

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SİVAS İL MERKEZİNDE  
PSÖDOKOLİNESTERAZ AKTİVİTESİ ve GENETİK  
VARYANTLARININ TARANMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. GÜLCAN KAYA**

90067

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ : DOÇ. DR. AHMET AKER**

**SİVAS - 1995**

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**



**Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarih ve 84/1 No`lu kararıyla kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır.**

## **TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA**

İşbu çalışma jürimiz tarafından BİYOKİMYA anabilim dalında TIPTA  
UZMANLIK

TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN.....

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

...../...../1995

**Prof. Dr. T. ÜNSALDI**  
**DEKAN**

## **TEŐEKKÜR**

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde ve asistanlığım sÜresince ilgilerini esirgemeyen ana bilim dalı baőakanımız sayın hocam Prof. Dr. Atilla ATALAY'a, tez hocam Doç. Dr. Ahmet AKER'e ve ayrıca Doç. Dr. Öge ÇETİNKAYA'ya, Doç. Dr. Sevtap BAKIR'a, Yard. Doç. Salih ÇETİNKAYA'ya, bölüm arkadaşlarım araştırma görevlileri Dr. Erbil ARGUNHAN, Kenan ÇELİK ve Yavuz SİLİĞ'e teőekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

1.	GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.	GENEL BİLGİLER	3
2.1.	Kolinesterazlar	3
2.2.	Sağlıklı Bireylerdeki ChE Aktivitesi	9
2.3.	Süksametyum ve Süksametyum Duyarlılığı	11
2.4.	Plazma Kolinesteraz Varyantları	12
2.5.	Genotiplerin Özellikleri ve Genetik Varyantların Fenotiplendirilmesi	21
2.6.	Nadir Genlerin Etnik Dağılımı	24
3.	YÖNTEM ve GEREÇLER	26
3.1.	Örneklerin Toplanması ve Çalışma İçin Hazırlanmaları	26
3.2.	Gereçler	26
3.3.	Kullanılan Çözeltiler	27
3.4.	Deney İşlemi	27
4.	BULGULAR	31
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	34
6.	ÖZET	39
7.	KAYNAKLAR	40
8.	EK	45

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo I. : Kolinesteraz Tipleri	4
Tablo II. : Serum Kolinesterazında Düşük Aktiviteye Yol Açan Nedenler	6
Tablo III. : Serum Kolinesterazında Yüksek Aktiviteye Yol Açan Nedenler	7
Tablo IV. : İnsan Plazma Kolinesteraz Varyantları	20
Tablo V. : Standart Fenotiplendirme Testleriyle Yapılan Yanlış Plazma Genotiplendirmeye Örnekler	20
Tablo VI. : İngiliz Toplumunda ChE Varyantlarının Dağılımı, Süksametoniyuma Duyarlılığı ve Biyokimyasal Özellikleri	21
Tablo VII. : Değişik Toplumlarda E <sub>1</sub> <sup>a</sup> Geninin Göreceli Sıklıkları	24
Tablo VIII. : Değişik Toplumlarda E <sub>1</sub> <sup>f</sup> Geninin Göreceli Sıklıkları	25
Tablo IX. : Dibukain ve Flörür Sayıları ile Ro 2-0683 İnhibisyon Yüzdesine Göre ChE Genotipleri	31
Tablo X. : E <sub>1</sub> <sup>b</sup> E <sub>1</sub> <sup>u</sup> ve E <sub>1</sub> <sup>b</sup> E <sub>1</sub> <sup>a</sup> Serumların Aktivite ve İnhibisyon Sayıları	32
Tablo XI. : E <sub>1</sub> <sup>b</sup> E <sub>1</sub> <sup>a</sup> Serumların ChE Aktivite ve İnhibisyon Sayıları	32

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1. : Asetilkolin bromürün Kolinesteraz ile Hidrolizi	4
Şekil 2. : Asetil-β-metil kolin ve Benzoilkolin	8
Şekil 3. : Prostigmin ve Diisopropilflurofosfatın Açık Formülleri	8
Şekil 4. : Asetilkolin ve Süksametoniyum	11
Şekil 5. : Süksinilkolinin ChE ile Hidrolizi	11

## GİRİŞ ve AMAÇ

Serum kolinesteraz aktivitesinin tayini biyokimyada bir çok alanda yararlı olmakla birlikte (1-4), günümüzde bu enzim aktivitesinin tayininin temel amacı, anesteziye yaygın olarak kullanılan ve kısa etkili bir kas gevşeticisi olan süksametyuma (süksinildikolin, skolin) bağlı uzamış apne periyodu riski taşıyan bireylerin belirlenmesidir (5-9).

Serum kolinesteraz aktivitesi; üremi, şok, anemi, tüberküloz, kanser, malnütrisyon, kaşeksi, kronik karaciğer hastalıkları, organik fosforlu insektisidlerle olan intoksikasyonlarda ve hamilelikte düşüktür (6,9). Normal koşullarda enzimin normal (usual) formu ile 3-4 dakikada gerçekleşen süksametyumun hidrolizi, bu tür hastalıklar nedeni ile düşük aktiviteye sahip bireyler ve genetik olarak enzimin atipik şeklini taşıyan kişilerde yavaşlar ya da hiç gerçekleşemez. Dolayısıyla, bu bireylerde 3-4 saate ulaşabilen apne periyodları gelişir (10-14). Bu durum, hastayı riske sokar ve özel aletlerle müdahaleyi gerektirir (15). Böyle kişilerin önceden tesbit edilerek, süksametyum uygulanmaması çok önemlidir. Ayrıca, diğer aile bireylerinin de taranarak, duyarlı kişilerin saptanması gerekmektedir. Günümüzde gelişmiş toplumlarda, enzimin atipik şekillerini taşıyan kişilere verilen özel kartlarla, anesteziistler bu duruma karşı uyarılmaktadır (16). Bu amaçla, İngiltere ve Danimarka'da kolinesteraz hizmet büroları kurulmuştur (17).

Yaptığımız literatür taramasında, ülkemizde kolinesteraz varyantları ile ilgili olarak 1967'de yapılan bir çalışma dışında bir araştırmaya rastlanmamıştır (18). Bu

çalışmadaki amacımız, Türk toplumunda psödokolinesteraz varyantlarının görülüş sıklığı ile ilgili bilgilere bir katkı sağlamaktır. Ayrıca, tesbit edilen hassas kişilerin ve hekimlerin bu konuda uyarılması, dolayısıyla da insan sağlığının korunması bir diğer amacımızdır.



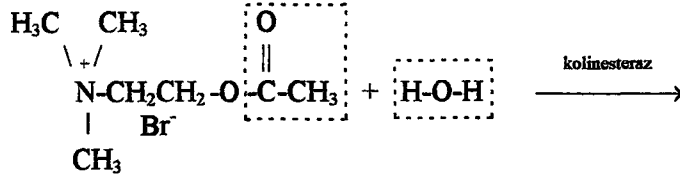
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kolinesterazlar

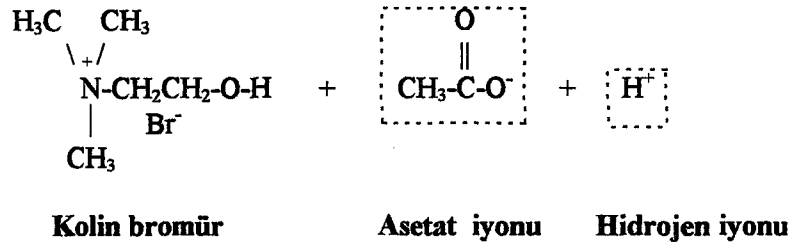
Kolinesterazlar, kolin esterlerini hidroliz ederek, kolin ve ilgili organik asitlerin oluşmasına neden olan enzimlerdir. İnsanda iki farklı kolinesteraz enzimi tanımlanmıştır. Bunlardan ilki, büyük fizyolojik önemi nedeniyle önceleri gerçek kolinesteraz olarak adlandırılan *Kolinesteraz I* veya sistematik ismiyle *acetylcholine acetyl hidrolase (E.C.3.1.1.7)*, (AChE)'dir. Eritrositlerde, akciğerde, dalakda, sinir uçlarında ve beynin gri maddesinde bulunur. Sinir uçlarından salınan ve sinir impulsunun sinapstan geçişine aracılık eden asetil kolinin hızlı hidrolizinden sorumludur. Asetilkolinin parçalanması sinirin depolarizasyonu için gereklidir.

Diğer kolinesteraz, *kolinesteraz II* veya *acylcholine acylhidrolase (E.C.3.1.1.8)*, (ChE)'dir. Sıklıkla *serum* veya *plazma kolinesterazı*, *psödokolinesteraz* veya *benzoil kolinesteraz* olarak da adlandırılır. Karaciğer, pankreas, kalp, beynin beyaz cevheri ve plazmada bulunmasına karşın, kesin biyolojik rolü henüz bilinmemektedir (10,19-23). Klinik açıdan serumdaki düzeyinin saptanması yararlı olan enzim budur.

Her iki kolinesterazın katalize ettiği reaksiyon tipi aşağıda gösterilmiştir (20) (Şekil 1).



**Asetilkolin bromür**



Şekil 1. Asetilkolin bromürün kolinesteraz ile hidrolizi.

Tablo I'de her iki enzimin özellikleri gösterilmektedir (22).

**Tablo I. Kolinesteraz Tipleri.**

	<i>Plazma</i>	<i>Eritrosit</i>
<i>Adı</i>	Psödokolinesteraz (Benzoilkolinesteraz)	Gerçek kolinesteraz (Asetilkolinesteraz)
<i>Lokalizasyonu</i>	Sitozol Plazma	Doku mikrozoamları Sinir ve kas Eritrosit
<i>Heterojenite</i>	Birçok esterazlar Birçok izoenzim	Bir tek enzim Tek bir varyant bildirilmiş.
<i>Doğal Substratlar</i>	Yağ açıl esterleri Aromatik esterler	Asetilkolin
<i>Test Substratları</i>	Asetiltiokolin Bütiriltiokolin Benzoilkolin Süksinilkolin	Asetil tiokolin Metakolin (asetil-β-metilkolin)

### 2.1.1. Biyosentez

Psödokolinesteraz karaciğerde ve sadece fonksiyonel karaciğer hücreleri tarafından sentezlenen, tetramerik bir sialoglikoproteindir (19,20,22,24). Her biri birer aktif katalitik bölgeye sahip dört benzer alt birimden oluşmuştur. Alt birimler non-kovalan, hidrofobik ve disülfid bağlarıyla bir arada tutulmaktadır (22). 574 aminoasitten oluşan alt birimin sentezini 3. kromozomdaki ChE-1 lokusu kontrol etmektedir (25,26). Tetramerin molekül ağırlığı 342.000 Dalton'dur. Elektroforetik olarak  $\alpha_2$  globülinler ile birlikte hareket etmektedir (27).

Kronik karaciğer hastalıklarında psödokolinesteraz aktivitesi ile serum albümin düzeylerindeki azalma arasında bir paralellik bulunur. Ancak, her iki protein de karaciğerde sentezlenmelerine karşın, sentezleri birbirine bağımlı değildir. Her ikisi de ayrı ayrı karaciğer fonksiyon indeksi olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, psödokolineströzün karaciğer sentez kapasitesi hakkında bilgi verebilmesi için, kişinin bazal değerinin önceden biliniyor olması gerekmektedir (22,28). Dolayısıyla da bu amaçla kullanılması pek rağbet görmemiştir. Hipoalbüminemi ile artmış ChE aktivitesinin birarada bulunduğu tek istisnai durum, nefrotik sendromdur (28).

Serum kolinesteraz aktivitelerini etkileyen nedenler Tablo II ve III'de gösterilmektedir (28).

**Tablo II. Serum Kolinesterazında Düşük Aktiviteye Yol Açan Nedenler.**

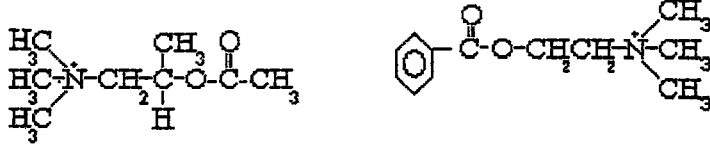
<b>Tip</b>	<b>Neden</b>
<b>Kalıtsal eksiklikler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nadir kolinesteraz varyantları</li> </ul>
<b>Fizyolojik varyanslar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hamileliğin 3. trimestrını</li> <li>• Yenidoğan ve süt çocukluğu</li> </ul>
<b>Kazanılmış hastalıklar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Karaciğer hastalıkları (akut hepatit ve karaciğer metastazları)</li> <li>• Miyokard İnfarktüsü</li> <li>• Kollajen hastalıkları (progressif muskuler distrofi, konjenital miyotoni, dermatomyozit)</li> <li>• Hiperpreksi</li> <li>• Tüberküloz</li> <li>• Akut enfeksiyonlar</li> <li>• Karsinomalar</li> <li>• Kronik debilizan hastalıklar</li> <li>• Cerrahi şok</li> <li>• Kronik anemiler</li> <li>• Üremi</li> <li>• Malnütrisyon</li> <li>• Mixödem</li> </ul>
<b>İatrojenik Nedenler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• X-ray terapi</li> <li>• Anti-kanser ilaçlar</li> <li>• Monoamin oksidaz inhibitörleri</li> <li>• Kontraseptif ilaçlar</li> <li>• Ekotiyopat iodyür</li> <li>• Propanidid</li> <li>• Neostigmin</li> <li>• Klorpromazin klörür</li> <li>• Pankuronyum</li> <li>• Organik fosforlu insektisidler</li> <li>• Yanıklar</li> <li>• Siklofosfamid</li> <li>• Ekstrakorporal sirkülasyon</li> <li>• Romatizmal ateş</li> <li>• Tifus</li> <li>• Tetanus</li> <li>• Kwashiorkor</li> <li>• Epilepsi</li> </ul>

**Tablo III. Serum Kolinesterazında Yüksek Aktiviteye Yol Açan Nedenler.**

Tip	Neden
Kalıtsal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elektroforetik varyantlar C<sub>5</sub>+</li> <li>• Nietlich veya Cynthiana varyantı</li> </ul>
Kazanılmış	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obesite</li> <li>• Hiperlipemi</li> <li>• Nodüler guatr</li> <li>• Psöryazis</li> <li>• Esansiyel hipertansiyon</li> <li>• Tirotoksikoz</li> <li>• Nefroz</li> <li>• Astım</li> <li>• Anksiyete</li> <li>• Alkolizm</li> <li>• Şizofreni</li> </ul>

### 2.1.2. Substrat Özgüllüğü

Gerek kolinesteraz ve gerekse psödokolinesteraz, bir kısım substratlara karşı özgüllük farklılıkları gösterdikleri halde, diğer bir kısım substratlara olan davranışları aynıdır. Asetilkolin her iki enzim tarafından hidrolize edilmesine karşın, enzimlerin bu substrata karşı olan ilgileri farklıdır ve yüksek substrat derişimleri AchE'ı inhibe ederken, ChE'ı inhibe etmemektedir. Serum kolinesterazı eritrositteki enzimin aksine, propionil ve bütirilkolini ve bunların tiokolin analoglarını hidrolize etmektedir. Yine, serum kolinesterazı benzoilkolini hidrolize ederken, asetil-β-metil-kolini veya karşı gelen thio analogunu hidrolize etmez. Eritrosit enzimi ise asetil-β-metil-kolini hidrolize ederken, benzoilkolini hidrolize etmez. Serum kolinesterazı, enzim aktivitesinin ölçümünde substrat olarak kullanılabilen non-kolin esterleri de hidrolize eder (19,20).

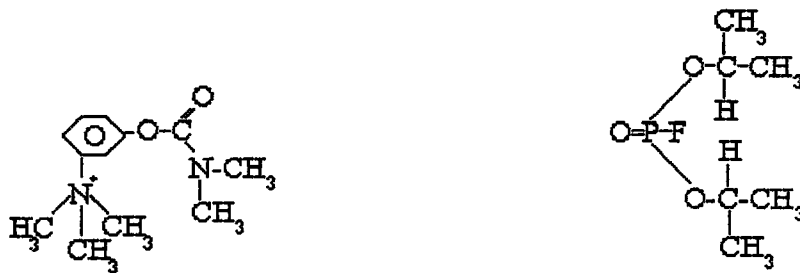
*Asetil-β-metilkolin**Benzoilkolin*

Şekil 2. Asetil-β-metilkolin ve benzoilkolin.

Her iki enzim, prostigmin ve fizostigmin alkaloidleri tarafından inhibe edilir. Bu alkaloidlerin her ikisi de yapılarında kolinde de olduğu gibi kuaterner nitrojen içerirler (Şekil 3) ve tipik kompetatif ChE inhibitörleridir. Enzim yüzeyindeki bağlanma bölgesi için asetilkolinin kolin kalıntısı ile yarışa girerler.

Yine her iki enzim diizopropilflurofosfat (Şekil 3) gibi bazı organik fosfor bileşikleri tarafından tersinmez olarak, inhibe edilir. Fosforil grubu normalde açıl grubunun bağlandığı enzim bölgesine çok sıkı bağlanarak, asetilkolinin bağlanmasını engeller.

Her iki enzim morfin, fenotiazinler, pirofosfat, safra tuzları, sitrat, florür ve boratlar gibi başka bileşikler tarafından da inhibe edilir<sup>(20)</sup>.

*Prostigmin**Diisopropilflurofosfat*

Şekil 3. Prostigmin ve Diisopropilflurofosfatın açık formülleri .

### **2.1.3. Fizyolojik Rolü**

Serum kolinesterazının kesin fizyolojik rolü henüz açıklanmamış olmakla birlikte (8,19,22,29), yavaş sinir iletiminde, lipid metabolizmasında, hidrolize edilebilir kolinerjik ajanların kontrolünde ve plazmadaki serbest kolin derişiminin otheregölasyonunda rol oynadığı ileri sürölmektedir. Bunların her biri deneysel olarak desteklenmekle birlikte, yeteri kadar doyurucu bulunmamıştır (19,30).

### **2.1.4. Yarı Ömür**

Enzim defektli bireylerde plazma transfüzyonu veya saf kolinesteraz injeksiyonu sonrasında yapılan çalışmalarda enzimin muhtemelen 8-12 günlük bir yarı ömüre sahip olduğu gösterilmiştir (28).

### **2.1.5. Stabilite**

Serum veya plazma enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma olmadan -20°C'de birkaç yıl saklanabilir (19,30,31). Serum veya plazmanın tekrar tekrar dondurulup çözölmesinin, aktivite kaybına yol açmadığı bazı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (31). Ancak, diğer bazı araştırmacılar tarafından aksi ifade edilmektedir (19). Kan bankalarındaki kanlar ChE aktivitelerinin %40'ını korurlar. Rekonstite plazmalar için de bu oran geçerlidir (19). Serum veya plazma, aktivite kaybına uğramadan +4°C'de bir kaç hafta (28) saklanabilmesine karşın, bu sürenin bir haftayı aşmaması önerilmektedir (30).

## **2.2. Sağlıklı Bireylerdeki ChE Aktivitesi**

Normal sağlıklı yetişkinlerde, yaş ve cinsiyetin enzim aktivitesine etkileriyle ilgili çelişkili bilgiler mevcuttur. Araştırmacıların bir kısmı yaş ve cinsiyetin herhangi

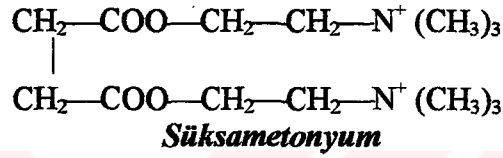
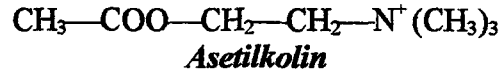
bir etkisini gözleyemezken, diğeri pozitif ya da negatif bir etki gözlemiştir (32). Lepage ve Brock'a göre vücut ağırlığı, boy, cinsiyet ve genetik polimorfizm yetişkindeki enzim aktivitesine etki eden başlıca etmenlerdir (25,26). Yaş ve cinsiyete bağlanan farklılıklar kadınlardaki hormonal durum ile ilişkilidir. Seksüel olgunluk enzim aktivitesinde kadınlarda erkeklere göre anlamlı bir düşüşe neden olmaktadır. Menapozla birlikte kadınlardaki enzim aktivitesi de artış göstererek, erkekteki düzeyine ulaşmaktadır. Kolinesteraz düzeyindeki bu artışın nedeni hepatik sentezi azaltan sex hormonlarının azalması olabilir. Erkeklerde enzim aktivitesini belirleyen ana faktörler, genetik polimorfizm ve obesitenin derecesi iken, kadınlarda sırasıyla, hormonal durum (menstruel siklus / menopoz), genetik polimorfizm ve oral kontraseptiflerin kullanımınıdır. Östrojen içeren oral kontraseptifler ChE aktivitesinde düşüşe neden olurlar. Bunun nedeni, muhtemelen hepatik ChE sentezinin steroide bağlı baskılanmasıdır (2).

Süt çocukluğu ve çocukluk döneminde ChE aktivitesinde ilginç değişiklikler olmaktadır. Doğumda ChE aktivitesi, erişkinlere göre %50 daha düşüktür. 3-5 yaş civarında aktivitede ortaya çıkan artış 5. yaştan sonra düşmeye başlar ve bu düşüş pubertede yetişkin değerine ulaşana dek sürer (19).

Gebelikte ChE seviyeleri 10. haftadan itibaren düşmeye başlar. Normal erişkin değerinin %24'ü kadar olan bu düşüş post-partum devrede de bir süre daha devam eder (28)

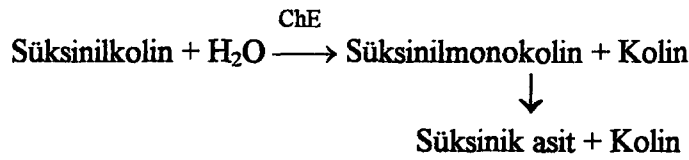
### 2.3. Süksametonyum ve Süksametonyum Duyarlılığı

Süksametonyum, 1951’de Thesleft tarafından klinik kullanıma sokulan, kısa etki süreli ve depolarizan tipte bir kas gevşeticisidir (14,33). Yapısı bir nörotransmitter olan asetilkoline benzer (20) (Şekil 4).



Şekil 4: Asetilkolin ve süksametonyum.

Süksametonyum nöromusküler bileşkedeki reseptörlerin bağlanma yerleri için asetilkolin ile yarışır (22). Nöromusküler blok oluşturarak, kas gevşemesini kolaylaştırması nedeniyle, endotrakeal entübasyonda yaygın olarak kullanılmaktadır (9,14,20,22). İntravenöz olarak, 20-100 mg’lık olağan dozunun enjeksiyonundan sonra oluşan apne, ilacın ChE tarafından hızlı hidrolizi nedeniyle yalnızca 3-4 dakika sürmektedir (10). Plazmadaki hidroliz 2 aşamada olmaktadır (Şekil 5). İlaç önce süksinilmonokoline ve bunu takiben de 6-7 kez daha yavaş bir hızla süksinik asit ve koline dönüştürülür (34,35).



Şekil 5. Süksinilkolinin ChE ile hidrolizi.

Hastaların küçük bir kısmında ise ilacın yıkımı yeteri kadar hızlı olmaz ve bu hastalar uzamış bir apne periyoduna girerler. Bu hastalar ilacın diğer yollardan eliminasyonu sağlanıncaya dek, mekanik ventilasyona gereksinim duyarlar (20). Bu tür olguların çoğunda bu durum enzimin genetik varyantlarına bağlı olmakla birlikte, karaciğer yetmezliği, organik fosfor intoksikasyonu, anti-ChE ilaçlar (neostigmin, takrin, hexaflurenyum, propanidid), ekotiyopat gibi kolinesterazi yıkan ilaçlar ya da östrojen gibi enzim aktivitesini azaltan patolojik nedenlere de bağlı olabilmektedir (9,17,35).

#### 2.4. Plazma Kolinesteraz Varyantları

Bir bireyin serumundaki ChE tipi 2 allelik, otozomal, ko-dominant gen ile belirlenmektedir. Bu gen 3. kromozomdaki ChE1 lokusunda olup, en az 4 allelik şekilde bulunur. Bunların dışında 25 farklı biçimde daha bulunabilir. Bu 4 allelik şekil  $E_1^u$ ,  $E_1^a$ ,  $E_1^f$  ve  $E_1^s$  sembolleri ile tanımlanır (20,36).

$E_1^u$ : Usual (normal) gen.

$E_1^a$ : Atipik gen.

$E_1^f$ : Florür rezistan gen.

$E_1^s$ : Sessiz gen.

Bunlarla oluşan 10 genotip sessiz allel ( $E_1^s$ ) heterozigot formda olduğunda farkedilmediği için 7 fenotipin oluşmasını sağlar: U, UA, A, UF, F, AF ve S (32).

Ayrıca, ikinci bir E<sub>2</sub> lokusunda bulunan bir çift otozomal allel ise, elektroforetik olarak tesbit edilebilen diğer bir kolinesteraz varyantının (C<sub>5</sub><sup>+</sup>) oluşumunu belirlemektedir (37,38). C<sub>5</sub><sup>+</sup> fenotipi C<sub>5</sub><sup>-</sup> fenotipine göre normalden %30 daha fazla bir enzimatik aktiviteye sahiptir (38).

### 2.4.1. Atipik Varyant

1957'de Kalow ve arkadaşları, süksinilkoline anormal cevap veren sağlıklı kişilerin plazmalarının, anormal bir enzim veya genelde adlandırıldığı gibi ifade edilecek olursa, enzimin "*atipik varyantını*" içerdiklerini bildirmişlerdir. Teknik nedenlerle plazma ChE aktivitesi süksinilkolinden ziyade, asetilkolin veya benzoilkolin gibi test substratları ile ölçülmektedir. Normal plazma kolinesterazının test substratları ile süksinilkolini hidrolize etme yeteneği arasında bir korelasyon mevcutken, atipik varyantlarda bu söz konusu değildir. Atipik varyantın test substratını hidrolize etme kapasitesi azdır ve süksinilkolini ise hiç hidrolize etmez. Kalow ve Genest, normal ile atipik varyantların birbirinden ayırılmasında bir lokal anestezi olan dibukainin kullanılabilmesini göstermişlerdir ve dibukain tarafından benzoilkolinin hidrolizinin inhibisyon yüzdesi, "*Dibukain Sayısı*" (DS) olarak adlandırılmıştır. Dibukain normal enzimde benzoilkolinin hidrolizini %70 veya daha fazla inhibe ederken, atipik enzimi %30 ya da daha az oranda inhibe eder. Dolayısıyla, normal kolinesteraza sahip plazmanın dibukain sayısı 70 ya da daha üstü iken, atipik varyanta sahip plazmanın dibukain sayısı 30 ya da 30'un altıdır. Kalow ve Staron dibukain testi ile kişileri 3 gruba ayırmışlardır : Dibukain

sayısı 70 ve 70'in üstü olanlar, dibukain sayısı 40 ile 70 arasında olanlar ve dibukain sayısı 30 ve 30'un altında olanlar.

Dibukain sayısı 70 ve 70'in üstü olan kişiler  $E_1^u E_1^u$  genotipine sahiptirler ve plazmalarında yalnızca normal enzim bulunur. Dibukain sayısı 30 ve altında olanlar  $E_1^a$  genin homozigotudurlar ve plazmalarında yalnızca atipik enzim vardır. Dibukain sayısı 40-70 arasında olanlarda normal enzim geni ( $E_1^u$ ) ile atipik enzim geni ( $E_1^a$ ) allelik olarak bulunur ve plazmalarında bu 2 enzimin karışımı mevcuttur (36). Bunlar  $E_1^u E_1^u$  genotipli bireylerdeki ortalama enzim aktivitelerinin %75'ine sahiptirler (25).

$E_1^u E_1^u$  : normal homozigot

$E_1^a E_1^a$  : atipik homozigot

$E_1^u E_1^a$  : atipik heterozigot

Beyaz ırkda  $E_1^u E_1^a$  heterozigotluk oranı 1:25'dir.  $E_1^a E_1^a$  homozigotluk oranı ise 1:2500 olarak bulunmuştur. Atipik genin Afrika zencilerinde ve uzak doğuda nadir olduğu gösterilmiştir (36).

#### 2.4.2. Florür Rezistan varyant

Harris ve Whittaker, tıpkı dibukain gibi sodyum florürün de normal-anormal enzimlerin ayırımında kullanılabileceğini bulmuşlardır. Standart test koşullarında, psödokolinesterazın benzoilkolini hidrolizinde sodyum florür tarafından oluşturulan inhibisyon yüzdesi "*Flörür Sayısı*" (FS), olarak

adlandırılmıştır. *Flörür rezistan varyantı*, tıpkı atipik varyant gibi sodyum florür ile olan inhibisyona artmış bir direnç gösterirken, atipik varyantın tersine, dibukain ile olan inhibisyona karşı gösterdiği direnç çok daha azdır. Florür rezistan varyant normal enzim kadar olmasa da, süksinilkolini bir miktar hidrolize etme becerisine sahiptir.

Florür rezistan varyantın oluşumuna yol açan  $E_1^f$  geni, normal ( $E_1^u$ ) ve atipik genlerle ( $E_1^a$ ) alleller oluşturabilir (36). Florür rezistan varyant son derece nadir olmasına karşın, Hindistan'daki Punjabi toplumunda yüksek bulunmuştur (36,38).

Atipik ve flörid rezistan psödokolinesteraz varyantlarına yol açan mutasyonlar aktif merkezde yapısal bir değişikliğe yol açarlar ve bu varyant izoenzimler normal forma göre daha az etkili katalizörler haline dönüşürler. Varyantların hem substratlara karşı olan afiniteleri, hem de kompetitif inhibitörler olan dibukain ve florüre karşı olan afiniteleri azalmıştır. Bu durum ise genetik varyantların belirlenmelerinde çok yararlı olan karakteristik dibukain veya florür rezistansı ile ilgili özelliklerin oluşumuna yol açar (20).

### 2.4.3. Sessiz Varyant

Süksametyonuma son derece duyarlı ve plazmalarında hiç ChE aktivitesi bulunmayan sağlıklı kişilerin bulunması, yeni bir genin ( $E_1^s$ ) varlığını ortaya koymuştur. Bu gen, kolin-ester bağımlı hidrolize edebilecek fonksiyonel bir enzim üretmez (36). İmmündefüzyon ve immünelektroforez yöntemleri ile yapılan

çalışmalarda bu kişilerde normal ChE proteinine çok benzer bir protein üretildiği, dolayısıyla proteinin yokluğundan ziyade, inaktif bir protein üretiminin söz konusu olduğu gösterilmiştir.

$E_1^S$  geni normal, atipik ve florür rezistan genlerle aleller oluşturabilir.  $E_1^S E_1^S$  homozigotlarda yapılan çalışmalarda  $E_1^S$  geninin ürettiği sessiz varyantların birden fazla tipte olabileceği ve homozigotların bir kısmında normalin çok azı bile olsa, bir miktar enzim aktivitesi bulunabileceği gösterilmiştir (28,36).

$E_1^S$  geni son derece ender olmasına karşın, bazı Alaska'lı Eskimo gruplarında, Güney Afrikalılarda ve Hindistan'daki bazı gruplarda yüksek sıklıkta bulunmuştur (36).

#### 2.4.4. Diğer Varyantlar

##### 2.4.4.1. J, K ve H varyantları

Plazmalarında, değişmiş sentez ya da stabilite nedeniyle daha az molekül sayısına sahip olmalarına karşın, normal bir katalitik aktiviteye sahip 3 farklı ChE varyantı daha tanımlanmıştır. Dr. Werner Kalow'a ithafen *K varyantı* ismi verilen ilk varyantın ChE aktivitesinde %33'lük bir azalma vardır. *J varyantında* %66'lık ve *H varyantında* ise %90'lık bir azalma mevcuttur. Daha önceki genlerle aleller oluşturan genlerin denetiminde oluşmuş bulunan varyantlardır. Bu varyantlar bazı ailelerde atipik gen araştırılması yapılırken, dibukain ve R02-0683 (dimethylcarbamate of [2-hydroxy-5-phenylbenzyl] trimetil amonyum bromüd) ile normal inhibisyon değerleri göstermeyen bireylerin saptanması ile farkedilmişlerdir.

R02-0683 normal varyantı %100 inhibe ederken, atipik varyantı %0 civarında inhibe etmesi nedeniyle, dibukaine göre daha selektif bir inhibitördür. Bu nedenle bazı anormal genotiplerin belirlenmesinde daha sağlıklı sonuçlar veren bir inhibitördür.

J, K ve H varyantları normal inhibisyon özelliklerini gösterirler. Normal varyanttan inhibisyon testleri ile ayrımları ancak, atipik varyant ile birlikte buldukları zaman olabilmektedir (36,39).

K ve J varyantının homozigotluk sıklığı sırasıyla 1:65 ve 1:150.000 iken, H varyantı yalnızca 4 ailede gözlenmiştir (36).

1992'de yapılan bir çalışmada  $E_1^a E_1^k$  genotipine sahip bireylerin  $E_1^u E_1^u$  ve  $E_1^u E_1^a$  lı bireylere göre süksametonyuma daha hassas oldukları gösterilmiştir.

#### **2.4.4.2. Newfoundland varyantı**

Newfoundland'da, yalnızca bir ailede, süksinilkolini hidrolize etme yeteneği azalmış, ancak dibukain sayısı yüksek bir varyant bulunmuş ve ailenin yerleşim yerine ithafen bu isimle anılmıştır. Bu varyantın üretiminden sorumlu gen diğer genlerle alleller yapabilir (36).

#### **2.4.4.3. Yüksek aktivite varyantları**

Süksinilkoline belirgin direnç gösteren ve ChE aktivitesi normalin 3-4 katı olan bir ChE varyantı daha tanımlanmıştır. Bu varyantın dibukain sayısı ve florid

sayısı normaldir. Ancak enzimin fizikokimyasal özellikleri normal enzimden farklıdır. Artmış aktivitenin enzim moleküllerindeki artışa bağlı olduğu ve enzimin spesifik aktivitesinin normalden farklı olmadığı anlaşılmıştır. Cynthiana'daki bir ailede bulunduğundan E. Cynthiana adı ile anılır. Delbruck ve Henkel'in iki Alman ailede buldukları yüksek aktiviteli varyantın da Cynthiana varyantı ile aynı olduğu sanılmaktadır (36,40).

Krause ve arkadaşları Güney Afrika'lı bir ailede yüksek enzim aktiviteli diğer bir kolinesteraz varyantı daha tanımlamışlardır. Johannesburg adı verilen bu varyantın Cynthiana varyantından farklı yanı, yüksek aktivitesinin enzim proteinindeki konsantrasyon artışından ziyade, aktif bölge başına düşen katalitik aktivite artışından kaynaklanmasıdır. Bu varyantın dibukain ve florür sayıları normal, aktivitesi ise normalin 2 katı kadardır (36).

Farklı varyantlarla ilgili arayışlar veya bilinen varyantların daha iyi tanınabilmesi arayışları değişik inhibitörlerin kullanımını gündeme getirmiştir. Bu amaçla üre (41), sodyum halidler, formaldehid, tiroksin, n-butanol, NaCl ve süksinildikolin kullanılabilir. Araştırmacılar kendi seçimlerine göre bu inhibitörleri kullanmışlardır. Das ve Liddel substrat olarak bütiril tiokolini, inhibitör olarak da n-butanol ve R02-0683'ü kullanmıştır. Dietz ve arkadaşları substrat olarak propionil tiokolini ve inhibitör olarak dibukain ve sodyum florürü kullanmışlardır. Mc Comb substrat olarak o-nitrofenil butiratu ve inhibitör olarak da süksinil dikolini, Garry ise bütiril tiokolini substrat ve sodyum florürü inhibitör olarak tris ve fosfat tamponlarda ayrı ayrı kullanmıştır (19,42). Bununla birlikte, substrat olarak

benzoilkolin ve inhibitör olarak ise dibukain ve sodyum florürün kullanıldığı klasik sistem önerilmektedir (19).

### **2.4.5. Varyantların Moleküler Genetik Teknikler İle Belirlenmesi**

Geçen 30 yıl boyunca plazma ChE varyantlarını belirlemek için kullanılan dibukain, florür, R02-0683 gibi inhibitörler ve plazma ChE düzeyinin değişik substratlar kullanılarak ölçülmesi gibi geleneksel testler, varyantların çoğunun ayırımında pek yeterli olmamıştır. Ailede bir atipik varyant olmadıkça ve geniş aile taraması yapılmadıkça, bu testlerle normal genotipe sahip bir bireyin sessiz, florid, J, K, H ve Newfoundland varyantlardan birisinin taşıyıcısı olup olmadığını söylemek çok güç ve bazen de olanaksızdır. Süksinilkoline karşı uzamış cevap vermiş olan bazı bireylerin geleneksel testlerle homozigot normal plazma ChE geni taşıyıcısı olarak sınıflandırılmış olmaları, henüz tanımlanmamış plazma ChE varyantlarının olası varlıklarını düşündürmektedir. Son birkaç yılda plazma ChE'ı ve geni moleküler genetik yöntemlerle incelenmeye alınmış ve değerli bilgiler elde edilmiştir.

Bu çalışmalardan elde edilen verilere göre ChE geni 3. kromozomda bulunmaktadır ve tek bir kromozomal lokusa sahiptir. ChE varyantlarının tümü bu tek genin mutasyonları ile oluşmaktadır.

1991'de La Du ve arkadaşları ChE genindeki DNA yapısal defektleri sonucu oluşan 12 varyant bildirmişlerdir: atipik varyant, 2 florür rezistans varyant,

6 sessiz varyant, H varyantı, J varyantı ve K varyantı. Bu araştırmacılar bu allellerin dokuzunun nükleotid değişikliklerini yayınlamışlardır (36) (Tablo IV).

**Tablo IV. İnsan Plazma Kolinesteraz Varyantları.**

Bilinen ismi	Fenotipi	Aminoasit değişikliği	DNA değişikliği
Usual	Normal	Yok	Yok
Atipik	Dibukain rezistan	70 Asp → Gly	nt 209 (GAT → GGT)
Sessiz-1	Sessiz, aktivite yok	117 Gly → çerçeve kayması	nt 351 (GGT → GGAG)
Sessiz-2	Sessiz, aktivite yok	6 Ile → çerçeve kayması	nt 16 (ATT → TT)
Sessiz-3	Sessiz, aktivite yok	500 Tyr → stop	nt 1500 (TAT → TAA)
Florid-1	Florür rezistan	243 Thr → Met	nt 728 (ACG → ATG)
Florid-2	Florür rezistan	390 Gly → Val	nt 1169 (GGT → GTT)
K varyantı	K polimorfizmi	539 Ala → Thr	nt 1615 (GCA → ACA)
H varyantı	H polimorfizmi	142 Val → Met	nt 424 (GTG → ATG)
J varyantı	J polimorfizmi	497 Glu → Val	nt 1490 (GAA → GTA)
		539 Ala → Thr	nt 1615 (GCA → ACA)

\* nt: nükleotid

Tek bir plazma kolinesteraz geni birden çok mutasyona uğrayabilir. Böyle mutasyonların ender olmadığı ve bazı plazma ChE varyantlarının çoklu mutasyonlarla oluştuğu gösterilmiştir (36) (Tablo V).

**Tablo V. Standart Fenotiplendirme Testleriyle Yapılan Yanlış Plazma Kolinesteraz Genotiplendirmeye Örnekler.**

Aminoasitlerin etkilenmesi			
Fenotipi	Genotipi	Birinci zincir	İkinci zincir
UU	KK	539 Ala → Thr	539 Ala → Thr
UU	UK	Normal	539 Ala → Thr
UU	US	Normal	117 Gly → Çerçeve kayması
UU	UF	Normal	390 Gly → Val
AA	AK / AK	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr
AA	A / AK	70 Asp → Gly	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr
AA	AK / S	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr	117 Gly → Çerçeve kayması
AK	AK / K	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr	539 Ala → Thr
AU	AK / U	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr	Normal
AF	AK / F	70 Asp → Gly ve 539 Ala → Thr	390 Gly → Val

Fenotiplendirme dibukain, florür ve R02 sayılarına göre yapılmıştır.

## 2.5. Genotiplerin Özellikleri ve Genetik Varyantların Fenotiplendirilmesi

Bugün çeşitli çalışmalarla saptanan 4 allelik gen ( $E_1^u$ : normal gen,  $E_1^a$ : atipik veya dibukain rezistan gen,  $E_1^s$ : sessiz gen ve  $E_1^f$ : florür rezistan gen), karakteristik özellikleri Tablo VI'da verilen 10 farklı genotipin oluşmasına yol açar (28).

Bir serum veya plazmanın fenotipi belirlenirken, o serumun dibukain ve florür sayılarından yararlanılır. Bulunan değerlerle Tablo VI'da olduğu gibi referans değerler karşılaştırılarak, plazmanın fenotipi ortaya konur.

**Tablo VI. İngiliz Toplumunda Kolinesteraz Varyantlarının Dağılımı, Süksametyonum Duyarlılığı ve Biokimyasal Özellikleri.**

Genotip	Relatif Enzim Aktivite Ortalaması	Dibukain Sayısı		Flörür Sayısı		Frekans	Süksametyonum Duyarlılığı
		Ortalama	Range	Ortalama	Range		
$E_1^u E_1^u$	100	80	77-83	61	56-56	%96	1:2500. Orta derecede hassas.
$E_1^u E_1^s$	50	80	77-83	61	56-68	1:190	1:1000. Orta derecede hassas.
$E_1^u E_1^f$	86	74	70-83	52	46-54	1:200	1:100. Orta derecede hassas.
$E_1^u E_1^a$	77	62	48-69	50	44-54	1:25	1:500. Orta derecede hassas.
$E_1^a E_1^f$	59	53	45-59	33	28-39	1:20000	Tümü orta derecede hassas.
$E_1^s E_1^f$	74	67	64-69	36	34-43	1:154000	Tümü orta derecede hassas.
$E_1^s E_1^s$	37	67	64-69	36	34-43	1:150000	Tümü orta derecede hassas.
$E_1^a E_1^a$	43	21	8-28	19	10-28	1:2000	Tümü çok hassas.
$E_1^a E_1^s$	22	21	8-28	19	10-28	1:29000	Tümü çok hassas.
$E_1^s E_1^s$	Enzim aktivitesi ölçülemeyecek kadar düşük veya hiç yok.					1:100000	Tümü çok hassas.

Saptanan fenotiplerin genotipik olarak kesinleştirilebilmeleri için, enzim aktivitesinin saptanmasından başka geniş aile çalışmaları yapılmalı ve sessiz genin bulunup, bulunmadığına bakılmalıdır.

Tablodaki değerler çok kesin sınırlara sahip olduklarından, bu sınıflara sokulamayan değerler için çalışmanın farklı metodlarla tekrarlanması, daha geniş bir aile çalışmasının yapılması ve yeniden alınmış kan örneğinden analizin tekrarı düşünülmelidir(28).  $E_1^sE_1^s$  homozigotlarında sessiz genin tanısı, hiç/çok az enzim aktivitesi bulunması ile konulabilir. Ancak, sessiz gene sahip bir heterozigotun teşhisi güçtür. Aile çalışmaları bu konuda yardımcı olabilir (28,43). Literatürdeki bilgilere göre  $E_1^uE_1^s$  heterozigotları  $E_1^uE_1^u$  genotipine sahip bireylerin ortalama aktivitelerinin neredeyse %70'ine yakın aktiviteye sahiptir. Sessiz gene sahip heterozigotların sahip olmaları beklenen %50'lik aktivitenin üzerinde bir aktiviteye sahip olmalarının yanında tüm genotiplerin aktivitelerinin de çok geniş bir dağılım aralığında buldukları gösterilmiştir (22,28,44). Düşük aktivite nedeniyle, sessiz gene sahip olup olmadığı araştırılan bir kişide Tablo I'de belirtilen hastalıkların araştırılması yapılmadan buna karar verilmemelidir. Tablo III'deki nedenlerle yüksek aktiviteye sahip olması gereken bireylerde düşük aktivitenin bulunması bize sessiz genin varlığını düşündürebilir.

Süksametyuma duyarlı olduğu bilinen kişilerin genetik olarak yakınları (ebeveynleri, çocukları, ikiz eşleri) ChE varyantları yönünden araştırılmalıdır. Bu tür yakınların %13'ünün bu ilaca karşı duyarlı oldukları gösterilmiştir.

Biyokimyasal olarak süksametyuma duyarlı oldukları belirlenmiş kişilere ve yakınlarına uyarıcı kartlar hazırlanması yaşamsal önem taşır. Danimarka ve İngiltere’de bu tür problemlere çözüm getiren referans merkezler kurulmuştur (28).

Heterozigotlara ( $E_1^uE_1^a$ ) uyarı kartlarının verilir, verilmemesi gereği tartışmalıdır. Aile taramaları sırasında bulunan heterozigotlara yalnızca bunların ChE aktiviteleri ortalamanın %50 altında ise kart verilmektedir. Danimarka’daki Kolinesteraz Araştırma Ünitesi’nde ise nadir ChE genlerinden birine sahip tüm bireylere homozigot/heterozigot olmalarına bakılmaksızın, uyarı kartları verilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmaların çoğu,  $E_1^uE_1^a$  heterozigotlarının çoğunluğunu kadınların oluşturduğu ve bu kadınların da çoğunun elektif sezeryan geçirdiklerini ortaya koymuştur. Süksametyum sezeryan operasyonlarında sık kullanılan bir ajandır (8). Hamilelik sırasında ChE aktivitesindeki düşme nedeniyle, bu dönemdeki kadın heterozigotlar süksametyuma duyarlı hale gelirler. Dolayısıyla premenapozal dönemdeki  $E_1^uE_1^a$  genotipine sahip kadınlara uyarı kartları verilmesi yararlı olur. Erkek heterozigotlara ChE aktiviteleri düşük veya süksametyum duyarlılığına ait bir özgeçmiş olmadıkça uyarı kartları verilmemektedir.

Hamile heterozigotlarda dikkatli olunmayı gerektiren başka bir durum daha söz konusudur. Sezeryan öncesi süksametyum verilen bir heterozigot kadının bebeğinin belirgin solunum sıkıntısının bulunduğu farkedilmesi üzerine yapılan araştırmada, bebeğin atipik gen bakımından homozigot olduğu bulunmuştur. Bu bulgu, süksametyumun plasenta bariyerini geçtiğini göstermektedir. Normal

koşullarda, süksametonyumun plasenta bariyerini geçtiğini göstermektedir. Normal koşullarda, süksametonyumun yağdaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle, klinik dozda verildiğinde süksametonyum plasentayı geçemez. Ancak, atipik bir homozigotta normal klinik dozda verilen süksametonyum çok yavaş hidrolize olacağı için, göreceli olarak aşırı doz haline gelir ve plasentayı geçerek, yenidoğanda uzamış bir apneye yol açabilir (28).

## 2.6. Nadir Genlerin Etnik Dağılımı

$E_1^a$  geninin sıklığı ile ilgili olarak çok geniş çalışmalar mevcuttur. Ancak  $E_1^f$  geni için aynı şeyleri söylemek olası değildir (19).

Bu iki genin gen frekansları ile ilgili bilgiler aşağıda gösterilmektedir (Tablo VII ve Tablo VIII) (19).

**Tablo VII. Değişik Toplumlarda  $E_1^a$  Geninin Göreceli Sıklıkları.**

Yüksek frekans (0.021-0.034)	Orta frekans (0.0081-0.019)	Düşük frekans (0.0000-0.0053)
Çekoslovak	Beyaz Amerikan	Fas Yahudisi
Yahudi	Kanadalı	Japon
İtalyan	İngiliz	Filipinli
Irak Yahudisi	Alman	Avustralya yerlileri
İran Yahudisi	Portekizli	Kuzey Amerikan yerlisi
	Yunan	Eskimo
	Brazilyalı	Fturi pigmeleri
	İranlı	Seattle zencileri
	Finli	Babinga pigmeleri
	Bulgar	Zimbabve Afrikalıları
		Mozambik Afrikalıları

**Tablo VIII. Değişik Toplumlarda  $E_1^f$  Geninin Göreceli Sıklıkları.**

Yüksek (0.030-0.129)	Orta (0.003-0.016)	Düşük (0.000-0.003)
Mozambik Afrikalı	Alman	Avustralya yerlileri
Zimbabve Afrikalı	Japon	Avustralya Çinlileri
Malawi Afrikalı	Kanadalı	Pakistanlı
Zambiya Afrikalı	İngiliz	Eskimo
Punjabi	Yunan	Alman (Hessia)
Prag (Çekoslovakya)	İzlandalı	Güney Amerika yerlileri
	Gambialı	Brazilya yerlileri
	A.B.D. beyazları	
	Portekizli	
	Avustralya beyazları	
	Bulgar	
	Hintli	

### **3. YÖNTEM ve GEREÇLER**

#### **3.1. Örneklerin Toplanmaları ve Çalışma İçin Hazırlanmaları**

Bu çalışmada, yaşları 18 ile 50 arasında değişen, her iki cinse ait 202 (102 kadın ve 100 erkek) kan örneği kullanıldı. Kan örnekleri, Eylül, 1994 -Ocak, 1995 tarihleri arasında C.Ü. Tıp Fakültesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi polikliniklerine veya Mediko-Sosyal polikliniğine başvuran kişiler ile C.Ü. Tıp Fakültesi öğrencileri ve C.Ü. personeli olan ve kan vermeye razı sağlıklı kişilerden alındı. Denekler seçilirken, enzim aktivitesini değiştirebilecek bir ilacı kullanmıyor olmalarına, enzim aktivitesini etkileyecek bir hastalığın olmamasına ve kadın deneklerin, oral kontraseptif kullanmıyor olmalarına ve hamile olmamalarına dikkat edildi.

Alınan kan örnekleri 3.000 rpm'de (2.000 g'de) Heraus-Minifuge 2 santrifüjü ile 30 dakika santrifüj edildikten sonra, ayrılan serumlar cam tüplere alındı. Ölçümlerin çoğu taze serumlarda yapıldı. Hemen çalışılmayan serumlar çalışma anına kadar derin dondurucuda -25°C'de saklandı. Atipik enzime sahip serumlarda veya şüpheli serumlarda testler en az iki kere yinelendi.

#### **3.2. Gereçler**

1. Terazi (Bosch S-2000, Cahn 23).
2. Balon joje (50, 100, 250, 500, 1000 ml).
3. Pipet (0.1, 1.0, 10.0 ml).
4. Santrifüj (Heraus Minifuge 2).

5. Spektrofotometre (Hitachi 220).

### 3.3. Kullanılan Çözeltiler

1. Fosfat tamponu, 133 mmol/l, pH=7.4

19.19 g.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2  $\text{H}_2\text{O}$  ve 3.48 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 lt çift distile suda çözülerek hazırlandı.

2. Benzoilkolin klorür çözeltisi, 200  $\mu\text{mol/l}$ .

2.44 mg benzoilkolin klorür 50 ml çift distile suda çözüldü. Çözelti her seferinde taze olarak hazırlandı.

3. Dibukain hidroklorür çözeltisi, 40  $\mu\text{mol/l}$ .

15.2 mg dibukain hidroklorür 1lt çift distile suda çözüldü.

4. Florür çözeltisi, 200  $\mu\text{mol/l}$ .

2.1 mg sodyum florür 250 ml çift distile suda çözüldü.

### 3.4. Deney İşlemi (9)

#### 3.4.1. Kullanılan Yöntemin İlkesi

Psödokolinesteraz aktivitesi, spektrofotometrik olarak Kalow ve Lindsay yöntemi ile saptandı. Bu yöntemde, substrat olarak benzoilkolin klörür kullanılmakta ve kaybolan substrat miktarı 240 nm'de izlenip, dakikadaki hızı  $\mu\text{mol/dak}$  olarak saptanmaktadır. Benzoilkolin 235 nm'de absorpsiyon piki göstermesine karşın, serum da aynı dalga boyunda absorpsiyon gösterdiğinden interferansı önlemek için ölçümler 240 nm'de yapılmaktadır.

Genetik varyantları saptamak için normal deney ortamına dibukain hidroklorür ve sodyum florür ayrı ayrı eklenerek, % inhibisyon değerleri bulunmaktadır.

### 3.4.2. Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Serumlar, ölçümden hemen önce 1/100 oranında fosfat tamponu ile seyreltildi. Bu amaçla 0.1 ml seruma 9.9 ml fosfat tamponu eklendi. 1 cm'lik ışık yoluna sahip test küvetine 2 ml seyreltilmiş serum, 1 ml distile su ve son olarak da 1 ml benzoilkolin klörür konuldu. Kör küvetine 2 ml seyreltilmiş serum ve 2 ml distile su konuldu. Reaksiyon köre karşı, 25°C'de ve 240 nm'de 10 dakika boyunca izlenip, absorbans değerleri birer dakika aralarla kaydedilerek, dakikadaki absorbans değişimi  $\Delta A/dak$  olarak bulundu.  $\Delta A/dak$ ; başlangıç aktivitesi olarak aktivite artışının doğrusal bölümünden hesaplandı.

	Test	Kör
Serum (1/100 seyreltilmiş)	2 ml	2 ml
Benzoilkolin klörür (200 nmol)	1 ml	—
Distile su	1 ml	2 ml

**Hesaplama:** 4 ml toplam inkübasyon karışımında 200 nmol benzoilkolin klörürün  $\Delta A$  değeri 0.33'tür.

$$\begin{aligned} \text{Serum Kolinesteraz Aktivitesi (kU/L)} &= \frac{\Delta A/\text{dak}}{0.33} \times \frac{200}{1000} \times \frac{1000}{20} \\ &= \Delta A/\text{dak} \times 30.3 \end{aligned}$$

Normal değerler: 25°C’de 0.6-1.4 kU/lt.

1 Ünite enzim, dakikada 1 µmol benzoilkolini hidroliz eden enzim aktivitesi olarak tanımlandı.

### 3.4.3. Dibukain ve Florür Sayısı Tayini

Dibukain ve florür sayılarının saptanması için aynı deney ortamına ayrı ayrı 1 ml dibukain veya sodyum florür çözeltisi eklendi ve aynı şekilde okundu.

	Test	Kör
Serum (1/100 seyreltilmiş)	2 ml	2 ml
Benzoilkolin klörür (200 nmol)	1 ml	—
Dibukain / sodyum flörür	1 ml	1 ml
Distile su	—	1 ml

Hesabı ise şu formülle yapıldı:

$$\text{Dibukain veya Florür Sayısı (\%)} = \left[ 1 - \frac{\Delta A/\text{dak inhibitörlü}}{\Delta A/\text{dak inhibitörsüz}} \right] \times 100$$

### 3.4.4. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların değerlendirilmesinde; normal ve genetik varyantlar için ortalama değerler ve standart sapmalar hesaplandı. Genetik varyantlar toplam içinde % olarak değerlendirildi. Atipik gen frekansı ko-dominant genetik sistemlerde kullanılan formül ile hesaplandı (45).

$$P_1=(2x + y)/2N$$

$$P_2=1- P_1$$

x : Homozigot allel sayısı ( $E_1^uE_1^u$ ).

y : Heterozigot sayısı ( $E_1^aE_1^u$ ).

N: İncelemeye alınan bireylerin toplam sayısı.

Çalışmamızda bulunan değerler ile diğer toplumlar için bildirilen değerlerin karşılaştırılmasında “Evren Oranı Önemlilik Testi” kullanıldı (46).

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada Sivas il merkezinde yaşayan bireyler arasından seçilen, yaşları 18-50 arasında değişen, 102 kadın ve 100 erkek toplam 202 deneğin serum kolinesteraz aktiviteleri ölçüldü. Bütün serumların dibukain ve florür sayıları saptandı. Lehman ve Liddell'in Tablo IX'daki değerleri referans alınarak genetik varyantlar belirlendi (10). Çalışmamızdaki deneklerin laboratuvar bulguları Ek 1'de sunulmuştur.

**Tablo IX. Dibukain ve Florür Sayıları ile Ro 2-0683 İnhibisyon Yüzdesine Göre ChE Genotipleri**

Genotip	Dibukain sayısı	Flörür sayısı	Ro 2-0683 İnhibisyon Yüzdesi
<b>HOMOZİGOT</b>			
$E_1^u E_1^u$	77-83	57-68	>95
$E_1^a E_1^a$	15-25	20-25	<10
$E_1^f E_1^f$	64-67	34-35	75-86
$E_1^s E_1^s$	-	-	-
<b>HETEROZİGOT</b>			
$E_1^u E_1^a$	52-69	42-55	58-76
$E_1^u E_1^f$	71-78	50-55	87-95
$E_1^u E_1^s$	77-83	57-68	>95
$E_1^a E_1^f$	47-53	31-39	47-61
$E_1^a E_1^s$	15-25	20-25	<10
$E_1^f E_1^s$	64-67	34-35	75-86

Araştırmamızdaki deneklerin serum ChE aktivitesi ile dibukain ve florür sayılarının ortalama ve standart sapma değerleri aşağıda gösterilmektedir (Tablo X).

**Tablo X.  $E_1^uE_1^u$  ve  $E_1^uE_1^a$  Serumların Aktivite ve İnhibisyon Sayıları.**

	$E_1^uE_1^u$	$E_1^uE_1^a$
<b>Örnek sayısı</b>	195	7
<b>Aktivite (Ortalama <math>\pm</math> SD), kU/Lt</b>	1.000 $\pm$ 0.027	0.796 $\pm$ 0.07
<b>Dibukain sayısı (Ortalama <math>\pm</math> SD)</b>	82.1 $\pm$ 0.2	64.0 $\pm$ 1.66
<b>Flörür sayısı (Ortalama <math>\pm</math> SD)</b>	64.4 $\pm$ 0.3	52.9 $\pm$ 1.1

Homozigot  $E_1^uE_1^u$  serumların ortalama aktiviteleri 1.000  $\pm$  0.017 kU/L, dibukain sayıları 82.1  $\pm$  0.2 ve florür sayıları 64.4  $\pm$  0.3 idi. Heterozigot  $E_1^uE_1^a$  serumların ortalama aktiviteleri 0.796  $\pm$  0.07 kU/L, dibukain sayıları 64.0  $\pm$  1.66 ve florür sayıları 52.9  $\pm$  1.1 idi (Tablo X).

Araştırmamızda  $E_1^uE_1^u$  dışında saptanan tek varyant  $E_1^uE_1^a$  idi. Bu atipik varyanta sahip bireylerin serum ChE aktiviteleri ve dibukain ile florür sayıları aşağıda gösterilmektedir (Tablo XI).

**Tablo XI.  $E_1^uE_1^a$  Serumların ChE Aktivite ve İnhibisyon Sayıları.**

<b>Aktivite (kU/L)</b>	<b>Dibukain sayısı</b>	<b>Flörür sayısı</b>
0.9090	67	53
0.8787	66	47
0.6363	55	55
0.6810	65	55
0.5454	65	52
0.8787	62	53
1.0450	68	54

Araştırmamızda 7 kişide atipik heterozigot ( $E_1^uE_1^a$ ) varyantına rastlandı ve bu total denek sayısının % 3.47'sidir. Atipik gen frekansı 0.017'dir.

Çalışmamızda saptanan atipik heterozigotluk yüzdesi değişik beyaz ırk toplumlari için bulunan yüzdelerle evren oranı önemlilik testine göre karşılaştırıldı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ).



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, Sivas il merkezinde oturan 202 kişilik bir grup, ChE polimorfizmi yönünden incelenmiştir. Bu amaçla bu kişilerin ChE aktiviteleri, dibukain ve flörür sayılarına bakılarak atipik, flörür rezistan ve sessiz gen varyantları araştırılmıştır. Böylece bu varyantların Türk toplumundaki sıklığı ile ilgili bilgilere küçük de olsa bir katkıda bulunmaya çalışılmıştır.

Araştırmamızda, yalnızca atipik varyantın heterozigot formuna rastlanmıştır ve bunlar toplam içinde %3.47'lik bir oran oluşturmuşlardır. Buna bağlı olarak, atipik gen frekansı 0.017 olarak hesaplanmıştır. Psödokolinesterazın diğer ender varyantlarına rastlanmamıştır. Bu, çalışma grubumuza dahil edilen bireylerin sayısının az olmasına bağlanabilir. Çok ender rastlanan genler olduklarından, çok daha fazla sayıda kişi içeren bir grupta yapılacak bir çalışma nadir psödokolinesteraz varyantları hakkında daha detaylı bilgiler edinmemize yardımcı olacaktır. Ayrıca, çalışmamızda kullanılan dibukain ve sodyum flörür gibi inhibitörlerin yanına başka inhibitörler de ilave edilerek daha kesin sonuçlar elde edilebilir.

İncelememiz sırasında normal inhibisyon değerleri gösteren, ancak ChE aktiviteleri düşük olan 6 kişi saptanmıştır. Düşük aktivitenin, bu kişilerin hastanemize başvurma nedeni olan primer hastalıklarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bunların yakın aile çevrelerinin taranması olanağı

bulunmadığından, sessiz gen heterozigotları olup olmadıklarını söyleyebilmemiz mümkün olmamıştır.

Çalışmamızda daha çok C.Ü. Hastahanesi ve C.Ü. Mediko-Sosyal Merkezi'ne başvuran kişiler kapsandığı için Sivas iline ya da Türk toplumuna yönelik bir genelleme yapılamamaktadır. Bununla birlikte çalışmamız, Türkiye'deki psödokolinesteraz varyantları hakkında bir örnek oluşturmaktadır.

Çalışmamızda atipik psödokolinesteraz varyantları ile ilgili olarak bulduğumuz %3.47'lik heterozigotluk oranı, daha önce çeşitli beyaz ırk toplumları için rapor edilenlerle uyumludur ( $p>0.05$ ). Kalow ve Gunn 2017 Kanadalı için %3.77, Kattamis ve arkadaşları 703 İngiliz için %3.21, 360 Yunanlı için %3.61 ve 179 Portekizli için %3.35, Altland ve arkadaşları 8314 Alman için %3.16, Whittaker 780 İngiliz için %3.21, 382 İtalyan için %4.19, Lubin ve arkadaşları 1494 ABD'li beyaz vatandaşı için %3.28, Szeinberg ve arkadaşları 4196 Avrupa'lı Yahudi için %3.55 ve David N. Propert ve arkadaşı 1224 Avustralya'lı beyaz vatandaş için %4.66 oranlarını rapor etmişlerdir (25).

Türkiye'de İ.Sayek, A.M.Karahasanoğlu ve P.Özand 1967'de 725 kişilik bir grupta yaptıkları araştırmada atipik varyant heterozigotluk yüzdesini %5.9 olarak bulmuşlardır(18). Bizim çalışmamızda bulunan oran bu orandan düşük olmakla birlikte, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Psödokolinesteraz polimorfizmi ile ilgili olarak değişik toplumlarda yapılan çalışmalar ilginç bir durumu açığa çıkarmıştır. Anormal varyantlar arasında en sık olarak atipik varyanta rastlanmakta ve  $E_1^a$  alleli en sık olarak beyaz ırkta bulunmaktadır. Atipiklik oranı diğer bütün ırklarda düşüktür. Ayrıca, tüm psödokolinesteraz varyantları zenci ırkta çok enderdir (38,47).

Avrupa ve Kuzey Amerika'daki beyaz ırk toplumlarında atipik gen heterozigotluğu ortalama %4 olarak bulunmuştur. Bu oranın farklı beyaz ırk toplumları arasında %2 (Fas Yahudileri) ile %8.5 (ekoslavakyalılar) arasında değiştiği, ancak aradaki bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (47). Buna göre, atipik varyantın ( $E_1^aE_1^a$ ) toplumdaki oranı ise 1/3.000 dolayındadır (10,14).

Flörür rezistan varyant ile sessiz varyant sıklığı hakkındaki bilgiler kısıtlı olmakla birlikte, her ikisinin de çok ender olduğu bilinmektedir. Simpson ve Hodgkin beyaz ırkdaki sessiz gen homozigotluğunu 1 ve 3-8/100.000 oranında bulmuşlardır (38). Lehman ve Liddel flörür rezistan homozigotların 1/300.000 oranında bulunduğunu ve en nadir kolinesteraz varyantı olduğu tahmininde bulunmuşlardır (48).

Simpson ve Kalow 1963'de İngiltere'de yaptıkları geniş çalışmalarda esteraz aktivitesinin genetik kontrolden ziyade, çevresel kontrol altında bulunduğu kanısına varmışlardır (17).

Psödokolinesteraz varyantlarının süksametyum duyarlılığı gösterenlerini önceden saptamak zordur. Atipik enzim bakımından homozigot ( $E_1^aE_1^a$ ) bireylerin süksametyuma son derece duyarlı oldukları bilinmektedir. Bu bireylerdeki apne periyodu 2-4 saati aşmaktadır.  $E_1^sE_1^s$  homozigotları da yüksek derecede duyarlılık gösterirken,  $E_1^fE_1^f$  varyantlarının orta derecede duyarlı oldukları saptanmıştır. Bu bireylerdeki apne periyodu 20-60 dakika dolayında sürmektedir (5).  $E_1^aE_1^f$  ve  $E_1^fE_1^s$  heterozigotlarda duyarlılık orta derecede iken,  $E_1^aE_1^s$  heterozigotlarında çok daha fazladır.  $E_1^aE_1^u$ ,  $E_1^uE_1^s$ ,  $E_1^uE_1^f$  heterozigotların süksametyum duyarlılığı göstermedikleri kabul edilmektedir. Yapılan araştırmalarda  $E_1^aE_1^u$  heterozigotlarının 1/400-1/480'inin duyarlı oldukları bulunmuştur (49). Ancak oluşan apnenin süresi 5-10 dakikayı aşmamaktadır (50).

Genotipi normal ancak, daha önce sözü edilen hastalıklar nedeniyle kolinesteraz aktiviteleri düşük olan bireylerde, süksametyum duyarlılığı nedeniyle oluşan apnenin süresinin 12 dakikayı aşmadığı gösterilmiştir (49).

Özetlersek, cerrahi operasyon sırasında süksametyum duyarlılığı nedeniyle uzamış apne periyotları geçiren hastaların genetik psödokolinesteraz varyantları yönünden araştırılması gerekmektedir. Bu işlem yakın aile çevresine de uygulanmalı ve pozitif sonuca sahip olanlar bir daha süksametyum almamaları yönünden uyarılmalıdır.

Hastahanelerin çoğunda maliyetin fazlalığı, yer darlığı veya az sayıdaki olgunun başvurusu nedeniyle bu tür hizmetler verilmemektedir. Yine bu nedenlerle

cerrahi işlemleri sırasında süksametyum alacak tüm hastaların taranması konusu da tartışmalıdır. Bu tür problemleri önleyebilmek ve standart metodoloji kullanarak yanlış sonuç verilmesini engelliyebilmek için İngiltere’de Dr. Whittaker, bölgesel kolinesteraz araştırma üniteleri kurulmasını önermiştir ( 5,17). Kendisi de Dr. Vickers ile birlikte böyle bir ünite kurarak, buraya başvuran veya bölgedeki bir çok hastahaneden süksametyum duyarlılığı nedeniyle apne periyotları geçiren kişilerden alınıp, gönderilmiş serumların enzim aktivite tayinlerini ve genotiplendirmelerini yapmışlardır. Pozitif sonuçların yakın aile taramalarını da yapmaktadırlar. Duyarlı kişiler için düzenledikleri kartlar ile anesteziistleri bu duruma karşı uyararak, bu kişilerin bir daha süksametyum almamalarını sağlamaya çalışmaktadırlar. Aynı uygulama, Danimarka Kopenhag’da Dr. Viby Mogensen ve Dr. Hanel’in 1978’de kurdukları Psödokolinesteraz Servisi’nde de yürütülmektedir (17).

Sonuç olarak, kendisinde psödokolinesteraz varyantlarından birisinin bulunduğu saptanan kişinin eğitilip bilinçlendirilmesi ve bu kişilere bu durumları ile ilgili olarak bir kart ya da bilezik verilmesi çok önemlidir.

Araştırmamızda saptamış olduğumuz gibi, ülkemizde de psödokolinesteraz varyantlarından atipik olanının ender olmadığı görülmüştür. Dolayısıyla, yukarıda adı geçen ülkelere benzer hizmetleri verebilmek için bir takım düzenlemelerin yapılmasının yararlı olacağı kanısındayız.

## ÖZET

Bu çalışmada Eylül-1994 ile Ocak-1995 tarihleri arasındaki 5 aylık süre içinde, C.Ü. Tıp Fakültesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi polikliniklerine veya Mediko-Sosyal polikliniğine başvuran kişiler ile C.Ü. Tıp Fakültesi öğrencileri ve C.Ü. personeli olan ve kan vermeye razı, sağlıklı, yaşları 18 ile 50 arasında değişen 100 erkek, 102 kadın, toplam 202 denekte psödokolinesteraz varyantlarının sıklığı araştırıldı.

Genetik varyantları belirlemek için Kalow ve Lindsay yöntemi ile deneklerin psödokolinesteraz aktiviteleri, dibukain ve flörür sayıları saptandı.

Çalışmamızda sadece atipik varyantın heterozigot formuna rastlandı. Bu toplam içinde %3.47'lik bir oran oluşturdu. Atipik varyantın gen frekansı 0.017 olarak bulundu. Bulunan atipik heterozigotluk oranının diğer beyaz ırk toplumları için bildirilenlerden farklı olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ).

Araştırmamızda saptamış olduğumuz gibi, ülkemizde de psödokolinesteraz varyantlarından atipik olanının ender olmadığı görülmüştür. Dolayısıyla, diğer ülkelerdekine benzer hizmetleri verebilmek için bir takım düzenlemelerin yapılmasının yararlı olacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. De La Huerga J., Yesinick C., Popper H.: Colorimetric method for the determination of serum cholinesterase. **Am J Clin Pathol.** 22:1126-113.1952.
2. Lepage L., Schiele F., Gueguen R., Sieat G.: Total cholinesterase in plasma: biological variations and reference limits. **Clin Chem.** 31(4):546-550, 1985.
3. Dietz A.A., Rubinstein H.M., Lubrano T.:Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionylthio-choline-dithiobis (nitrobenzoik acid) procedure. **Clin Chem.** 19(11): 1309-1313,1973
4. Venkataraman B.V., Naga Rani M.A. Andrade C., Thangam J..Improved colorimetric method for cholinesterase activity. **Indian J Physiol Pharmacol.** 37(1): 82-84, 1993.
5. Lubin A.H., Garry P.J., Owen G.M.: Apnea in an atypical-fluoride resistant ( $E^a, E^f$ ) heterozygote for serum cholinesterase. **Anesthesiology.** 39(3): 346-348,1973.
6. Oropollo A.T.: Abnormal Pseudocholinesterase Levels in a surgical population. **Anesthesiology.** 48:284-286, 1978.
7. Garry P.J.: Serum cholinesterase variants: examination of several differential inhibitors, salts and buffers used to measure enzyme activity. **Clin Chem.** 17(3): 183-191,1971.
8. Milligan K.R., Hayes T.C., Huss B.K.D., Beattie B.: Atypical plasma cholinesterase. **Anaesthesia.** 41:841-843,1986.
9. Varley H., Gowenlock A.H., Bell M. : "Enzymes". **Practical Clinical Biochemistry.** William Heinemann Medical Books Ltd, London. Vol 1: 685-770, 1980.

10. Lehman H., Liddell J.: Human cholinesterase (pseudocholinesterase): Genetic variants and their recognition. **Br J Anaesth.** 41: 235-244, 1969.
11. Abernethy M.H., George P.M., Herron J.L., Evans R.T.: Plasma cholinesterase phenotyping with use of visible-region spectrophotometry. **Clin Chem.** 32 (1): 194-197, 1986.
12. George M.D., Joyce S.L., Abernethy M.H.: Screening for plasma cholinesterase deficiency: An automated succinylcholine based assay. **Clin Biochem.** 21: 159-162, 1988.
13. Cohen J.P., Reynolds R.C., Naidl J.: A simple test for abnormal pseudocholinesterase. **Anesthesiology.** 32 (3): 281-282, 1970.
14. Putnam L.P.: Pseudocholinesterase deficiency: An additional preoperative consideration in outpatient diagnostic procedures. **South Med J.** 70 (7): 831-832, 1977.
15. Lievre K.A.: Abnormal pseudocholinesterase levels in a surgical population. **Am J Med Technol.** 46 (6): 477-478, 1980.
16. Whittaker M., Vickers M.D.: Initial experiences with the cholinesterase research unit. **Br J Anaest.** 42: 1016-1020, 1970.
17. Hunter A.R.: "Inherited abnormalities of cholinesterase: A clinical problem". Ellis (Ed). **Internal Disease and Anesthesia.** Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 127-141, 1981.
18. Sayek I., Karahasanoğlu A.M., Özand P.: pseudocholinesterases III. The presence of pseudocholinesterase variants in a Turkish population. **Turk J Pediatr.** 9 (1): 8-12, 1967.

19. Whittaker M.: Plasmacholinesterase abnormalities: Laboratory investigations. Ellis (Ed). **Internal Disease and Anesthesia**. Elsevier/ North-Holland Biomedical. Press, 104-126,1981.
20. Moss D.W., Henderson A.R.: Enzymes. Burtis C.A., Ashwood R.E. (Ed), **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. W.B. Saunders Company USA, 877-882, 1994.
21. Ryhanes R., Hanninen O.: A simple method for the measurement of blood cholinesterase activities under field conditions. **Gen Pharmacol**. 18 (2):189-191, 1987.
22. Trundle D. Marcial G.: Detection of cholinesterase inhibition. The significance of cholinesterase measurements. **Ann Clin Lab Sci**. 18 (5): 345-352, 1988.
23. MacQueen J., Plant D.: A review of clinical applications and methods for cholinesterase. **Am J Med Technol**. 39 (7): 279-287.1973.
24. Masson P.: A naturally occurring molecular form of human plasma cholinesterase is an albumin conjugate. **Biochim Biophys Acta**. 988 (3): 258-266, 1989.
25. Brock A., Brock V.: Factors affecting inter-individual variation in human plasma cholinesterase activity: Body weight, height, sex, genetic polymorphism and age. **Arch Environ Contam Toxicol**. 24 (1): 93-99, 1993.
26. Brock A., Brock V.: Plasma cholinesterase activity in a healthy population group with no occupational exposure to known cholinesterase inhibitors: Relative influence of some factors related to normal inter- and intra-individual variations. **Scand J Clin. Lab Invest**. 50 (4): 401-408, 1990.
27. Woolfrey J.: Assessment of four methods for the determination of pseudo-cholinesterase activity. **Canad J Med Technol**. 36: 188, 1974.
28. Whittaker M.: Plasma cholinesterase variants and the anesthetist. **Anaesthesia**. 35: 174-197, 1980.

29. La Motta R.V., Woronick C.L.: Molecular heterogeneity of human serum cholinesterase. **Clin Chem.** 17 (3): 135-144.
30. Balland M., Vincent V.M., Henny J.: Effect of long term storage on human plasma cholinesterase activity (letter). **Clin Chim Acta.** 211 (1-2): 129-131,1992.
31. Turner J.M., Hall R.A., Whittaker M., Kricka L.S.: Effects of storage and repeated freezing and thawing on plasma cholinesterase activity. **Ann Clin Biochem.** 21 (5): 363-365,1984.
32. Probert D.N., Brackenridge C.J.: The relation of sex, age, smoking status, birth rank and parental ages to pseudocholinesterase activity and phenotypes in a sample of Australian Caucasian adults. **Hum Genet.** 32:181-188,1976.
33. Richardson R.B., Smith J.C., Derrick W.S.: Atypical plasma cholinesterase, succinylcholine and prolonged apnea. **South Med J.** 67 (9): 1118-1120, 1974.
34. Kalow W: The distribution, destruction and elimination of muscle relaxants. **Anesthesiology** 20 (4): 505-517,1972.
35. Diaz P.M., Garcia L.H.: Evaluation of a rapid method for screening cholinesterase before use of succinylcholine. **Anesth Analg.** 51 (6): 883-887, 1972.
36. Pantuck E.J.: Plasma cholinesterase gene and variations. **Anesth Analg.** 77 (2): 380-386,1993.
37. Das P.K., Liddell J.: Purification and properties of human serum cholinesterase. **Biochem J.** 116:875-881,1970.
38. Steegmüller H.: On the geographical distribution of pseudocholinesterase variants. **Hum Genet.** 26:167-185,1975.
39. Whittaker M., Britten J.J., Vyas A.B., Hayes T.C.: Family studies of the  $E_1^k E_1^s$  genotype for plasma cholinesterase. **Hum Hered.** 38:228-232,1988.

40. Delbruck A., Henkel E.: A rare genetically determined variant of pseudo cholinesterase in two German families with high plasma enzyme activity. **Eur J Biochem.** 95:65-69,1979.
41. Hanel H.K., Mogesen J.V.: Urea inhibition of human pseudocholinesterase. **Br J Anaesth.** 43:51-53,1971.
42. Garry P.J., Owen G.M., Lubin A.H.: Identification of serum cholinesterase fluoride variants by differential inhibition in tris and phosphate buffers. **Clin Chem** 18 (2), 1972.
43. Dietz A.A., Rubinstein H.M., Lubrano T., Hodges La V.K.: Improved method for the differentiation of cholinesterase variants. **Am J Hum Genet.** 24: 58-64, 1972.
44. Rink R.A., Husain M.: Apnea and atypical pseudocholinesterase . **South Med J.** 66 (5),1973.
45. Grunbaum B.W., Selvin S., Myhre B.A., Pace N.: Distribution of gene frequencies and discrimination probabilities for 22 human blood genetic systems in four racial groups. **J Forensic Sci.** 25 (2): 428-444, 1980
46. Sümbüloğlu K., Sümbüloğlu V.: "Önemlilik testleri". **Biyoistatistik.** Özdemir yayıncılık, Ankara. 48-185, 1993.
47. Garcia L.H., Diaz P.M.: Atypical cholinesterase: Frequency in a Puerto Rican population. **Anesthesiology.** 36 (1),1972.
48. King J., McQueen M.J., Morgan H.G.: The effect of temperature on fluoride-resistant serum cholinesterase. **Br J Anaesth** 43:669-672,1971.
49. Hanel H.K., Mogensen J.V., Schaffalitzky de Muckadell O.B.: Serum cholinesterase variants in the Danish population. **Acta Anaesth Scan.** 22:505-507,1978.
50. Giurini J.M., Hopkins W.E., Redner T., Santopietro F.: Succinylcholine sensitivity and plasma cholinesterase deficiency. **J Foot Surg.** 25 (5):382-385,1986.

## EK 1

## Araştırma Deneklerinin ChE Aktivitesi, DS ve FS Değerleri.

No	Cinsiyet	ChE aktivitesi (kU/L)	Dibukain Sayısı	Flörür Sayısı
1.	Erkek	1.3638	83	69
2.	Erkek	0.8480	82	64
3.	Erkek	1.0605	81	65
4.	Kadın	0.8787	81	69
5.	Erkek	1.0908	83	67
6.	Kadın	0.5450	78	67
7.	Kadın	1.1510	84	74
8.	Kadın	0.8180	81	63
9.	Kadın	1.1510	83	60
10.	Erkek	0.4848	81	62
11.	Kadın	1.2120	83	65
12.	Erkek	1.0908	81	67
13.	Erkek	0.6666	84	68
14.	Kadın	1.1514	82	63
15.	Erkek	0.7570	84	68
16.	Kadın	0.9696	84	69
17.	Erkek	0.606	85	65
18.*	Erkek	0.9090	67	53
19.	Erkek	1.1210	81	62
20.	Erkek	1.5150	82	68
21.*	Kadın	0.8787	66	47
22.	Kadın	0.7272	83	67
23.	Erkek	1.2120	83	68
24.	Kadın	1.3020	82	65
25.	Kadın	0.6360	81	72
26.	Erkek	0.9999	85	71
27.	Erkek	1.3333	85	73
28.	Kadın	0.9090	82	67
29.	Kadın	1.0900	81	67
30.	Erkek	1.1500	83	58
31.	Kadın	0.8787	79	62
32.	Erkek	1.0302	82	68
33.	Erkek	1.2420	81	64
34.	Kadın	0.6363	83	71
35.	Kadın	0.6969	83	70
36.	Kadın	0.8484	83	62
37.	Kadın	0.6666	82	59
38.	Erkek	1.0705	78	67
39.	Kadın	0.5757	79	63
40.	Kadın	0.7878	81	59
41.	Kadın	1.3090	81	58
42.	Erkek	0.8484	82	64
43.	Erkek	0.9090	82	70
44.*	Kadın	0.6363	55	55

45.	Erkek	0.9090	80	68
46.	Kadın	0.7575	84	68
47.	Kadın	0.7272	83	71
48.	Kadın	0.9090	83	68
49.	Kadın	0.9090	83	77
50.	Kadın	1.1360	84	63
51.	Erkek	0.9999	82	70
52.	Erkek	0.9999	85	70
53.	Erkek	1.1210	83	73
54.	Erkek	0.8787	83	73
55.	Kadın	0.9999	82	64
56.	Kadın	0.8484	75	64
57.	Kadın	0.8181	78	67
58.	Erkek	1.2120	80	70
59.	Erkek	1.1211	81	70
60.	Erkek	1.6050	83	59
61.	Kadın	0.9393	78	68
62.	Kadın	1.0605	79	69
63.	Erkek	0.6360	79	72
64.	Erkek	0.8484	82	68
65.	Erkek	0.8180	79	69
66.	Erkek	0.7272	69	71
67.	Erkek	0.9999	79	72
68.	Kadın	1.4100	81	67
69.	Erkek	1.0320	82	67
70.	Kadın	0.9696	84	63
71.	Kadın	0.9090	83	63
72.	Kadın	1.0302	80	71
73.	Erkek	1.2720	81	58
74.	Erkek	1.4544	86	67
75.	Kadın	1.4847	78	71
76.	Kadın	0.8484	84	68
77.	Kadın	1.1514	84	64
78.	Kadın	0.9090	80	67
79.	Kadın	0.8181	80	63
80.	Kadın	0.7575	84	68
81.	Erkek	1.0605	84	68
<b>82.*</b>	<b>Erkek</b>	<b>0.6810</b>	<b>65</b>	<b>56</b>
83.	Kadın	0.8787	84	66
84.	Erkek	1.0302	83	59
85.	Kadın	1.1211	84	69
86.	Kadın	0.8484	82	61
87.	Erkek	1.1151	83	61
88.	Erkek	0.9090	83	62
89.	Erkek	1.0908	81	58
90.	Kadın	1.0151	82	61
91.	Erkek	1.3333	82	61
92.	Kadın	1.1514	82	60
93.	Kadın	1.3635	82	63
94.	Erkek	1.4544	83	58

95.	Kadın	0.7272	80	63
96.	Erkek	1.2120	80	58
97.	Kadın	1.3029	81	63
98.	Kadın	0.8787	81	62
99.	Kadın	0.8484	82	61
100.	Erkek	0.8787	79	59
101.	Kadın	0.8787	83	62
102.	Kadın	0.8181	82	61
103.	Erkek	1.3300	82	59
104.	Kadın	0.9696	81	64
105.	Kadın	1.2720	81	60
106.	Erkek	1.1210	81	65
107.	Erkek	0.6960	83	61
108.	Erkek	1.2720	81	67
109.	Kadın	0.8787	79	64
110.	Kadın	1.1817	83	62
111.	Erkek	0.9999	82	67
112.	Erkek	1.2000	80	67
113.	Kadın	0.8181	83	67
114.	Kadın	1.1514	82	66
115.	Kadın	0.9999	82	67
116.	Kadın	0.5757	84	69
117.	Erkek	1.4240	83	60
118.	Kadın	0.9090	80	70
119.	Erkek	0.7575	80	72
120.	Kadın	0.6969	78	70
121.	Kadın	0.9999	82	73
122.	Kadın	0.5454	83	67
123.	Kadın	0.7575	82	60
124.	Erkek	1.0360	83	63
125.	Kadın	0.9930	82	60
126.	Erkek	0.4540	81	63
127.	Kadın	0.7272	79	63
128.	Kadın	0.8484	82	63
129.	Erkek	1.3750	80	65
130.	Kadın	1.2120	81	67
131.	Kadın	0.9040	82	60
132.	Kadın	0.7878	81	65
133.	Erkek	0.6969	83	69
134.	Erkek	1.1211	84	60
135.	Erkek	1.2120	80	64
136.	Erkek	1.0605	83	59
137.	Erkek	1.3870	83	64
138.	Erkek	1.0908	84	63
139.	Kadın	0.7050	82	62
140.	Kadın	0.8380	84	69
141.	Erkek	1.4160	82	60
142.	Erkek	1.0250	82	65
143.	Kadın	0.8423	84	59
144.	Kadın	1.2490	86	62

145.	Kadın	0.8250	82	60
146.	Kadın	0.8181	85	65
147.	Kadın	0.8020	87	64
148.*	<b>Erkek</b>	<b>0.5454</b>	<b>65</b>	<b>52</b>
149.	Erkek	1.2720	86	61
150.	Kadın	1.2120	85	60
151.*	<b>Kadın</b>	<b>0.8787</b>	<b>62</b>	<b>53</b>
152.	Erkek	0.6060	80	64
153.	Erkek	0.5454	83	56
154.	Erkek	1.3480	82	59
155.	Erkek	0.9240	82	60
156.	Kadın	1.0605	83	58
157.	Kadın	1.3630	82	62
158.	Erkek	1.0302	82	60
159.	Kadın	0.6660	82	62
160.	Erkek	0.9390	81	64
161.	Kadın	1.0980	86	65
162.	Erkek	1.0908	82	61
163.	Kadın	0.8787	85	63
164.	Erkek	0.9990	83	62
165.	Erkek	1.0908	83	59
166.	Kadın	0.9696	86	60
167.	Kadın	0.7878	83	63
168.	Kadın	0.7878	85	66
169.	Kadın	0.7575	84	65
170.	Erkek	1.1211	87	62
171.	Erkek	0.9840	83	57
172.	Erkek	1.0450	83	63
173.	Erkek	1.2720	82	56
174.	Kadın	0.9696	83	64
175.	Kadın	0.8480	86	68
176.	Erkek	1.0609	83	64
177.	Erkek	0.8787	84	62
178.*	<b>Erkek</b>	<b>1.0450</b>	<b>68</b>	<b>54</b>
179.	Kadın	1.0750	86	67
180.	Kadın	1.4240	85	58
181.	Erkek	1.2726	82	64
182.	Erkek	1.3029	81	62
183.	Erkek	1.1817	84	67
184.	Erkek	1.4847	82	61
185.	Erkek	1.0605	83	66
186.	Erkek	1.1817	85	65
187.	Erkek	1.1817	85	62
188.	Erkek	0.8181	82	58
189.	Erkek	1.3635	82	62
190.	Erkek	0.6660	84	60
191.	Erkek	0.8787	83	62
192.	Erkek	0.8181	78	63
193.	Erkek	1.0302	82	59
194.	Erkek	1.0302	82	68

195.	Kadın	0.9090	80	60
196.	Kadın	0.7878	83	58
197.	Erkek	0.9393	78	58
198.	Kadın	1.0605	82	66
199.	Kadın	0.8787	79	66
200.	Kadın	1.6060	83	60
201.	Erkek	1.1817	85	72
202.	Kadın	0.9090	78	63

\* : pozitif olgular

