

PSEUDOCHOLINESTERASE POPULÁCIÓGENETIKAI
VIZSGÁLATA

Írta: ÁCS TAMÁS, BENKE BÁLINT, HARCOS PÉTER és FEKETE ISTVÁNNÉ

(Semmelweis Orvostudományi Egyetem II. sz. Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézete, Budapest; Semmelweis Orvostudományi Egyetem Neurológiai Klinikája, Budapest; Fővárosi Tanács Bajcsy-Zsilinszky Kórház Rendelőintézete, Budapest)

ÁCS, T.—BENKE, B.—HARCOS, P.—FEKETE, I.: *A population-genetic study of pseudocholinesterase*. The authors examined the pseudocholinesterase activity of 702 neuropsychiatric patients by means of a cholest test-paper. In 8.7% of the cases they could observe reduced activity. By the help of medical findings it can be rendered probable in 3.7% of the cases that the reduced activity has a somatic cause. In 4.9% of the cases the medical cause of the reduced activity could not be found, and therefore it has to be assumed that the cause underlying the decrease in activity are isoenzymes. The results purified by these estimations showed a fair connection with the frequencies expected relying on the population-genetic calculations.

Key words: pseudocholinesterase, acholest-test, neuropsychiatric patients.

Bevezetés

SZÓRÁDY már 1973-ban megjelent könyvében több mint 2000-re becsüli a pseudocholinesterase (serum cholinesterase) rendszerrel foglalkozó közlemények számát. Számuk azóta is nőtt, de a problematika a bő irodalom ellenére sem tisztázott.

A pseudocholinesterase (továbbiakban PCHE) mind gyakorlati, mind elméleti szempontból érdekes és jelentős.

Az orvosi gyakorlatban sebészek, pszichiáterek végeznek műtéteket, elektroshock kezelést stb. úgy, hogy a beteg izmait succinylcholinnal (suxamethonium) relaxálják. Ha a szervezet a PCHE „defektusa” miatt nem képes a relaxáns rövid, néhány perces időtartam alatt lebontani, akkor ennek életveszélyes következménye (apnoe) lehet (BENKE et al. 1975).

Elméleti szempontból a PCHE azért érdekes, mert genetikája igen bonyolult, ugyanakkor fiziológiai jelentőségét nem ismerik, talán nincs is. Ma több elképzelés is létezik az enzim funkciójáról, mindezek azonban bizonytalanok, mert az enzim természetes substratuma sem ismert. A PCHE több cholinésztertert (pl. acetylcholint, butyrylcholint stb.) és ugyanakkor nem cholin jellegű anyagokat is hidrolizál. Az enzim tehát kevésbé substratum specifikus, és nem ismert, hogy az egészséges szervezetben normális körülmények között valójában mi a substratuma, funkciója. Az irodalmi adatok szerint teljesen épek, egészségesek azok a személyek, akikben ez az enzim egyáltalán nem képződik (HARRIS 1974).

Jelenleg úgy tűnik, hogy az enzim, illetve variánsai evolúciós szempontból semleges jellegek (fének), nem esnek a szelekció hatása alá, géngyakoriságaik

nem a szelekciótól, hanem inkább véletlen eseményektől, drift-szerű tényezőktől függnnek. Éppen a jelleg semlegessége lehetővé tesz azonban egy további gyakorlati alkalmazást: PCHE adatok populációk jellemzésére használhatók fel.

Abszurdnak tűnik, mégis megfelel jelenlegi ismereteinknek, hogy egy számos emlősfajban is előforduló (GOEDDE és FUSS 1964), funkció nélküli genetikai rendszer feltehetően évezredekken át öröklődött, és a jelentéktelenség leple alatt szélsőségesen bonyolódott, majd az ember feltalálja a suxamethonium relaxációt, amivel az enzim egy csapásra nagy orvosi jelentőségre tesz szert, és elveszti addigi semleges jellegét.

Az orvosi jelentőség által kiváltott kutatások vezettek annak felismerésére, hogy a PCHE a májban és valószínűleg kizárólag ott képződik, méghozzá az albuminok szintézisével szoros összefüggésben, és a májból folyamatosan jut át a vérbe. Egészséges emberben — néhány ismert kivételtől eltekintve — szintje állandó, és nemtől, kortól, nap- és évszakos ritmustól független. A májparenchyma károsodásai esetében a PCHE szintje csökken. Több más betegség is ismert, amely az aktivitás csökkenésével, és néhány, amely az aktivitás emelkedésével jár együtt. Végül ismert több gyógyszer és más vegyület (pl. növényvédőszer), amelyek a PCHE aktivitását csökkentik. Ezen adatoknak bizonyos diagnosztikai és prognosztikai értékük van az orvosi gyakorlatban.

A PCHE szintézisében legalább két autosomalis locus játszik szerepet:

Az egyik az E_1 locus, amelynek 4 allélja ismert. Ezek, a nemzetközi jelölést leegyszerűsítve: az n allél, amely a normális és az a allél, amely csökkent aktivitású isoenzimet határoz meg. *In vitro* az n jellegű enzim dibucainnal (nupercain, procain), továbbá NaF-dal erősen gátolható, míg az a jellegű enzim alig. Ismert azonban egy enzim, amely nem a jellegű, mégis fluorid-rezisztens. E sajátos isoenzim szigorúan öröklődik, meghatározását egy, a többiekkel allél f gén végzi. Végül ugyanezen a locuson van egy „silent” s gén, amely fenotípusosan, vagy egyáltalán nem, vagy kevésbé manifesztálódik enzimaktivitással. Egyes vizsgálatok alapján azonban valószínű, hogy az s génnek is több, egymástól eltérő változata van (GOEDDE et al. 1964).

PCHE gélelektroforézisével C_1 — C_4 isoenzimeket lehet különválasztani, amelyek közül az enzimaktivitás zömében a C_4 -től függ. Ennek egyik változata a C_5 , amely az enzimaktivitást 25—300%-kal fokozza. A vizsgálatok szerint meghatározója egy, az E_1 -gyel nem allél, vele nem szorosan kapcsolt locus, amelynek az aktivitást növelő hatás szélessége miatt talán nem is csak egy allélja van. Az E_2^+ gén expresszivitása valószínűleg 18 évesnél fiatalabbakban jelentősen nagyobb, és lehet, hogy az E_2 -nek, vagy egy harmadik locusnak valamilyen induktorrepresszor hatása is van az E_1 locus által meghatározott szintézis mennyiségére vagy gyorsaságára (HARRIS 1974).

A PCHE rendszer legjobban ismert génjei az alábbiak:

E_1 locus alléljai:

$n, a, f, s,$

E_2 locus alléljai:

$E_2^-, E_2^+, E_2^{++}?$

Az E_1 locus négy alléljából tíz különböző genotípus jöhet létre, és ezek mindegyike vagy E_2 , vagy E_2^+ lehet. Ebből következik, hogy legalább húsz, de valószínűleg ennél több lehetséges genotípussal kell számolnunk.

Az alábbi összeállítás HARRIS (1974) nyomán mutatja az E_1 locus különböző allél kombinációit és a hozzájuk tartozó ún. relatív aktivitási értékeket. Ezek benzoylcholin substratumra vonatkoznak standard körülmények között; természetesen más feltételek mellett az értékek eltérnek.

nn	100
nf	80
na	75
ns	70
ff	60
fa	55
aa	50
fs	30
as	25
ss	0

Ezen adatokkal kapcsolatban több szempontot kell figyelembe venni. Az isoenzimek számos kémiai és fizikokémiai vonatkozásban megegyeznek, pontos kémiai szerkezetük nem tisztázott. Eltérőek azonban enzimkinetikai szempontból. In vitro legalkalmasabb jellemzőjük a dibucain, illetve fluorid szám, amely a gátlás százalékat fejezi ki. In vivo az egyes genotípusok elkülönítése nagyon nehéz. Az irodalom általában dominánsnak mondja az öröklésmentet (n dominál a felett), vagy intermediarnekn az enzimaktivitás mérése alapján. Helyesebbnek tűnik kodomináns öröklődésről beszélni, amelyben minden génnek (az s gén kérdését nyitva hagyva) saját génterméke van. Ha nem aktivitási vizsgálatot, hanem gátlási vizsgálatot végeznek, akkor megállapítható, hogy homozigotákban egyféle, heterozigotákban kétféle enzim képződik. Így tekintve a kérdést, az egyes géntermékek hatása additív és az allél sorban egy n génnek relatív aktivitási jelentősége mintegy 50, az f -é 30, az a géné 25, végül az s -é 0, természetesen az analízis megadott (HARRIS 1974) körülményei között. Bonyolítja a kérdést, hogy a gátlásvizsgálatok eredményei az isoenzimek kvalitatív sajátosságát, eltérő enzimproteineket tükröznek, az aktivitási vizsgálatok eredménye azonban nemcsak az enzim minőségétől, de mennyiségétől is függ. Így az utóbbiak labilisabb, kevésbé differenciáló eredményekre vezetnek. Valóban, ha a fenotípusból kiindulva suxamethoniumra erősen érzékeny, relatíve érzékeny és nem érzékeny személyeknél dibucain számot állapítanak meg, akkor az a fenotípusnak megfelelő discontinuus eloszlást eredményez. Ugyanakkor aktivitási vizsgálatok nem mutatnak éles határértékeket, inkább polifaktoros öröklődésre jellemző continuus eloszlások mutatkoznak. Az aktivitási vizsgálatok eredményét fenotípus szerint összeállítva egyes személyek, akik „normális” enzimekkel rendelkeznek az atípusosnak megfelelő kis aktivitást mutatnak és fordítva. Az eltérő genotípusok identifikálása tehát metodikailag nehéz. Csak példaképpen szerepeljen még, hogy egyetlen módszerrel sem lehet az f és s allélt egyszerre biztonságosan kimutatni. Ilyen és hasonló nehézségek következtében populációgenetikai kívánalmaknak igazán megfelelő nagy elemszámú vizsgálatok igen ritkák (ALTLAND et al. 1969).

Populációgenetikai és orvosgyakorlati szempontból egyaránt fontos a gén- és genotípus frekvenciák ismerete. A számos, igen eltérő helyen, időben és módszerrel végzett vizsgálat azonban kis elemszáma miatt csak kevés támpontot nyújthat. Ilyen „vegyes” adatokra természetesen nem szabad a Hardy-Weinberg szabályt alkalmazni. Csak a gyakorlati szükséglet indokolja, hogy

első megközelítésként különböző irodalmi adatok összesítéséből „europid, átlag frekvenciákat” számoltunk ki. Ezek

$p(n) = 0,9788$	$p^2(nn) = 0,9580$	$2pq(na) = 0,0354$
$q(a) = 0,0181$	$q^2(aa) = 0,0003$	$2pr(ns) = 0,0060$
$r(s) = 0,0031$	$r^2(ss) = 0,00001$	$2qr(as) = 0,0001$

E táblázatban nem szerepel E_2^+ gyakorisága. Frekvenciája mintegy 5–10% lehet. Nem szerepel az f frekvenciája sem, mert az irodalomban csak két, igen kis számú populáció adatait találtuk. A Görögországban és Izlandon végzett vizsgálatokban nn , na , nf és af genotípusok gyakoriságából f frekvenciájára 0,0161, ill. 0,0117 értéket számoltak. Európai populációkban az f frekvenciája a és s gyakorisága között helyezkedik el. Érdekes az az adat is, hogy japán populációkban igen csekély az a gyakorisága, de ott az f gyakorisága olyan, mint Európában az a frekvenciája. Azok a genotípusok, amelyekben f is van, benne foglaltatnak a többi genotípusban, valószínűleg zömében az na genotípusok gyakoriságában.

Az aa genotípus gyakorisága (3–4 tízezrelék) feltűnően nagy a súlyosabb enzimopathiák leggyakrabban 1/10000–1/20000 frekvenciájához képest. Ez újból alátámasztja azt a feltételezést, hogy a PCHE rendszer gén-gyakoriságaira a szelekció nagy hatással nem lehet. Feltűnőek viszont azok az adatok, amelyek szerint rassztól függetlenül, extrém éghajlati viszonyok között élő populációkban (mint lappok, eszkimók, kongói négerék, délamerikai indiánok) úgyszólván nem találtak a gént (ALTLAND et al. 1969). Ez izolációval vagy sajátos szelekciós körülményekkel függhet össze. De szelekció esetében sem lehet egyszerűen csak a PCHE aktivitása a jelentős, ugyanis egy alaszakai eszkimó populációban az ugyancsak csökkent aktivitást okozó s allél gyakorisága 2%, az ns heterozygotáké pedig kb. 25%. E populáció azonban endogám (GUTSCHE et al. 1967). Mindezen adatokat áttekintve csak az mondható, hogy a szelekcióban a funkció is tükröződik, de a PCHE esetében a kép is, a tükör is homályos.

Tudomásunk szerint populációgenetikai igényű hazai felmérést csak WALTER végzett, NEMESKÉRI és BACKHAUSZ izolátum-kutatásai keretében (WALTER et al. 1965). Vizsgálatuk 472 főre terjedt ki, ezek közül 276 az ivádi izolátumba tartozott. Legérdekesebb eredményük az igen kicsiny na gyakoriság (0,0051). Az elemszám azonban kevés, az endogámia befolyásolhatja az eredményt, végül szerzők lehetségesnek tartanak egy, a szérum öregedéséből származó effektust. Ezért lehetséges, hogy az említett vizsgálatban a tényleges méréssel nyert eredmény nem pontosabb, mint a táblázatunkban szereplő igen különböző adatokból számolt értékek.

Anya és módszer

E háttér ismeretében végeztük kifejezetten gyakorlati célkitűzéssel — a relaxációban végzett elektroshock kockázatának csökkentésére — saját felmérésünket. Munkahipotézisünk az volt, hogy a hazai populációban mintegy 95–96% nn , 3,5% na , 0,5% ns gyakoriság várható, és minden más genotípus — beleértve azokat is, amelyekben f fordul elő — csak tízezrelékes nagyságrendben található a populációban.

Az általunk vizsgált minta neuropszichiátriai betegekből áll, ettől eltekintve azonban eléggé „random”, felnött sokaságként fogadható el. A minta elemszáma 702.

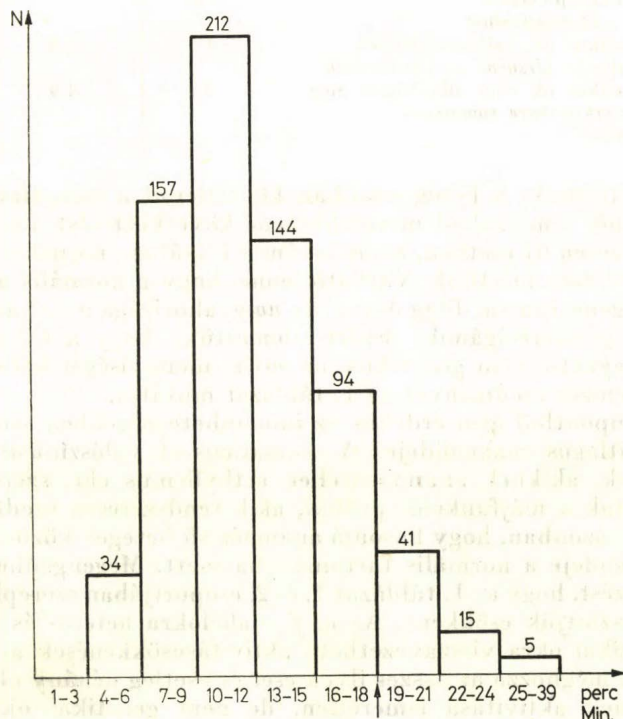
A m érést a legegyszerűbb módszerrel végeztük. Az Österreichische Stickstoffwerke AG, Linz *acholest* nevű teszt-papírját használtuk, amely egy színváltozás bekövetkeztének idejével méri az enzimaktivitást, mégpedig az enzim minőségéből és mennyiségéből adódó összaktivitását.

Eredmények és megbeszélés

Figyelembe véve, hogy az enzim minőségét egy soktényezős génrendszer, mennyiségét pedig messzemenően a máj működése határozza meg, eleve az enzimaktivitásoknak egycsúcsú, *continuus Gauss-görbe* szerű eloszlásával számoltunk. Az 1. ábra mutatja, hogy a tényleges eredmény a vártnak jó közelítéssel felel meg (az ábrán az időintervallumokat a jobb áttekinthetőség kedvéért összevontuk).

Az eredménnyel kapcsolatban megjegyzendő, hogy a teszt-papír gyári leírása szerint 4 percnél rövidebb idejű reakció fokozott, 18 percnél hosszabb csökkent, 35 percnél hosszabb reakcióidő erősen csökkent aktivitást jelent. A 4 és 18 perc közötti reakcióidő felel meg a normális enzimaktivitásnak.

Egy esetben találtunk fokozott enzimaktivitást, de ez nem elegendő ahhoz, hogy C₅ komponensre következtethessünk. Egy esetben erősen csökkent akti-



1. ábra. Az *acholest* teszt-papírral végzett aktivitási vizsgálat eredménye. A függőleges tengely az esetek számát, a vízszintes a percekben kifejezett aktivitást jelzi

Abb. 1. Das Ergebniss der Aktivitätsbestimmung mit dem *Acholest*-Testpapier. Die Ordinate zeigt die Zahl der untersuchten Patienten, die Abszisse die in Minuten ausgedrückte Aktivität

1. táblázat

Az esetek megoszlása az orvosi diagnózis szerint
Tabelle 1. Die Verteilung der Fälle entsprechend der ärztlichen Diagnose

Összes Gesamtzahl	Esetszám Anzahl der Untersuchungen	Összes eset % Prozentsatz der Fälle	Színreakció átlagos ideje percekben Durchschnittliche Zeitspanne bis zum Erscheinen der Farbreaktion in Minuten
	702	100	12,2
Ebből Davon			
Színreakció normális <i>Farbreaktion normal</i>	614	91,3	11,4
Színreakció elhúzódó <i>Farbreaktion verzögert</i>	61	8,7	21,1
Elhúzódó reakcióidő <i>Verzögerte Farbreaktion</i>			
1. Somatikus okkal indokolható <i>Kann mit somatischer Ursache begründet werden</i>	9	1,3	
Ebből Davon			
Immundeficiencia <i>Immunerkrankung</i>	5		27,6
Fehérjevesztés <i>Eiweißverlust</i>	4		20,5
2. Somatikus ok valószínűsíthető <i>Somatische Ursache wahrscheinlich</i>	17	2,4	20,7
3. Somatikus ok nem állapítható meg <i>Ohne erkennbare somatische Ursache</i>	35	4,9	21,4

vitást tapasztaltunk, a beteg azonban közvetlenül a vizsgálat után exitált; ebből az esetből sem szabad messzebbmenő következtetést levonni. Csökkent aktivitást összesen 61 esetben, az összszám 8,7%-ában, normális aktivitást 641 esetben, 91,3%-ban mértünk. Várható lenne, hogy a normális aktivitás *nn*, a csökkent *na* genotípussal függ össze. Az *na* gyakorisága azonban 2–3-szorosa a számított gyakoriságának. Ezért elemeztük, hogy a túl nagynak tűnő 8,7% összefüggés-e nem genetikai, az enzim mennyiségét befolyásoló tényezőkkel. Az elemzés eredményét az 1. táblázat mutatja.

Orvosi szempontból igen érdekes az immunbetegségekben szenvedők, kiugróan hosszú átlagos reakcióideje. A „somaticus ok valószínűsíthető” kategóriába kerültek, akiknek anamnézisében aethylismus chr. szerepelt, akiknek pozitívek voltak a májfunkciós próbái, akik rendszeresen szedtek Hibernalt. Megjegyzendő azonban, hogy hasonló anamnézisű betegek között volt olyan is, akinek reakcióideje a normális tartományba esett. Megengedhetőnek tartjuk azt a feltételezést, hogy az 1. táblázat 1. és 2. csoportjában szereplők genotípusa *nn*, de enzimszintjük csökkent. Az *a*, *f*, *s* allélokra hetero- és homozigoták, tehát a genetikai okra visszavezethető aktivitáscsökkenések a 3. csoportban fordulnak elő, méghozzá az összes ilyen eset és esetleg néhány olyan *nn* homozigota, akiknek aktivitása ismeretlen, de nem genetikai okból csökkent. Emellett szól, hogy a 3. csoport 4,9%-os gyakorisága lényegében megfelel a nem *nn* genotípusok összgyakorisága várt értékének, és — eltekintve az immunbetegektől — az átlagos reakcióidő e csoportban bár csak kis mértékben megnőtt, de a leghosszabb.

Vizsgálatunkat csak első áttekintés céljából nagyon egyszerű, semikvantitatív módszerrel végeztük. Eredményeink ennek megfelelően csak első megközelítést jelentenek, és sok, a továbbiakban tisztázandó kérdést vetnek fel. Orvosi szempontból mégis érdekesekek, mert hozzájárulhatnak a relaxáció okozta kockázat csökkentéséhez, felhívják a figyelmet az immunbetegekre és más, itt nem részletezendő orvosi problémákra. Véleményünk szerint egyedi betegvizsgálatoknak és populációgenetikai megfontolásoknak együttes alkalmazása módszer-tanilag jó lehetőséget ad az orvosi gyakorlatban fontos kérdések megoldásához.

Összefoglalás

Szerzők 702 neuropsychiatriai beteg pseudocholinesterase aktivitásának vizsgálatát végezték acholest teszt-papírral. Orvosi és populációgenetikai megfontolások tették lehetővé az eredmények értékelését, illetve azon személyek gyakoriságának becslését, akiknél valóban isoenzimek okozhatták nagy valószínűséggel a csökkent aktivitást. Az e becslésekkel tisztított eredmények jó összefüggésben álltak a populációgenetikai számítások alapján várt gyakoriságokkal.

IRODALOM

- ALTLAND, K.—BUCHER, R.—KIM, T. W.—BUSCH, H.—BROCKELMANN, C.—GIEDDE, H. (1969): Population genetic studies on pseudocholinesterase polymorphism in Germany, Czechoslovakia, Finland and among Laps. — *Humangenetik* 8; 158—161.
- BENKE, B.—HARCOS, P.—FEKETE, I. (1975): Kísérlet a relaxatióban végzett elektroshock kezelés veszélyeinek csökkentésére. — *Orv. Hetil.* 116; 2779—2781.
- GOEDDE, H. W.—FUSS, W. (1964): Untersuchungen zur Phylogenetik der Pseudocholinesterasen. — *Humangenetik* 1; 126—140.
- GOEDDE, H. W.—GEHRING, D.—HOTMANN, R. A. (1964): Biochemische Untersuchungen zur Frage der Existenz eines „silent Gene“ im Polymorphismus der Pseudocholinesterasen. — *Humangenetik* 1; 607—620.
- GUTSCHE, B.—SCOTT, E. M.—WRIGHT, R. C. (1967): Hereditary deficiency of pseudocholinesterase in Eskimos. — *Nature* 215; 322—323.
- HARRIS, H. (1974): *Biochemische Grundlagen der Humangenetik*. — Akademie Verlag, Berlin.
- HARRIS, H.—ROBSON, E. B.—GLEN-BOTT, A. M.—THORNTON, J. A. (1963): Evidence for non-allelism between genes affecting human serum cholinesterase. — *Nature* 200; 1185—1187.
- SZÓRÁDY, I. (1973): *Pharmacogenetics*. — Akadémiai Kiadó, Budapest.
- WALTER, H.—NEUMANN, S.—BACKHAUSZ, R.—NEMESKÉRI, J. (1965): Populationsgenetische Untersuchungen über die Pseudocholinesterase — Varianzen bei Ungarn und Deutschen. — *Humangenetik* 1; 551—556.

POPULATIONSGENETISCHE UNTERSUCHUNG DER PSEUDOCHOLINESTERASE

von T. ÁCS, B. BENKE, P. HARCOS, I. FEKETE

(Zusammenfassung)

Es wurde die Serum-Cholinesterase Aktivität von 702 neuropsychiatrischen Patienten mit dem „Acholest Testpapier“ untersucht. Medizinische und populationsgenetische Überlegungen ermöglichten eine Interpretation der Befunde bzw. eine Schätzung der Häufigkeit von Patienten, bei denen mit grosser Wahrscheinlichkeit tatsächlich Isoenzyme die Ursache verminderter Aktivität sind. Die auf Grund dieser Schätzungen korrigierten Ergebnisse zeigten eine gute Übereinstimmung mit den erwarteten Häufigkeiten populationsgenetischer Berechnungen.

A szerző címe: ÁCS TAMÁS
 Anchr. d. Verf.: SOTE II. Anatómiai Intézete
 Budapest, Tűzoltó u. 58.
 H-1094

