

(Uit het *Physiologisch laboratorium der Universiteit van Amsterdam*).

PERIODICITEIT VAN FERMENTEN : DE MAAGLIPASE,

DOOR

Mej. E. SLUITER, arts, 1ste assistente voor chem. physiologie te Amsterdam.

Door ARRHENIUS is aangenomen, dat de werkzaamheid van een ferment buiten het lichaam bewaard, geleidelijk afneemt. Nu is echter bij onderzoekingen in dit laboratorium gebleken, dat dit niet het geval is, maar dat de zelfontleding schommelingen vertoont, die men met de naam „periodiciteit” bestempelt. Het eerst werd dit beschreven door mej. DE JONGE 1) van pancreaslipase, bewaard bij ijskasttemperatuur. Hierbij bleek tevens, dat de activeerbaarheid van het ferment in omgekeerden zin schommelde. TEMMINCK GROLL 2) vond een dergelijke periodiciteit van oplossingen van urease, het ureumsplitsende ferment, wanneer dit gedurende een maand of langer bij 35° tot 45° C. bewaard werd. Bij hogere temperatuur werden de schommelingen steeds minder. Later werd, onafhankelijk van TEMMINCK GROLL, periodiciteit van urease ook door WESTER 3) waargenomen. Mej. VAN BEUSICHEM 4) onderzocht de lipase, afkomstig van ricinusboontjes, bij kamertemperatuur en ook hier vertoonde de werking duidelijk het sinusoidale verloop. DE BRUYNE 5) ging de ptyalinewerking van het speeksel na op zijn amylumsplitsend vermogen. In tegenstelling met ARRHENIUS en TEMMINCK GROLL vond hij, dat de sterkte der fermentoplossing in het begin langzaam, daarna steeds sneller afneemt; de schommelingen waren veel minder duidelijk, dan die van urease of lipasen. Wanneer de werking echter van uur tot uur werd nagegaan, kwamen veel grootere verschillen voor den dag. Als verklaring van bovengenoemde verschijnselen neemt TEMMINCK GROLL aan, dat bij de zelfontleding twee verschijnselen zich tegelijkertijd voordoen, n.l. 1°. een irreversibele chemische ontleding, die geleidelijk verloopt (monomoleculair) en het beste bij hooge temperatuur te zien is, en 2°. een periodiek sterker en zwakker worden van het nog aanwezige enzym volgens een sinusoïde; dit verschijnsel is het duidelijkst te zien bij lagere temperatuur.

EULER 6) trachtte de proeven van TEMMINCK GROLL met urease

1) *Ned. Tijdschr. voor Geneesk.* 1915.

2) *Arch. Néerl. de Physiol.*, Tome I, 3e livraison.

3) *Chemisch Weekblad* 1919.

4) Ongepubliceerd.

5) *Ned. Tijdschr. voor Geneesk.* 1917.

6) *Biochem. Zeitschr.* 97, 1919.

over te doen, maar vond geen periodiciteit. Hij verkreeg slechts schommelingen in de werkzaamheid, die weliswaar niet onbelangrijk zijn, maar toch niet groter, dan de verschillen, die zich voordoen bij dubbelbepalingen en gemakkelijk door een geringe verandering in de temperatuur (bijv. van ongeveer 0.6°) veroorzaakt kunnen worden. Volgens TEMMINCK GROLL 1) zou dit negatieve resultaat van EULER toe te schrijven zijn aan het feit, dat EULER de urease-praeparaten niet, zooals TEMMINCK GROLL, voortdurend bij 35° , 45° enz. bewaarde, doch slechts gedurende korten tijd vóór het bepalen der activiteit en ze verder bij kamertemperatuur liet staan.

Nog een enkel woord over wat bij de bloedfermenten is opgemerkt. HEKMAN en VAN MEETEREN 2) gingen het glycolytisch vermogen van het bloed na bij gezonden en lijdens aan diabetes. Bij eenzelfde persoon, werd onder overeenkomstige omstandigheden de suikersplitsing onderzocht; als voorbeeld van 5 achtereenvolgende bepalingen uitgedrukt in $1/100 \text{ cm}^3$ van 0.01 N. jodium geven zij de volgende cijfers voor de bloedsuikerwaarden: 28—31—27.6—29.8—25.3; de suikersplitsing bedroeg 17.5—19—17.4—16.2—16. In vele gevallen, zoowel bij diabetes-lijdens als bij normale menschen, zagen zij de vertering plotseling zeer snel toenemen, geheel onevenredig aan den broedtijd. Na 6 uur bijv. was een hoeveelheid suiker gesplitst overeenkomende met 16 J. eenheden;

na 12 uur met	24
„ 18 „ „	25
„ 28 „ „	109

Dergelijke sprongen traden eerder op, wanneer de temperatuur van de broedstoof hooger was bijv. 41° C. Daar de proeven niet langer voortgezet werden, is niet bekend, of op deze stijging weer een daling volgde. WITTOP KONING 3) vond bij het bepalen van het suikersplitsend vermogen van het bloed bij broedstoof-temperatuur een min of meer snelle daling van het glucosegehalte van het bloed, dus een vermeerderde werking van het glycolytisch ferment. Daarna steeg het glucosegehalte weer. Eenige van zijn uitkomsten geef ik hier weer:

Versch bloed....	0.1307	Versch bloed....	0.074	0.108
Na 4 uur	0.069	Na 4 uur.....	0.037	0.026
„ $8\frac{1}{2}$ „	0.041	„ 9 „	0.026	0.016
„ 24 „	0.035	„ 24 „	0.046	0.035
„ 36 „	0.067			
„ 48 „	0.146			

Ook hier werden de proeven echter niet langer dan 48 uur gedaan, zoodat van een regelmatig voortgezette schommeling niets bekend is. Hierover worden op het oogenblik proeven genomen

1) *Pharmac. Weekblad* 1919.

2) *Ned. Tijdschr. voor Geneesk.* 1918.

3) *Ned. Tijdschr. voor Geneesk.* 1921.

in het physiologische laboratorium te Amsterdam. WITTOP KONING neemt aan een gelijktijdig plaats vinden van 2 processen nl. ontleding van de aanwezige glucose met daarnaast de vorming van een koper reduceerende stof. Deze 2 processen kunnen tegelijk beginnen en het ontledingsproces het eerst eindigen, of er wordt een andere stof gevormd, die wel koper reduceert maar niet omgezet wordt door het suikersplitsend ferment.

Eigen onderzoek.

Daar het van veel belang blijft te onderzoeken, of alle fermenten de eigenschap bezitten in werkzaamheid toe- en weer af te nemen, waardoor verschillende tot nu toe onbegrepen onregelmatigheden verklaard zouden kunnen worden, heb ik het gedrag nagegaan van de maaglipase.

Een fermentoplossing werd verkregen door het slijmvlies van een kalfs- of varkensmaag fijn te malen en met water uit te trekken. De praeparaten werden in de ijskast bewaard. Om nu het splitsende vermogen van de lipase te bepalen werden buisjes met 5 cM³ melk en 5 cM³ fermentoplossing gedurende 24 uur bij 39° in den schudthermostaat gezet. Daarna werd met 0.1 N-loog het gevormde vetzuur getitreerd. De zuurgraad van 5 cM³ melk, die eveneens 24 uur in de schudmachine gedraaid hadden, werd hiervan natuurlijk afgetrokken. De viscositeit was van het kalfsmaagsap iets grooter dan van het varkenssap, n.l. 5/3, resp. 3/2 maal visceuzer dan water. Daar de fermentoplossingen geen vrij zoutzuur bevatten en ik ook de werking in zwak zuur milieu wilde nagaan, werden tevens bepalingen gedaan, waarbij het reactiemengsel bestond uit: 5 cM³ melk plus 5 cM³ fermentoplossing plus 0.5 cM³ 0.1 N HCl. De volgende uitkomsten werden nu verkregen :

datum	melk + sap	melk + sap + HCl.
26 Mei .	8.3	
30 „	7.8	
2 Juni	8.4	
13 „	5.2	
14 „	3.—	1.5
15 „	3.5	3.6
16 „	11.7	13.—
20 „	6.1	—
22 „	6.7	9.7
23 „	10.7	13.2
24 „	8.7	11.6
25 „	10.4	8.—
26 „	12.—	11.6
27 „	13.2	11.9
28 „	9.9	13.3
30 „	14.6	14.—

Fig. 1 stelt deze uitkomsten voor in krommen gebracht.

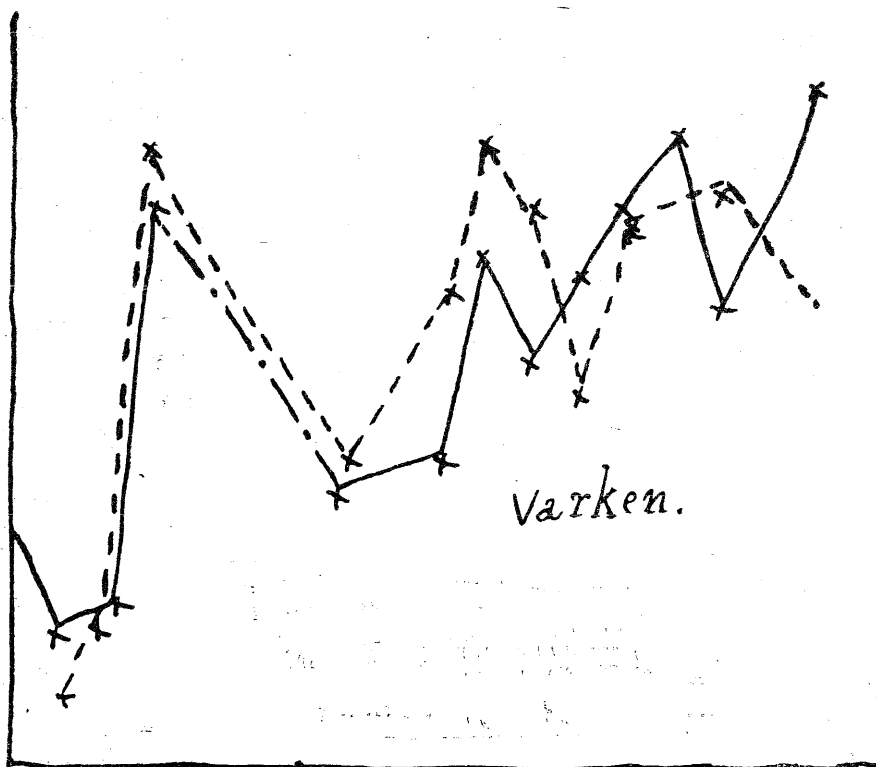


Fig. 1.

datum	melk + sap	melk + sap + HCl.
11 Juli	7.4	3.6
14 „	7.9	4.2
15 „	10.2	8.—
18 „	8.2	7.2
19 „	3.4	—
20 „	5.2	11.9
21 „	7.—	4.—
22 „	3.1	4.6
23 „	3.5	10.1

Fig. 2 stelt deze uitkomsten voor in krommen gebracht.

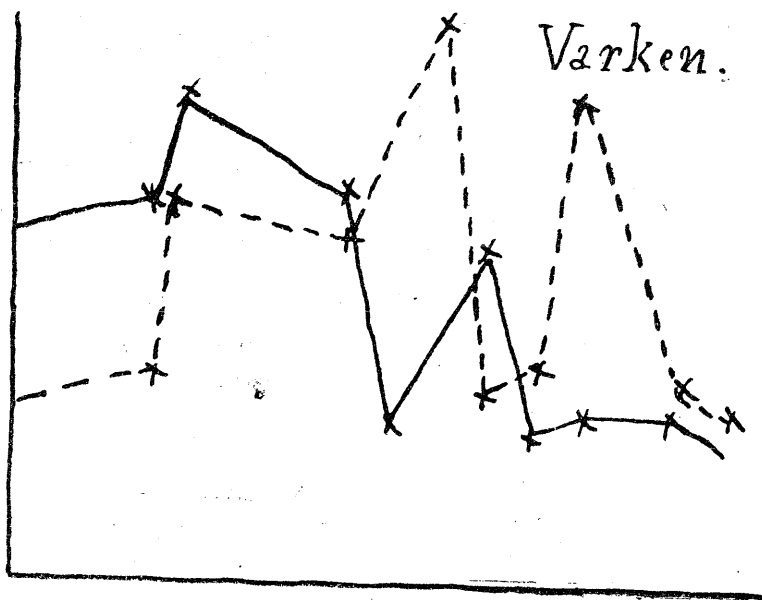


Fig. 2.

datum	melk + sap	melk + sap + HCl.
26 Mei	5.8	
30 „	4.—	
2 Juni	5.3	
13 „	2.9	
14 „	3.9	4.9
15 „	5.1	—
16 „	8.—	6.5
20 „	3.1	6.3
22 „	6.7	2.5
23 „	7.3	—
24 „	3.3	1.6
25 „	5.8	7.2
26 „	11.8	10.8
27 „	10.1	12.—
9 Juli	2.9	1.7
11 „	2.6	2.1
14 „	9.2	7.7
15 „	8.9	5.7
18 „	3.3	4.4
19 „	1.5	3.2
21 „	3.—	2.9
23 „	3.—	2.9

Fig. 3 stelt deze uitkomsten graphisch voor.

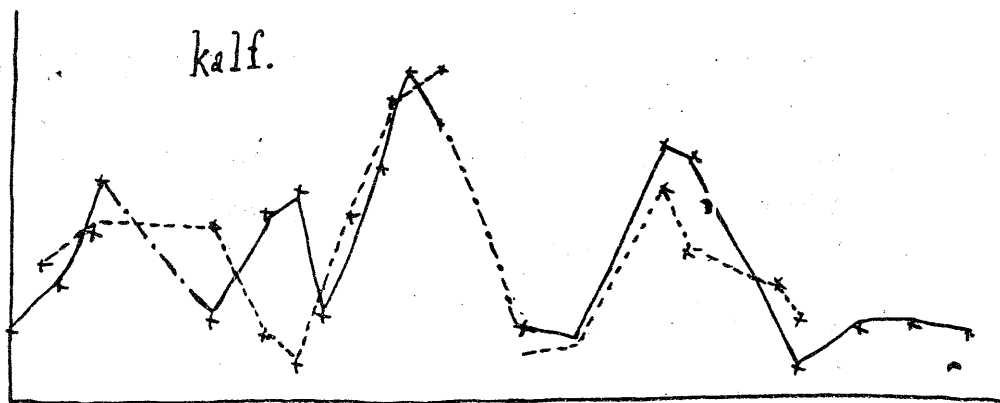


Fig. 3.

datum	melk + sap	melk + sap + HCl.
5 Sept.	12.7	10.5
6 „	11.8	13.2
7 „	7.6	13.3
8 „	13.5	8.4
12 „	7.—	8.—
13 „	12.4	11.4

datum	melk + sap	melk + spa + HCl.
14 Sept.	7.4	6.9
16 „	11.7	12.6
19 „	5.9	—
20 „	5.1	6.9
21 „	8.1	4.9
22 „	5.—	7.5
26 „	3.8	3.2
28 „	3.7	3.8

Fig. 4 stelt deze uitkomsten graphisch voor.

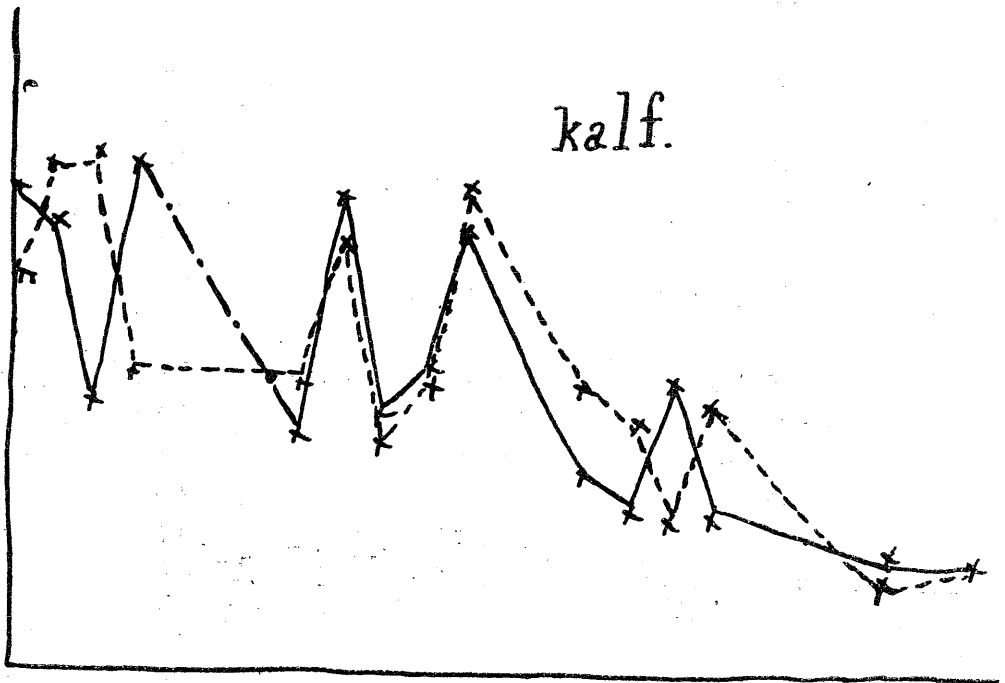


Fig. 4.

datum	melk + sap	melk + sap + HCl.
5 Sept.	12.—	14.5
6 „	12.5	13.6
7 „	14.4	13.8
8 „	14.9	16.3
12 „	14.4	13.—
13 „	11.8	10.5
14 „	13.8	14.7
16 „	8.4	8.3
19 „	11.4	9.8
21 „	3.3	
22 „	8.—	
26 „	5.2	
28 „	5.6	

Fig. 5 stelt deze uitkomsten graphisch voor.

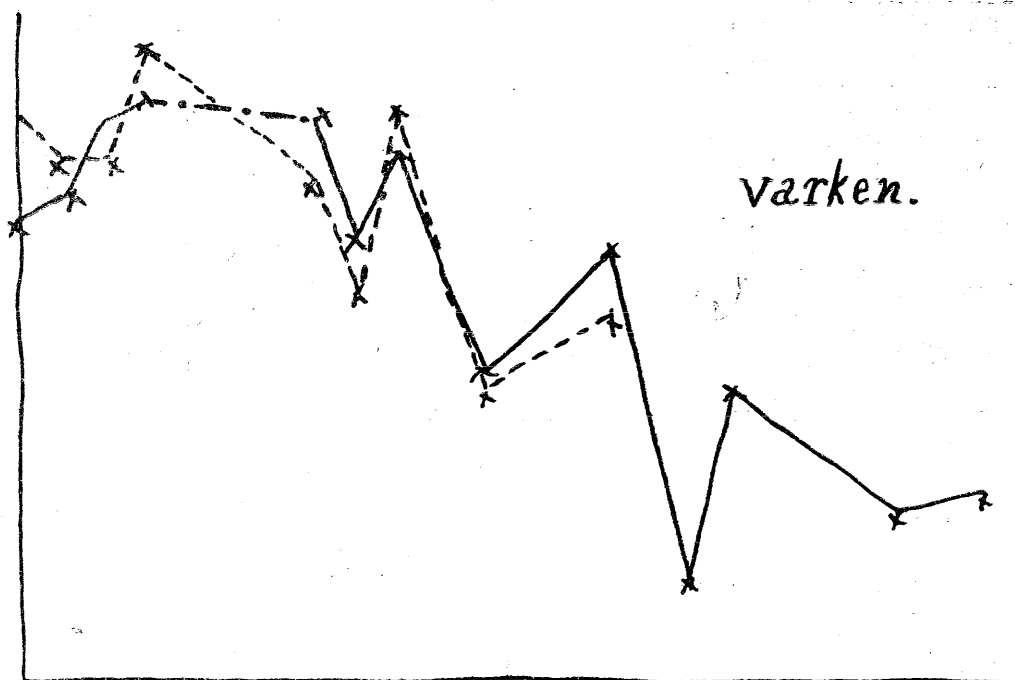


Fig. 5.

Men ziet dus ook hier bij alle preparaten een duidelijke schommeling. De punt-stippellijnen duiden aan, dat gedurende dien tijdsduur geen bepalingen gedaan werden, zoodat er misschien nog één of meer toppen tusschen kunnen liggen.

Voor de diagnostische waarde van het bepalen van verschillende grootheden in de kliniek zou met deze periodiciteit zeer zeker rekening gehouden moeten worden. Men moet in dit opzicht waarschijnlijk wel een verschil maken tusschen de spijsverteringsfermenten en de fermenten, die gedurende langeren tijd in het lichaam circuleeren, zooals bijv. die van het bloed. De spijsverteringsfermenten toch worden in hoofdzaak met de spijsverteringsappen afgescheiden op den prikkel van het voedsel en verlaten na eenige uren met de ontlasting het lichaam. Zij zouden dus geen tijd hebben om in het organisme in werking af- en weer toe te nemen, wat teleologisch goed te verklaren is, daar zij op het tijdstip, dat er voedsel in het spijsverteringskanaal is, hun maximale werking moeten ontplooiën. Daar zij buiten het lichaam waarschijnlijk wel gaan schommelen, zooals uit bovenbeschreven en aangehaalde proeven is gebleken, is het aan te raden fermentbepalingen, zooals de werking van pepsine van uitgeheveld maagsap of van trypsine in de ontlasting, zoo snel mogelijk te doen en wanneer dit niet mogelijk is, de bepalingen gedurende langeren tijd voort te zetten.

November 1921.