

## KORONER KALP HASTALARINDA PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ KOLİNESTERAZ AKTİVİTELERİNİN VE PCHE / HDL (CRF), EACHE/HDL (VRF) ORANLARININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Osman Yaşar ÖZ\*, Dr. İdris AKKUŞ\*, Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ\*, Dr. Hakkı GÖKBEL\*\*,  
Dr. Ali BAYRAM\*\*\*, Dr. Hasan GÖK\*\*\*, Dr. Süleyman TÜRK\*\*\*\* Dr. Yusuf ERDOĞAN\*\*\*\*

\* S.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*S.Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı

\*\*\*S.Ü.T.F. Kardiyoloji Anabilim Dalı, \*\*\*\*S.Ü.T.F. İç Hastalıkları Anabilim Dalı

### ÖZET

Bu çalışma, yaş dağılımı 44-78 (ortalama 58) olan 51 erkek, 20 kadın, toplam 71 koroner kalp hastası (KKH) ile yaşları 42-73 (ortalama 53) arasında değişen 25 erkek, 30 kadın, toplam 55 sağlıklı kişide gerçekleştirildi. KKH olgularında eritrosit içi kolinesteraz (EACHE) aktivitesi, plazma kolinesteraz (PCHE) / HDL oranı (CRF) ve EACHE / HDL oranı (VRF) kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, PCHE ise düşük bulunmuştur. EACHE / HDL oranı (VRF), KKH için bir risk faktörü olan ERF ve CRF'yi destekleyici önemli bir risk faktörü olabilir.

Anahtar Kelimeler : Koroner kalp hastalığı (KKH), kolinesteraz, PCHE / HDL (CRF), EACHE / HDL (VRF)

### SUMMARY

*Plasma and Intraerythrocytic Cholinesterase Activities and PCHE / HDL (CRF), EACHE / HDL (VRF) Ratios in the Patients with Coronary Heart Disease.*

This study was performed on 71 coronary heart patients (51 male, 20 female, 44-78 years old) and 55 healthy subjects (25 male, 30 female, 42-73 years old). In the patients with coronary heart disease, intraerythrocytic cholinesterase (EACHE) levels, plasma cholinesterase / HDL (CRF) and intraerythrocytic cholinesterase / HDL ratios (VRF) were higher and plasma cholinesterase activities were lower than values of control group.

It was concluded that in addition to ERF and CRF, EACHE / HDL ratio (VRF) might be an important risk factor for coronary heart disease.

Key Words : Coronary heart disease, Cholinesterase, PCHE / HDL (CRF), EACHE / HDL (VRF)

### GİRİŞ

Klinik enzimoloji ve koroner kalp hastalarındaki enzim çalışmaları günümüzde önemini fazlasıyla korumaktadır. Kolinesteraz da (CHE) bu öneme sahip enzimlerden biridir. Kolinesteraz bazı doku hücrelerinde bulunabildiği gibi, plazmada (PCHE) (EC 3.1.1.8) ve eritrositlerde de (EACHE) (EC 3.1.1.7) bulunmaktadır (1.5).

PCHE, lipoproteinlerin yapısında yer alan ve lipoprotein metabolizmasıyla, özellikle LDL ile ilişkili olan bir enzimdir. Bu enzimin HDL'e (High Density Lipoprotein) oranının yüksekliği, KKH için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu risk faktörüne ERF'ü (Established Risk Factor) destekleyici ve tamamlayıcı anlamına gelen CRF (Complementary Risk Factor) adı verilmiştir (6-9).

Plazma kolinesteraz düzeyleri, plazma LDL, VLDL, trigliserid düzeyleri ile paralel bir artış gösterirken plazma HDL düzeyleri ile ters orantılı bir ilişki içerisinde (6-9).

LDL'nin (Low Density Lipoprotein), HDL'den daha fazla miktarlarda hücreye girmesinin yanısıra, HDL'den ve VLDL'den (Very Low Density Lipoprotein) daha fazla kolesterol içermesi nedeniyle LDL, intimadaki kolesterol birikiminin başlıca sorumlusudur. HDL ise kolesterolün damar dışına taşınmasında rol oynayarak ateroskleroz yönünden koruyucu olmaktadır (10,11).

CRF'nin (PCHE / HDL) ERF (T.Kol / HDL) ile birlikte değerlendirilmesi halinde sağlıklı bireylerin, KKH'na yakalanma riskini belirleme oranının % 65'e yükseleceği vurgulanmaktadır (7). Ancak VRF'ün saptanması ile bu belirlenen oranın artabileceğini gösteren bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızın amacı; a) plazma kolinesteraz düzeylerinin ve PCHE / HDL oranlarının sağlıklı ve KKH'lı bireylerde saptanarak bu değerlerin karşılaştırılması, b) eritrosit içi kolinesteraz aktivitelerini ve EACHE/HDL oranlarını belirleyerek yeni bir risk faktörü ortaya koymaktır. Bu risk faktörüne ERF ve CRF'yi doğrulayıcı manasına VRF (Verifying Risk Factor) adını vermeyi uygun gördük.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmadaki KKH grubu, S.Ü.Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalına bağlı koroner kalp hastaları servisinde yatan 51'i erkek, 20'si kadın toplam 71 kişiden oluşmuştur. Bunların 26'sı akut myokard infarktüsü (AMI) olup geri kalan 45 olgu, geçirilmiş myokard infarktüsü ve angina pectoris tanısı ile servise yatırılmıştır. Kontrol grubu olarak 25'i erkek, 30'u kadın, toplam 55 sağlıklı kişi alındı. Bu kişilerin yaşları 42-73 arası olup yaş ortalaması 53'tür. KKH ve kontrol grubundaki kişilerden sabah 4-5 ml açlık venöz kanı alındıktan sonra heparinli tüplere aktarıldı. Tüpler hafifçe altüst edildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı.

Plazma kolinesteraz tayini, Boehringer- Mannheim enzimatik - kolorimetrik kit yöntemiyle (12), HDL kolesterol tayini ise Sclavo marka çöktürücü (13) kullanarak, enzimatik - kolorimetrik total ko-

lesterol kit yöntemiyle (14) gerçekleştirildi.

Eritrosit içi kolinesteraz aktivitesi tayini Lewis ve arkadaşlarının geliştirdiği (15) kinetik okuma yöntemiyle eritrosit hemalizatlarında yapıldı. Bu amaçla plazması ayrıldıktan sonra altta kalan şekilli elemanlara yaklaşık aynı hacimde serum fizyolojik eklendi. Hafifçe altüst edildikten sonra 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki supernatan atıldı. Bu yıkama işlemi iki kez tekrarlanarak saf eritrosit sedimenti elde edildi. Eritrosit sedimentinden 500 µl alınarak temiz bir tüpe aktarıldıktan sonra üzerine aynı hacimde serum fizyolojik ilave edildi. Hafifçe altüst edilip bu süspansiyondan hematokrit okutuldu. Bu eritrosit süspansiyonundan 20 µl. bir başka tüpe aktararak üzerine 980 µl. saponin solüsyonu (100 ml pH 'sı 8.0 olan fosfat tamponunda 10 mg saponin) eklendi. Saponin eritrosit içinde ve membrana yakın bir yerde bulunan kolinesteraz enzimini inhibe etmeksizin dışarı salmaktadır. Elde edilen bu hemolizattan başka bir tüpe 30 µl. alınarak üzerine 520 µl. eritrosit içi kolinesteraz çalışma solüsyonu eklendi. 37° C'de 4 dakika 50 saniye inkübe edildikten sonra üzerine 40 µl asettiokolin iyodür solüsyonu konularak hafifçe karıştırıldı. Su körüne karşı 37°C ve 405 nm'de 30 saniye aralarla 4 defa absorbans değerleri okundu, ΔA/min değeri alındıktan sonra aşağıdaki formül ile eritrosit içi kolinesteraz aktivitesi hesaplandı (15-18).

Eritrosit içi kolinesteraz aktivitesi

$$(U/L)(15) = \frac{\Delta A / \text{min} \times 7.338 \times 10^6}{\text{SüspansiyonHtc}}$$

## BULGULAR

Tablo 1'de görüldüğü gibi KKH'da PCHE düzeyi 3451 ± 1109 U/L (1430-5990), EACHE düzeyi 15998 ± 1815 U/L (11496-19262), Ln (CRF) değeri 4.45 ± 0.44 (3.36-5.19) ve Ln (VRF) değeri ise 6 ± 0.26 (5.4-6.37) olarak bulunmuştur.

Kontrol grubunu meydana getiren sağlıklı bireylerde ise PCHE düzeyi 3694±947 U/L (1360-5140), EACHE düzeyi 13857±2095 U/L (10415-19707), Ln (CRF) değeri 4.25 ± 0.39 (3.47 - 5.08) ve Ln (VRF) değeri ise 5.45 ± 0.19 (5.05-5.83) olarak bulunmuştur.

Akut myokard infarktüslü ve diğer olguların sonuçları Tablo 2 ve 3'de verilmiştir.

Tablo 1. PCHE, EACHE, Ln (PCHE/HDL) ve Ln (EACHE/HDL) değerleri

	KKH OLGULARI (n=71)		KONTROL GRUBU (n=55)		t	p
	BİRİM	ORTALAMA±SS	ORTALAMA±SS			
PCHE	Ü/L	3451±1109	3694±947		1.298	P>0.05
EACHE	Ü/L	15998±1815	13857±2095		4.277	p<0.001
Ln (PCHE/HDL)	-	4.45±0.44	4.25±0.39		2.702	p<0.05
Ln (EACHE/HDL)	-	6±0.26	5.45±0.19		2.059	p<0.02

Tablo 2. AMİ' lü hastalarda PCHE, EACHE, Ln (PCHE/HDL) ve Ln (EACHE/HDL) değerleri

	AMİ'LÜ HASTALAR (n=26)		KONTROL GRUBU (n=55)		t	p
	BİRİM	ORTALAMA±SS	ORTALAMA±SS			
PCHE	Ü/L	3468±1082	3694±947		0.963	P>0.05
EACHE	Ü/L	15591±4327	13857±2095		17.27	p<0.001
Ln (PCHE/HDL)	-	4.43±0.35	4.25±0.39		0.321	p>0.05
Ln (EACHE/HDL)	-	5.96±0.25	5.45±0.19		8.79	p<0.001

Tablo 3. AMİ' lü hastaların dışında kalan diğer 45 KKH' da PCHE, EACHE-Ln (PCHE/HDL) ve Ln (EACHE HDL) değerleri

	KKH (n=45)		KONTROL GRUBU (n=55)		t	p
	BİRİM	ORTALAMA±SS	ORTALAMA±SS			
PCHE	Ü/L	3366±1198	3694±947		1.529	P>0.05
EACHE	Ü/L	15550±1620	13857±2095		5.589	p<0.001
Ln (PCHE/HDL)	-	4.47±0.52	4.25±0.39		2.444	p<0.01
Ln (EACHE/HDL)	-	6.02±0.27	5.45±0.19		10.36	p<0.001

## TARTIŞMA

Gerek PCHE ve EACHE enzim aktivitesi tayininde kullandığımız metod Dünya Sağlık Teşkilatının (WHO) tavsiye ettiği kolorimetrik-spektrofotometrik yöntem esasına dayanmaktadır. Bu yöntem 1950'de Edson ve 1959'da Ellman ve arkadaşları tarafından geliştirilerek rutine sokulmuş-

tur. Günümüzde Ellman metodu olarak anılır (19-21). Bu yöntemin kolay ve pratik olmasının yanısıra daha güvenilir sonuç vermesi en büyük tercih nedenidir. Titrimetrik ve pHmetrik metodlarda uygulanan prosedürler daha uzun olup, sonuçların international üniteye sağlıklı olarak çevrilmesi de güçtür (1,15,21-25).

PCHE ve EACHE çalışmalarında çeşitli substratlar kullanılmakla beraber, PCHE çalışmalarında daha kolay ve süratle hidrolize edilmesi nedeniyle butirioltiokolin, EACHE çalışmalarında ise aynı nedenle asetiltiokolin tercih edildi (1,2,18,26).

KKH'da bulduğumuz PCHE aktivitesi kullandığımız kitin (12) sınırları içinde olmakla beraber, bu düzey kontrol grubundan düşük olup iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. ( $t=1.298$ ,  $p>0.05$ ).

Yapılan çalışmalarda akut myokard infarktüsünün ilk beş gününde PCHE düzeyinin normale göre düşük olduğu ve uzun bir süre sonra normal düzeye eriştiği belirtilmektedir (1,2,6,27,28). Tablo 2'de görüldüğü gibi AMI'lü hasta grubunun PCHE düzeyleri ( $3468 \pm 1082$  U/L) ile kontrol grubunun değerleri arasındaki fark anlamlı değildir ( $t = 0.963$ ,  $p > 0.05$ ).

KKH'daki EACHE aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $t = 4.277$ ,  $p < 0.001$ ) Sağlıklı bireylerde EACHE düzeyleri 8500 U/L ile 15300 U/L arasında değişmektedir (15,18,19,29,30). PCHE ve CRF'nin KKH için bir risk faktörü olduğu günümüzde kesinlik kazanmış olmasına rağmen (6-9, 18,31), KKH grubunda EACHE aktivitesine li-

teratürde rastlanamadı.

Kuty ve arkadaşları, sağlıklı kişileri KKH riski açısından düşük, orta ve yüksek risk grubu olarak 3 gruba ayırmalarının yanısıra, orta ve yüksek riskli sağlıklı kişilerde Ln (CRF) değerini  $4.25 \pm 0.28$  ve  $4.51 \pm 0.25$  buldular (6). Jain ve arkadaşları ise sağlıklı kişilerdeki CRF değerini  $58.62 \pm 2.21$  (Ln CRF) = 4.07) olarak buldular (7). KKH olgularımızda bulduğumuz Ln (CRF) değeri ( $4.45 \pm 0.44$ ) kontrol grubuna kıyasla yüksek olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulunmuştur ( $t=2.702$ ,  $p<0.05$ ). Bu değer literatürle uyumludur (6-8).

Çalışmamızda Ln (VRF) oranının, KKH'da  $6.0 \pm 0.26$  olarak ve sağlıklı kişilerden anlamlı derecede yüksek bulunması ( $t = 2.059$ ,  $p < 0.02$ ) dikkat çekicidir.

Sonuç olarak, KKH için bir risk faktörü olan (6,7) ERF ve CRF değerlerine ilaveten EACHE aktivitesinin tayin edilmesini ve VRF'nin belirlenmesini bu risk faktörlerini destekleyici yeni bir risk kriteri olarak öneriyoruz. Bu çalışma, ERF ve CRF yanında VRF'nin de saptanmasıyla KKH riskinin daha iyi belirlenebileceği gerçeğini ortaya çıkarmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Moss WD, Henderson R, Kachmar J. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co, 1986: 619-774.
2. Aras K. Teorik ve klinik enzimoloji. Ankara: A.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları, 1988: 1-118.
3. Bingöl G. Biyokimya. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık, 1983: 285-328.
4. Schröter W. Erythrocyte enzymes. In: Curtius H, Roth M, eds. Clinical biochemistry, Vol II. Berlin: Walter de Gruyter Co, 1974: 1178-204.
5. Hoffman WS. The biochemistry of clinical medicine. Chicago: Medical Publishers Inc, 1973: 1-6.
6. Kutty KM, Jain R, Huang SN, Kean K. Serum pseudocholinesterase: High density lipoprotein cholesterol as index of risk for cardiovascular disease. Clin Chim Acta 1981; 115: 55-61.
7. Jain R, Kutty KM, Huang SN, Kean K. Pseudocholinesterase / High density lipoprotein cholesterol ratio in serum of normal persons and of hyperlipoproteinemics. Clin Chem 1983; 29(6): 1031-3.
8. Lehtonen A, Marniemi W, Inberg M, Maatela J, Alanen E, Niittymäki K. Levels of serum lipids, apolipoproteins A-I and B and Pseudocholinesterase activity and their discriminate values in patients with coronary by-pass operation. Atherosclerosis 1986;59: 215-21.
9. Chu MI, Fontaine P, Kutty KM, Murphy D, Reheendran R. High density lipoprotein of hyperlipidemic patient. Clin Chim Acta 1978; 85: 55-9.

10. Candeğer Y. Hiperlipidemialar. İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1988: 61: 1-25.
11. Wolp N, Chait A. Atherosclerosis patogenesis and factor affecting its progression. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KG, eds. The metabolic and molecular basis of acquired disease. Vol II. Philadelphia: WB Saunders Co, 1990: 1530-69.
12. Monotest cholinesterase. Mannheim: Boehringer-Mannheim, Cat. No: 124125, Germany.
13. Chol-HDL, HDL reagent Mg-dextran sulfate, Sclavo, Italy.
14. Chol-Cinet. Cholesterol test in vitro diagnostic use, Sclavo, Italy.
15. Lewis PJ, Lowing RK, Gompertz D. Automated discrete kinetic method for erythrocytes acetylcholinesterase and plasma cholinesterase. Clin Chem 1981; 27 (6): 926-9.
16. Noyan A. Fizyoloji. Ankara : Meteksan, 1988:666-86.
17. Kutty KM, Jacob JC. Serum cholinesterase activity in hyperlipidemia and the in vitro effect of isoniazid on serum cholinesterase. Can J Biochem 1972; 50:32-4.
18. Herz F, Kaplan EA. Review: Human erythrocyte acetylcholinesterase. Pediatr Res 1973; 7: 204-14.
19. Magnothi RA, Dowling K, Ebirly JP, Mc Connel RS. Field measurement of plasma and erythrocyte cholinesterases. Clin Chim Acta 1988; 315-32.
20. Magnotti RA, Ebirly JP, Quarm DEA, Mc Connel RS. Measurement of acetylcholinesterase in erythrocytes in the field. Clin Chem 1987; 33 (10): 1731-5.
21. Gary PJ, Routh JI. A micro method for serum cholinesterase. Clin Chem 1965; 11(2): 91-6.
22. King ME. Cholinesterase. In: Kaplan LA, Pence AJ, eds. Clinical chemistry. St Louis: Mosby Co, 1984: 1108-11.
23. Wetstone HJ, La Motta RV. The clinical stability of serum cholinesterase activity. Clin Chem 1965; 11 (6): 653-63.
24. Barenghi L, Ceriotti F, Tuzzana M, Ripamonti M, Mosca A, Bonini PA. Measurement of erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activity by a differential pH. Ann Clin Biochem 1986; 23: 538-45.
25. Okabc H, Sagesaka K, Nakajima N, Noma A. New enzymatic assay of cholinesterase activity. Clin Chim Acta 1977; 80: 87-94.
26. Clitherow JW, Mitchard M, Haper NJ. The possible biological function of pseudocholinesterase. Nature 1963; 199: 1000-1.
27. Wallach J. Interpretation of diagnostic test. Boston: Little, Brown Co 1978: 13-309.
28. Tietz NW, Finley PR, Pruden EI. Clinical guide to laboratory test. Philadelphia; WB Saunders Co, 1990: 126-7.
29. Cessac PL, Turcant A, Allain P. Automated determination of analysis and cholinesterase activity in plasma and erythrocytes by flow injection application to identify subject to succinylcholine. Clin Chem 1989;35 (1): 77-80.
30. Abernethy MH, Fitzperald HP, Ahem KM. An enzymatic method for erythrocytes acetylcholinesterase. Clin Chem 1988; 34 (6): 1055-7.
31. Kutty KM, Redheendran R, Murphy D. Serum cholinesterase function in lipoprotein metabolism. Experientia 19;33 (4): 420-2.