De la détermination de l'activité des cholinestérases : mesure électrométrique à pH constant

Autor(en): **Radouco-Thomas, C. / Frommel, Ed.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **6 (1953)**

Heft 3

PDF erstellt am: **25.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-740012

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

C. Radouco-Thomas et Ed. Frommel. — *De la détermination de l'activité des cholinestérases. Mesure électrométrique à pH constant.*

Dans un travail antérieur [4, 6], nous avons présenté un microtitrimètre pour la mesure électrométrique de l'activité des cholinestérases qui, grâce à l'utilisation d'une électrode combinée et d'un système d'agitation magnétique, permet d'effectuer des dosages avec de très petites quantités de substrat (1-2 ml).

Nous avons également essayé de résoudre un second problème de cette méthode, à savoir le maintien du mélange enzyme-substrat à un pH strictement constant.

La plupart des expérimentateurs ramènent le pH à la valeur choisie par un écoulement discontinu de soude; ces techniques entraînent des oscillations du pH autour de cette valeur. Stedman et White [8] neutralisent toutes les cinq minutes l'acide acétique formé; la réaction s'effectue donc constamment en milieu acide par rapport au pH mentionné. Sanz [7], Delaunois et Casier [2, 3], au contraire, ajoutent toujours un léger excès de soude et chronomètrent le temps nécessaire pour le retour de l'indicateur au pH choisi; leurs déterminations se font donc en milieu légèrement alcalin.

Par l'utilisation de l'ultramicroburette décrite dans un travail antérieur [5], nous pouvons déterminer un écoulement excessivement faible, mais continuel de soude. La solution étant elle-même très diluée (0,005 N), l'apport contrôlable de soude est infinitésimal (1 μl = 2 γ NaOH) et peut être amené à correspondre exactement à la quantité d'acide acétique provenant de l'hydrolyse enzymatique (20-80 μl NaOH par minutes) ou même de l'hydrolyse spontanée du substrat (2-3 μl NaOH par minute). Avec un peu de pratique, on arrive à régler la vitesse de l'écoulement de la soude de manière à maintenir complètement immobile l'aiguille de l'indicateur potentiométrique; toute la mesure s'effectue donc à un pH rigoureusement constant.

A des intervalles de temps réguliers (chaque minute, chaque quinze ou trente secondes), on lit les µl de NaOH utilisés. Le dosage, qui peut commencer dès la première minute qui suit le

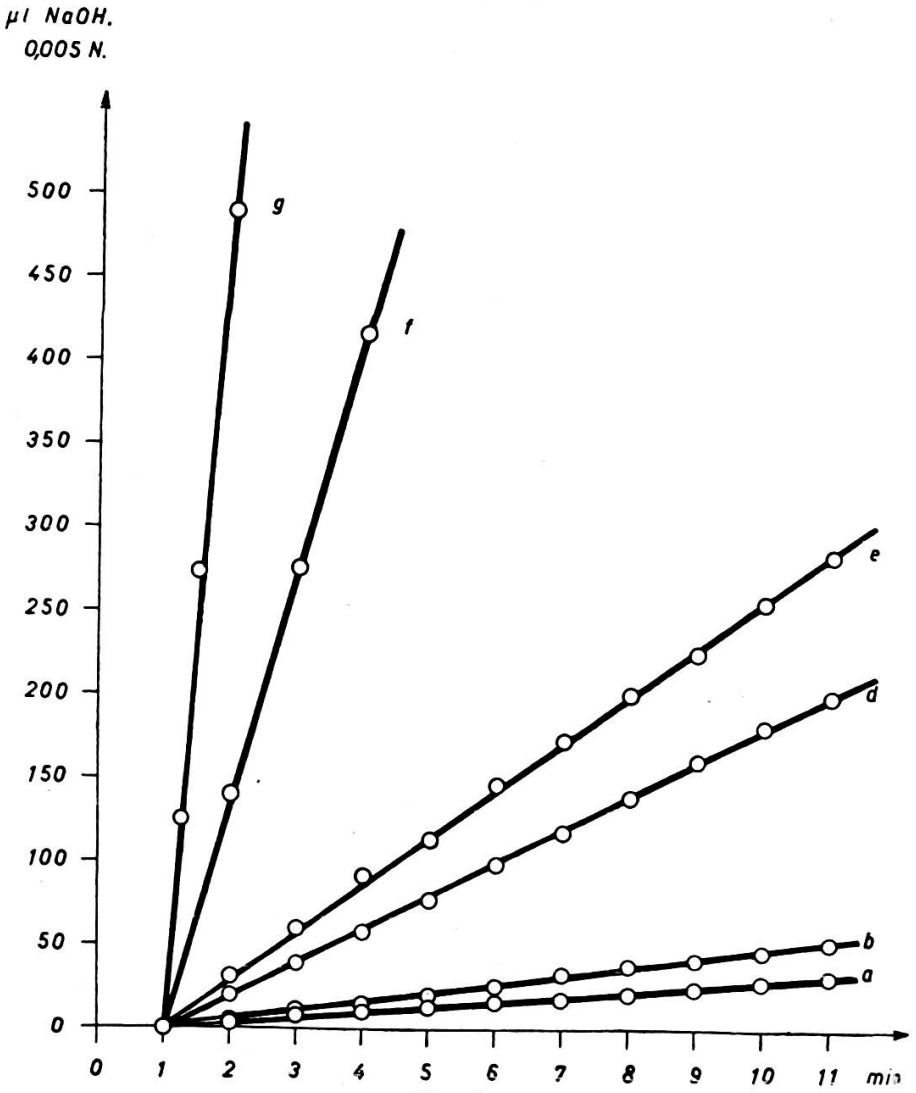

Fig. 1.

Activité des cholinestérases.

En abscisse: le temps en minutes; en ordonnée: µl NaOH 0,005 N.

a Hydrolyse spontanée de la benzoylcholine (chlorure);
b Hydrolyse spontanée de l'acétylcholine (iodure);
d Hydrolyse de l'acétylcholine par la cholinestérase du plasma;
e Hydrolyse de l'acétylcholine par la cholinestérase des érythrocytes;
f Hydrolyse de l'acétylcholine par la cholinestérase du cerveau;
g Hydrolyse de la benzoylcholine par la cholinestérase du foie.

La concentration du substrat a été dans toutes les mesures effectuées de 0,011 M.

mélange enzyme-substrat peut être terminé en 2-5 minutes. Sur un graphique, ces points s'alignent pratiquement sur une ligne droite. Néanmoins, pour extrapoler les résultats, nous avons utilisé la méthode statistique des régressions. L'écart entre les résultats graphiques et algébriques est très faible.

Dans la figure 1, nous présentons les résultats obtenus pour l'hydrolyse spontanée de l'iodure d'acétylcholine et son hydrolyse par les cholinestérases du plasma, des érythrocytes et du cerveau, ainsi que pour l'hydrolyse spontanée de la benzoylcholine et son hydrolyse par l'estérase du foie (Cobaye).

Ces diverses mesures ont été effectuées, non au pH optimum [1] des cholinestérases Acétylcholinestérase pH = 8,4 Butyrocholinestérase pH = 7,5-8, mais au pH = 7,7 où nous avons trouvé un rapport hydrolyse enzymatique/hydrolyse spontanée suffisamment élevé.

En résumé, l'appareillage et la technique adoptés permettent d'effectuer la mesure électrométrique de l'activité des cholinestérases avec de très petites quantités de substrat et à un pH rigoureusement constant.

BIBLIOGRAPHIE

1. Augustinsson, K. B., *Acta Physiol. Scand.*, 1948, *15*, Suppl. 52.
2. Delaunois, A.. L., H. Casier, *Experientia*, 1946, *2*, 66; *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1938, *75*, 371.
3. Heymans, C., *Exp. ann. de Biochim. Med.*, 1951, *12*, 22.
4. Radouco, C., Ed. Frommel et V. Halitsky, *Arch. Sci. Genève*, 1952, *5*, 259.
5. Radouco-Thomas, C., S. Radouco-Thomas et Ed. Frommel, *Arch. Sci. Genève*, 1953, *6*, 163.
6. Radouco, C. et Ed. Frommel, *Helv. Physiol. Acta*, 1952, *10*, C 39.
7. Sanz, M., *Helv. Physiol. Acta*, 1944, *2*, C 29.
8. Stedman, E., E. Stedman et A. C. White, *Biochem. J.*, 1933, *27*, 1056.

C. Radouco-Thomas, S. Radouco-Thomas et Ed. Frommel. — *Ultramicroburette pour des dosages volumétriques.*

Nous présentons une ultramicroburette que nous avons construite et que nous utilisons couramment pour certaines mesures de l'activité enzymatique.