2 maanden	22 mgr.
3	36,6 "
3 1/2 "	64,7 "
4 1/2 "	114 "
4 3/4 "	105,02 "
5 "	88,9 "
5 1/2 "	116 "
6 "	112,8 "
6 1/2 "	138 "
7 "	184,9 "
7 1/2 "	185,7 "
8 "	219 "
8 3/4 "	258 "
9 "	250,4 "

Bij een kalf van 5 dagen is het kreatine-gehalte veel hooger, n.l. 392 mgr.

Mendel en Leavenworth ¹⁾, die het kreatine-gehalte van de spieren van embryo's van varkens onderzochten, vonden daarin eveneens een zeer gering kreatine-gehalte. Zij wezen erop, dat het watergehalte van weefsels van embryo's hooger is, dan van volwassenen, doch dat het verschil niet zoo groot is, dat het de groote verschillen in het kreatine-gehalte zou kunnen verklaren.

Ook in de hartspier van den foetus van het rund is het gehalte aan kreatine lager dan van het volwassen rund.

De uterusspier scheen eene geschikte spier om tijdens haar physiologische hypertrophie gedurende de graviditeit waar te nemen. Daar het aantal menschelijke uteri, (4) waarover ik kon beschikken, te gering was, zijn hiervoor uteri van het rund gebruikt.

De uterusspier van het rund ²⁾ bestaat uit een tegen het peritoneum aan gelegen longitudinale spierlaag, daarnaast een laag van circulaire vezels, rijk aan bloedvaten en daarnaast een dikkere circulaire laag.

De uterus van het rund ³⁾ is een uterus bipartitus s. divisus, uiterlijk gelijkend op een uterus bicornis met betrekkelijk lang corpus en korte hoornen, inwendig is er een slechts schijnbaar septum tot het ostium internum. De scheiding in het corpus is slechts schijnbaar, doordat de twee hoornen zich tegen elkaar aanleggen. Het corpus groeit in de graviditeit weinig. De foetus ligt in één hoorn (meest rechts), maar de eizak reikt door het corpus min of meer ver in den anderen hoorn, die dus op deze plaats eveneens groeit en zich vergroot,

¹⁾ American Journ. of Physiol., Vol. XXI, p. 100.

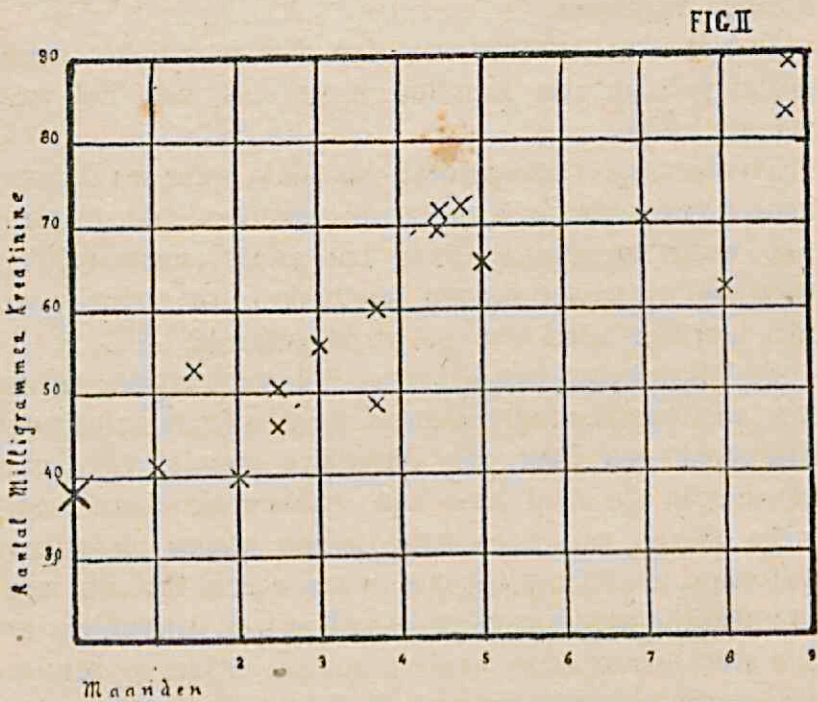
²⁾ Grundriss der vergleichenden Histologie der Haussauge-tieren, Ellenberg en Gunther, S. 192.

³⁾ Handbuch der vergleichenden Anatomie der Hausthiere, Ellenberg und Baum, S. 554 en 576.

zoodat het vrijblijvende deel van dezen hoorn als een klein aanhangsel aan den uterus zich voordoet.

Voor het gemiddelde cijfer van een niet graviden uterus is gevonden per 100 gram spier 38.18 mgr. kreatinine.

De onderstaande tabel geeft de hoeveelheid kreatinine op 100 gram spier aan in verschillende tijdperken der zwangerschap.



Duur der graviditeit.	Gravide hoorn.	Niet gravide hoorn.
1 maanden	40,8 mgr.	37,2 mgr.
1 ¹ / ₂ "	52,4 "	37,1 "
2 "	39,8 "	
2 ¹ / ₂ "	50,2 "	47,9 "
2 ¹ / ₂ "	45,8 "	
3 "	56 "	52,6 "
3 ³ / ₄ "	47,8 "	46,18 "
3 ³ / ₄ "	60 "	52,8 "
4 ¹ / ₂ "	72 "	54,9 "
	69,1 "	66,53 "
4 ³ / ₄ "	72,5 "	72 "
5 "	65 "	
7 "	70,3 "	
8 "	62,4 "	57,9 "
8 ³ / ₄ "	89,9 "	59,8 "
8 ³ / ₄ "	84,1 "	60,2 "

Wij zien dus, dat in den loop der graviditeit het kreatine-gehalte hooger gevonden wordt dan buiten de graviditeit. Tevens werd in den niet graviden hoorn over het algemeen minder kreatine gevonden dan in den graviden hoorn.

Het gelukte mij niet een verschen uterus te krijgen direct na de baring. Wel onderzocht ik een uterus, twee dagen na den dood van het rund, waar het dier aan uterusruptuur en verbloeding gestorven was. Hoewel dus deze spier niet versch was, bleek er per 100 gram spier 73 mgr. kreatine aanwezig te zijn.

Het is dus wel zeker, dat aan het eind van de graviditeit eene groote hoeveelheid kreatine in de uterus-spier aanwezig is, die tijdens de involutie van den uterus afgegeven zal worden.

Om eenigszins een indruk te krijgen van de hoeveelheid kreatine, die door de uterus-spier van den mensch in het puerperium wordt afgegeven, kan de volgende waarneming dienst doen.

Een niet gravide uterus, die weggenomen was wegens carcinoma cervicis, bleek per 100 gram uterus-spier 44,6 mgr. kreatinine te bevatten (cervix en carcinoom waren verwijderd).

Een gravide uterus à terme, weggenomen vóór het begin der weeën, wegens uitgebreid sarcoom van het rectum, leverde op 100 gram spier 76,6 mgr. kreatinine; dus schijnt ook bij den mensch gedurende de graviditeit meer kreatine in de spier opgehoopt te blijven.

Verder werd nog onderzocht een uterus van eene vrouw, die aan verbloeding na uterusruptuur overleden is. Deze uterus werd echter pas 24 uur post mortem onderzocht. Hierin was per 100 gram spier 44,1 mgr. kreatinine aanwezig. In den uterus van eene aan eclampsie overleden vrouw (36 uur post partum ge-

storven), 12 uur post mortem onderzocht, werd op 100 gram spier 46,8 mgr. kreatinine gevonden.

Willen wij nu een indruk krijgen, hoeveel kreatine er in de eerste dagen na de baring door de uterus-spier wordt afgegeven, dan kunnen wij daartoe het verschil nemen van de hoeveelheden kreatinine in een graviden en in een niet graviden uterus aanwezig.

De door mij onderzochte gravide uterus woog zonder cervicaal gedeelte en zonder adnexa 880 gram.

100 gram spier bevatten 76,6 mgr. kreatinine. De geheele uterus bevatte dus $88 \times 76,6$ mgr. kreatinine = 674,08 mgr. kreatinine. Als kreatine omgerekend is dit dus $1,16 \times 674,08$ mgr. = 781,9 mgr. kreatine.

Bij een niet graviden uterus vond ik op 100 gram spier 44,6 mgr. kreatine.

Het gewicht van den niet graviden uterus is hoogstens 100 gr., bevattend dus 44,6 mgr. kreatinine, dus $44,6 \times 1,16$ mgr. = 51,9 mgr. kreatine.

Het is dus wel waarschijnlijk, dat de uterus-spier de eerste dagen na de baring \pm 730 mgr. kreatine afgeeft.

Steeds is de eerste dagen post partum een vermeerdering van de hoeveelheid kreatine in de urine gevonden, vooral den derden en den zevenden dag (Heynemann)¹⁾.

Wakulenko²⁾ berekende, dat in de laatste dagen der graviditeit gemiddeld 0,17 gram kreatine wordt afgescheiden en als gemiddelde van de eerste vier dagen post partum berekende hij 0,42 gram, dus eene toename van gemiddeld 0,25 gram per dag.

Wij hebben nu gezien, dat de uterus-spier ongeveer 0,730 gram kreatine verliest, zoodat wij deze zeker

¹⁾ Zeitschr. f. Geburtshülfe u. Gynaec., Bd. LXXI, S. 110.

²⁾ Archiv. f. Gynaec., Bd. XCVIII, S. 474.

aansprakelijk mogen stellen voor een deel van de in het puerperium in de urine verschijnende kreatine.

Wakulenko vond ook het kreatinine-gehalte van de urine in het puerperium verhoogd (bij vrouwen gemiddeld 0,012 gr. per kilogram lichaamsgewicht, in het puerperium toenemend tot 0,018 gr. per kilogram lichaamsgewicht).

Zoals boven is besproken, hebben verscheidene waarnemingen het waarschijnlijk gemaakt, dat bij de omzetting van kreatine tot kreatinine de lever een belangrijke rol speelt.

Ofschoon op grond van de bovenaangehaalde proeven van Gottlieb en Stangassinger en van Inouye de vorming van kreatine in de lever als bewezen kan worden aangenomen, bestaat er toch nog twijfel omtrent de vraag of het proefondervindelijk bewijs dat de lever ook in staat is kreatine in kreatinine om te zetten, reeds afdoende is geleverd.

Zoals Mellanby heeft opgemerkt, is het zeer wel mogelijk, dat in een decoct van bloed of van een of ander orgaan gevonden kreatinine niet reeds van te voren daarin aanwezig was, maar bij het langdurig indampen, zij het ook bij zeer zwak zure reactie, uit kreatine is ontstaan.

Ik heb daarom ook hieromtrent eenige proeven genomen. Tevens werd daarbij nagegaan, of ontleding van kreatine door de lever bij autolyse ook dan kon worden aangetoond, wanneer de werking van bacteriën zoo zorgvuldig mogelijk werd uitgesloten.

Het staat zeker vast, dat door bacteriewerking kreatine en kreatinine vernietigd kunnen worden. Ook in mijne proeven is het wel een enkelen keer gebeurd, dat een leverextract, dat reeds opgekookt was geweest, dus zeker niet sterk door bacteriën verontreinigd was, een dag over bleef staan. Hierin was dan, hoewel

natuurlijk na het koken geen sprake kon zijn van enzymwerking, het kreatine-gehalte veel geringer en zonder dat nog duidelijke teekenen van rotting werden waargenomen, was soms alle kreatine verdwenen.

Wanneer er rottingslucht te bespeuren was, werd er nooit kreatine gevonden.

Ik meen dus ook, dat, zooals trouwens Voit¹⁾ al aangaf, bacteriën zeer spoedig eene vernietiging kunnen teweegbrengen.

Het blijkt nu zeker moeilijk om deze proeven absoluut steriel uit te voeren en het toevoegen van toluol geeft bij een eenmaal geïnfecteerde vloeistof geen steriliteit.

Om dus eenige zekerheid te hebben, dat de vloeistof steriel blijft, moet ook het uitnemen van de lever en het fijnhakken steriel geschieden.

Daarom werden vooraf alle voorwerpen, waarmede de lever in aanraking zou worden gebracht: het hakbord, de mortier en de te gebruiken schalen, kolfjes en instrumenten, gesteriliseerd door een kwartier te koken in een sterilisatiepan.

Het dier werd daarna gedood, de buik geschoren en met jodiumtinctuur ingewreven. Na het aantrekken van steriele gummi handschoenen werd de buik geopend, met steriel gaas afgedekt en de lever uitgenomen. Deze werd daarna op het hakbord fijngehakt, in den mortier met steriel zand onder toevoegen van een weinig toluol fijngewreven en met 0,9 % NaCl gemengd gedurende enkele uren op kamertemperatuur bewaard.

Deze massa werd daarna door steriel gaas gefiltreerd en aan het troebele filtraat werd kreatine toegevoegd.

Nadat de kreatine was opgelost, werd flink omgeschud en met een steriele pipet 10 c.c.m. genomen om als uitgangsbepaling te dienen. Elken dag werd op die wijze 10 c.c.m. van de vloeistof afgenomen.

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. IV.

De vloeistof werd daarna op 37° C. geplaatst. De 10 c.c.m. werden met 20 c.c.m. normaal zoutzuur verhit en daarna de bepaling volgens Folin verricht.

Per gram lever werd ongeveer 1 c.c.m. extract gemaakt. Behalve de laatste bepaling (No. VII), waarbij de lever van een hond gebruikt werd, werden levers van konijnen gebruikt. Het gewicht van deze levers varieerde van 87 tot 135 gram.

Na de eerste beide proeven werd in plaats van met keukenzout-oplossing de levermassa met gedistilleerd water vermengd, om rekening te houden met de mogelijkheid, dat een enzym, een „kreatinase” wellicht, bij sterke verlaging van de osmotische drukking beter uit de levercellen zou worden vrijgemaakt.

In de volgende tabel is opgegeven het aantal milligrammen kreatinine per 10 c.c.m. extract.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
direct bepaald	8,84	8,99	8,08	10,06	8,99	7,95	8,82
na 24 uur	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		8,18		8,95

Deze proeven dienden dus alleen om te zien of het totaal gehalte van kreatine plus kreatinine door enzymen uit de lever afneemt. Bij geen dezer proeven vertoonde zich een spoor van rotting. De vloeistof behield steeds de roodachtige kleur van het versche extract. Enkele proeven werden bacteriologisch onderzocht, doch bij geen enkele kwamen kolonies op.

Behalve in proef II zien wij niets van vernietiging van kreatine.

Hiertegenover staat een proef, waarbij de vloeistof een groenige tint aannam, zonder nog rottingslucht te vertoonen. Hierin was duidelijk eene sterke vermindering van kreatine, terwijl de direct bepaalde 10 c.c.m. 9,04 mgr. kreatinine bevatten, was na 24 uur slechts 6,78 mgr. aanwezig, waarna geen verdere bepalingen gedaan zijn.

Om na te gaan of in de lever, in zijn geheel gelaten, de daarin aanwezige kreatine verandering ondergaat, werd eene runderlever in drie deelen verdeeld. Van het eerste stuk werd direct het kreatine-gehalte bepaald, het tweede en derde stuk in Ringer's vloeistof gebracht met toluol en respectievelijk 3 uur en 7 uur op 37° C. geplaatst.

	I	II	III
direct bepaald	31,73 mgr.	30,59 mgr.	37,24 mgr.
na 3 uur	29,78 "	30,67 "	35,39 "
" 7 "	30,6 "	29,92 "	

Hierbij bleken dus geen buiten de bepalingfouten gaande veranderingen waar te nemen te zijn.

Met deze proeven heb ik dus geen omzetting van de aan een leverextract toegevoegde hoeveelheid kreatine kunnen waarnemen, evenmin verandering van de in de lever aanwezige kreatine.

Ik wil hiermede natuurlijk niet zeggen, dat in de lever geen verdere omzetting van kreatine plaats vindt, doch alleen, dat deze met de door mij gebruikte methoden niet is gevonden.

De op dit punt betrekking hebbende proeven van Gottlieb en Stangassinger, door Rothmann herhaald, heb ik niet kunnen bevestigen. Ook de cijfers, gevonden door van Hoogenhuyze en Verploegh, meen ik niet dat hunne proeven bevestigen kunnen.

Hoewel, daar hunne proeven niet precies op dezelfde wijze verricht zijn als de mijne, hunne proeven wel op een omzetting van kreatine kunnen wijzen, moet toch opgemerkt worden, dat Rothmann, die de proeven van Gottlieb en Stangassinger herhaalde onder meer voorzorgsmaatregelen van steriliteit, eene minder krachtige omzetting van kreatine waarnam, terwijl Mellanby vermeldt, dat hij zooveel mogelijk onder steriele omstandigheden werkend, geen verandering in de totale hoeveelheid kreatine en kreatinine heeft kunnen vinden.

De proeven van Gottlieb en Stangassinger over de omzetting van kreatine bij het doorbloeden van overlevende organen meen ik wel, dat overtuigend zijn, doch ik meen niet, dat zij bevestiging vinden in de tot nu toe verrichte proeven met extracten van organen.

Vervolgens is nagegaan, of in de lever naast kreatine ook kreatinine aanwezig is. Hiertoe werd steeds 200 gram gehakte lever voor de bepaling gebruikt.

Hierbij moest dus elk verhitten boven 37° C. vermeden worden en zeker het langdurig uitdampen van eene waterige oplossing. Dat daarbij omzetting tot kreatinine plaats heeft, is reeds door Nawrocki ¹⁾ opgemerkt en later door Mellanby e. a. bevestigd.

Er werd dus nu een alcoholisch extract van de

¹⁾ Zeitschr. f. Analyt. Chem., 1865.

lever van een rund gemaakt. Daar in de lever een groot percentage water aanwezig is en het langdurig indampen gevaar voor rotting zou geven, werd de gehakte lever eerst met watervrij natriumsulfaat fijn-gewreven en daarna pas met alcohol gemengd. Het alcoholisch extract werd ingedampt in het vacuum-toestel van Hladick op 37° C.

Het extract was na het indampen een strooperige, dikke massa.

Onlangs wezen Folin en Denis ¹⁾ er op, dat bij het niet vinden van kreatinine in bloed en weefsels, dit nog geen bewijs is, dat het er niet in aanwezig is, daar er stoffen zouden zijn, die de reactie belemmeren. Deze stoffen zouden oplosbaar zijn in chloroform en aether.

Zooals Folin en Denis aangaven, werd nu eerst het ingedampte alcoholische extract vermengd met 0.2 gram pikrinezuur, in methylalcohol opgelost, goed gemengd en tot bijna droog ingedampt. Deze ingedikte stof werd daarna met chloroform (met pikrinezuur verzadigd) uitgewasschen en ten slotte met zuivere chloroform. Hierbij bleek echter de taaie, lipoïde substantie niet voor voldoende uitwassching vatbaar te zijn, zoodat een eenigszins zuivere bepaling niet mogelijk was. Daarom werd de met natriumsulfaat gedroogde lever eerst een dag of drie herhaaldelijk met chloroform, daarna twee dagen met aether gemengd, hetwelk dagelijks afgefiltreerd werd door droog filtreerpapier en ververscht, om daarmede ten minste een deel van de hinderlijke lipoïde stoffen te verwijderen. Vervolgens werd met alcohol gemengd, hetwelk nog tweemaal ververscht werd en de drie porties werden ingedampt. Na het indampen bleef een veel minder omvangrijke

¹⁾ Journ. of Biol. Chem., Vol. XII. p. 141.

hoeveelheid over, die in 30 c.c.m. water werd opgelost. Bij deze oplossing, die nooit geheel helder was, werd dan de benodigde hoeveelheid 10 % natronloog en pikrinezuur toegevoegd.

Bij drie bepalingen bleek slechts een spoor van kreatinine aanwezig te zijn, (minder dan een milligram), in drie andere bepalingen was geen reactie.

Wij kunnen dus zeggen, dat in de lever vrijwel geen kreatinine aanwezig is. Wel werd kreatinine gevonden in eene nier welke op dezelfde wijze behandeld was. Hier werd in 200 gram rundernier \pm 6 mgr. kreatinine gevonden. Dit bewijst echter nog niet, dat ook in het nierweefsel zelf kreatinine aanwezig is, daar in urine van runderen kreatinine gevonden wordt. (Steeds vond ik ook bij runderen kreatine in de urine, \pm 7 % van de totale hoeveelheid kreatinine).

Wordt nu echter kreatinine in de lever gevormd?

Om deze vraag te beantwoorden, werd van een hond, direct na den dood de lever steriel uitgenomen, twee stukken van 200 gram er afgenomen, het eene stuk direct onderzocht en het andere in een bekerglas op 37° C. geplaatst.

Het bekerglas was tevoren door een kwartier koken gesteriliseerd en werd geplaatst in eene met glazen stop gesloten flesch, eveneens gesteriliseerd: op den bodem van deze flesch werd een weinig steriel water gebracht om de lever tegen uitdrogen te bewaren. De gesloten flesch werd nu gedurende 24 uur in een waterbad op 37° C. geplaatst.

Om zeker te zijn, dat de hond in digestie was, kreeg deze den vorigen middag het laatst voedsel en drie uur voor den dood een flinke portie vleesch en brood.

Het dier werd, na morphine-injectie, door verbloeding uit de arteria corotis gedood.

Bij de eerste twee proeven bleek na 24 uur in de

37° geplaatste portie respectievelijk 1.29 mgr. en 1.4 mgr. kreatinine aanwezig te zijn, terwijl in de direct onderzochte portie eenmaal niets en eenmaal een spoor kreatinine aanwezig was.

Bij deze beide proeven was echter na 24 uur eene beginnende rotting op te merken.

Daar het mogelijk was, dat door bacteriewerking kreatinine zou zijn ontstaan uit eiweitstoffen, zooals Fitzgerold en Schmidt¹⁾ aangeven, werd bij de volgende proeven het steriele bekerglas geplaatst in eene flesch, waar een weinig chloroform aan het op den bodem zich bevindende water was toegevoegd.

Bij deze proeven was van rotting niets te bespeuren, hoewel verzuimd is te trachten bacteriën te kweken.

Bij deze (4) proeven bleek ook steeds het stuk, dat 24 uur op 37° C. gestaan had, meer kreatinine te bevatten, dan het direct onderzochte stuk.

	direct onderzocht.	na 24 uur.
I	reactie zwak positief	± 1,3 mgr. kreatinine.
II	" negatief	reactie positief (minder dan 1 mgr.)
III	" positief.	± 2 mgr. kreatinine.
IV	" "	sterker positief (minder dan 1 mgr.)

Uit deze laatste proefreeks meen ik te mogen opmaken, dat in de lever kreatinine gevormd wordt, terwijl in de direct onderzochte lever geen of uiterst weinig kreatinine aanwezig is.

¹⁾ Proc. of the Soc. experim. Biology and Med., 18 Dec. 1912.

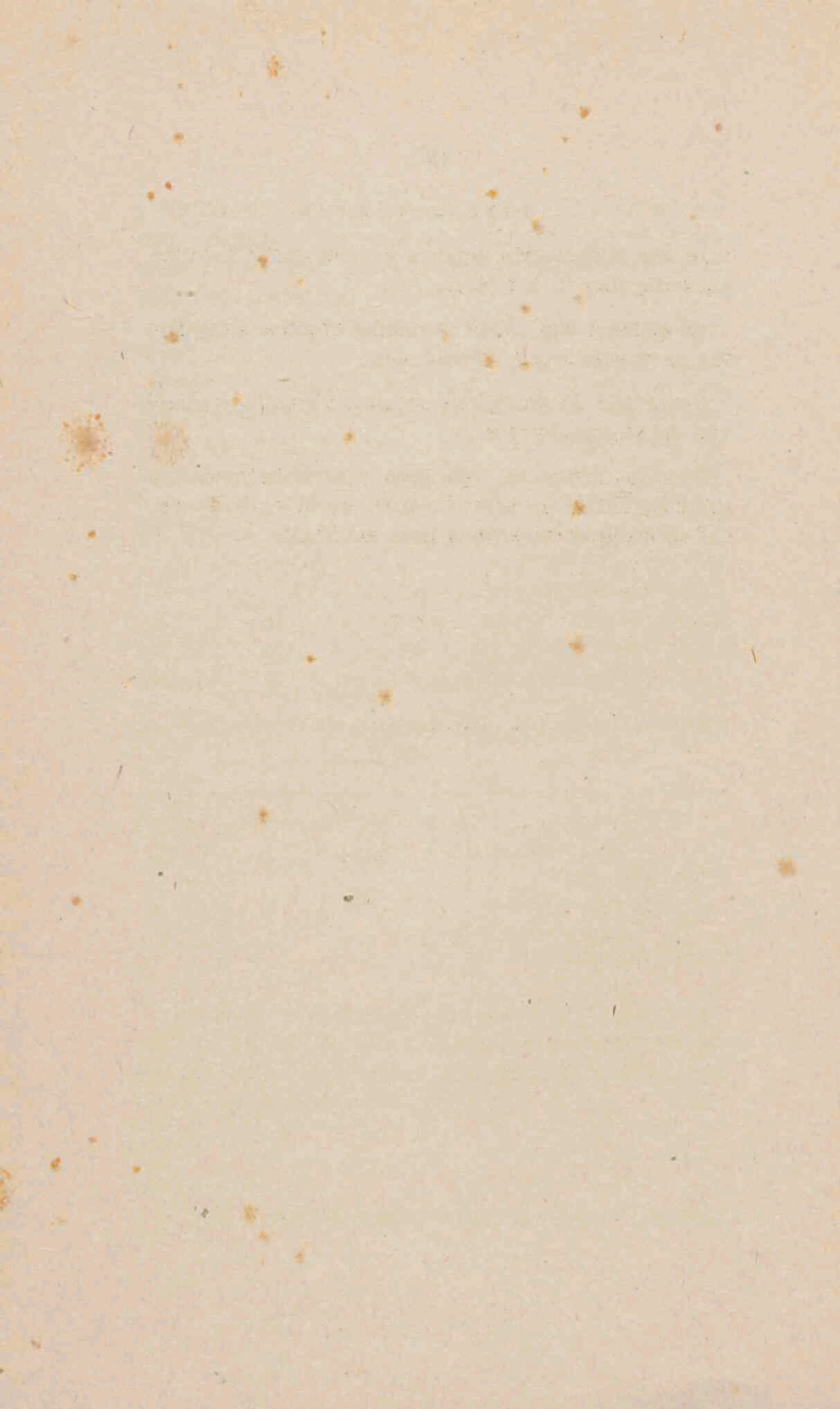
UITKOMSTEN.

In alle onderzochte organen is veel meer kreatine aanwezig dan in het bloed.

In weefsels van foetus is minder kreatine aanwezig dan in weefsels van volwassenen.

Gedurende de graviditeit neemt het kreatine-gehalte van de uterus spier toe.

Door dit onderzoek zijn geen verdere bewijzen bijgebracht, dat in de lever kreatine wordt ontleed, wel, dat in de lever kreatinine gevormd wordt.



STELLINGEN.

1. Eclampsie berust op eene vergiftiging met stofwisselingsproducten van eiwit.
2. Het gebruik van uit Argentinië ingevoerd vleesch moet worden bevorderd op plaatsen, waarheen het hygiënisch vervoerd en waar het hygiënisch bewaard kan worden.
3. Neurorecidieven berusten niet op de werking van salvarsan.
4. De door Rosenberg e. a. gevonden afwijkingen in den bouw van de menschelijke wervelkolom zijn op te vatten als onvolkomen ontwikkelings-toestanden.
5. De handgreep van Credé moet slechts dan toegepast worden, wanneer bloeding de indicatie is tot verwijdering van de placenta.
6. Het angioma placentae is geen echte tumor.
7. Het praematuur geboren kind is niet minderwaardig, mits onder goede omstandigheden opgevoed.
8. De onderzoekingen van O. Schultze bewijzen niet, dat de fibrillen van de spier direct in die van de pees overgaan.

9. Een vloeistof voor subcutane of intraveneuze infusie moet behalve NaCl ook CaCl_2 bevatten.
 10. Iedere rhythmische contractie van de willekeurige spieren wordt veroorzaakt door een synchrone rhythmische prikkeling van het centraal zenuwstelsel uit.
 11. Bij de behandeling van de chirurgische tuberculose dient, meer dan tot nu toe het geval was, van de lichtbehandeling gebruik gemaakt te worden.
 12. Bij niet aangeboren keratokonus is, met het oog op de toe te passen therapie, een onderzoek naar de functie van de glandula thyreoidea gewenscht.
 13. Het opereeren van eene zwangere, wanneer de operatie tot na de bevalling kan worden uitgesteld, is af te keuren.
 14. De hypothese, dat direct in den darmwand eiwit weer wordt opgebouwd, is niet juist.
 15. Het coma diabeticum berust op vergifting met β -oxyboterzuur.
 16. Op het herhaaldelijk vinden van eene bepaalde hoeveelheid maagsap in de nuchtere maag mag niet de diagnose gastrosuccorrhoea continua gesteld worden.
-



f4916

