

TREVISAN A. - BENEVENTO C. - BUZZO A. - ANDREETTA B.

**VARIAZIONI DELL'ATTIVITÀ ACETILCOLINESTERASICA
ERITROCITARIA COL SESSO E L'ETÀ**

**Estratto da:
GIORNALE ITALIANO
DI
CHIMICA CLINICA
Vol. 4 (4)**

PICCIN EDITORE — PADOVA

VARIAZIONI DELL'ATTIVITÀ ACETILCOLINESTERASICA ERITROCITARIA COL SESSO E L'ETÀ

TREVISAN A. - BENEVENTO C. - BUZZO A.

Istituto di Medicina del Lavoro, Università di Padova, II Cattedra

ANDREETTA B.

Clinica Pediatrica, Università di Padova

ABSTRACT

Variation of activity of erythrocyte acetylcholinesterase in relation to sex and age

In 120 subjects, 60 males and 60 females, the acetylcholinesterase (E.C. 3.1.1.7) activity of erythrocytes was studied in relation with sex and age. The enzyme activity was significantly higher in males than in females ($p < 0.001$). The activity is also more elevated in older subjects (overall males). This difference has to be considered when performing an epidemiological study of this parameter.

INTRODUZIONE

L'acetilcolinesterasi eritrocitaria (ACC, E.C. 3.1.1.7) è un enzima della membrana degli eritrociti, la cui attività è largamente studiata come indice di intossicazione da parte degli esteri organo-fosforici, usati in agricoltura come antiparassitari¹.

Variazioni dell'attività enzimatica sono state anche più recentemente riscontrate per esposizioni professionali ad irritanti respiratori come l'ozono², l'anidride solforosa³, il TDI⁴, cercando di spiegare l'inibizione, almeno nei primi due casi, con un meccanismo di perossidazione degli acidi grassi insaturi della membrana eritrocitaria con successiva inibizione del sito attivo serinico dell'enzima⁵.

Da tempo è noto invece un aumento dell'attività enzimatica in anemie di diversa origine⁶.

Le variazioni dell'attività ACC sono inoltre geneticamente controllate e sono quindi strettamente legate all'individuo⁷; l'eventuale riduzione di attività è quindi sicuramente controllabile soltanto con la determinazione prima-dopo.

Poiché numerose sono in letteratura le indicazioni su una maggiore attività nei maschi delle colinesterasi seriche⁸⁻¹², mentre solo una piccola nota riguarda la non significativa differenza di sesso per l'attività ACC¹³, abbiamo ritenuto utile studiarla in rapporto all'età ed al sesso. I risultati di questo studio sono presentati nel presente lavoro.

MATERIALI E METODI

L'attività ACC è stata determinata col metodo di Ellman *et al.*¹⁴; tale metodo valuta le variazioni di assorbanza al minuto dopo l'aggiunta del substrato (acetiltiocolina ioduro, Merck, Darmstadt). Le determinazioni sono state eseguite con spettrofotometro Perkin-Elmer modello 550. A ripetuti controlli sullo stesso campione l'attività non variava, nel nostro laboratorio, per valori superiori al 5%.

L'attività enzimatica è stata valutata in 120 soggetti di ambo i sessi (60 maschi e 60 femmine), nei quali non erano anamnesticamente presenti esposizioni ad irritanti respiratori o ad antiparassitari; non affetti da malattie epatiche, ematologiche o neurologiche. Sono stati divisi per classi d'età come indicato nelle tabelle, tenendo conto, per l'assegnazione alle classi, dei valori ottenuti.

La valutazione statistica dei risultati è stata eseguita mediante l'analisi della varianza per confronti ortogonali per la significatività tra classi d'età; con il *test t* di Student per il confronto maschi-femmine.

RISULTATI

La Tab. I dimostra come l'età influisca sull'attività enzimatica nei soggetti di sesso maschile e che la differenza è notevole tra le classi d'età più giovani (A) e quelle più anziane (B e C). Anche tra le donne (Tab. II), esistono significative differenze tra tutti e tre i gruppi.

TABELLA I

Variazioni dell'attività ACC eritrocitaria con l'età nei soggetti di sesso maschile

	n°	Anni	$m \pm DS$ kU/l	Ambito kU/l
A	20	< 30	4,74 \pm 0,87	2,8 - 6,1
B	30	30-60	5,65 \pm 0,96	4,1 - 8,5
C	10	> 60	6,05 \pm 0,78	5,1 - 7,0

L'analisi statistica è stata eseguita mediante l'analisi della varianza per confronti ortogonali. Tra A e B-C, $F = 17,02$ con $p < 0,01$. Tra B e C, $F = 1,435$ con p N.S. Tra A-B e C, $F = 6,089$ con $p < 0,05$; tra A e B, $F = 11,653$ con $p < 0,01$.

TABELLA II

Variazioni dell'attività ACC eritrocitaria con l'età nei soggetti di sesso femminile

	n°	Anni	$m \pm DS$ kU/l	Ambito kU/l
A	10	< 20	4,27 \pm 0,88	2,9 - 5,8
B	40	20-60	4,77 \pm 0,58	3,6 - 5,2
C	10	> 60	5,52 \pm 0,57	4,7 - 6,8

L'analisi statistica è stata condotta come indicato in Tab. I. Tra A e B-C, $F = 8,59$ con $p < 0,01$; tra B e C, $F = 12,86$ con $p < 0,01$; tra A-B e C, $F = 15,05$ con $p < 0,01$; tra A e B, $F = 4,64$ con $p < 0,05$.

I soggetti di sesso maschile, infine, presentano globalmente un'attività enzimatica più elevata rispetto a quelli di sesso femminile ($p < 0,001$). I valori medi normali riscontrati nel nostro laboratorio sono i seguenti: $4,81 \pm 0,73$ kU/l con un ambito compreso tra 2,9 e 6,8 kU/l nei soggetti di sesso femminile; $5,40 \pm 1,0$ kU/l con un ambito compreso tra 2,8 e 8,5 kU/l nei soggetti di sesso maschile.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati esposti dimostrano che, come già rilevato per l'attività colinesterasica serica⁸⁻¹² anche per quanto riguarda l'attività ACC esiste una significativa differenza tra i sessi.

In entrambi i sessi, l'attività enzimatica aumenta gradualmente, ma costantemente, con l'età.

I risultati da noi riferiti in questo lavoro hanno cercato di determinare un ambito di normalità che è stato visto variare sia in rapporto all'età, sia in rapporto al sesso (nei maschi l'attività è più elevata).

Sulla base di questi risultati riteniamo quindi che uno studio epidemiologico che prenda in considerazione tale parametro debba essere confrontato con controlli dello stesso sesso e della stessa età (fermi restando i problemi riguardanti le variazioni di carattere genetico).

RIASSUNTO

In 120 soggetti, 60 maschi e 60 femmine, è stata valutata l'attività ACC (E.C. 3.1.1.7) in rapporto all'età e al sesso. Nei soggetti di sesso maschile l'attività enzimatica è significativamente maggiore che in quelli di sesso femminile ($p < 0,001$). L'attività è inoltre più elevata nei soggetti più anziani, rispetto a quelli più giovani. Tali caratteristiche debbono essere tenute in debito conto per approntare uno studio epidemiologico che preveda la determinazione di tale parametro.

BIBLIOGRAFIA

1. Gage J.C.: *Blood cholinesterase values in early diagnosis of excessive exposure to phosphorus insecticides*. Br. Med. J., **1**, 1370, 1955.
2. Goldstein B.D., Pearson B., Lodi C., Buckley E.D. and Balchum O.J.: *The effects of ozone on mouse blood in vivo*. Arch. Environ. Health, **16**, 648, 1968.
3. P'An A.Y.S. and Jegier Z.: *The effects of sulfur dioxide and ozone on acetylcholinesterase*. Arch. Environ. Health, **21**, 498, 1970.
4. Manno M. and Lotti M.: *Cholinesterase in human toluendiisocyanate exposure*. Int. Arch. Occup. Environ. Health, **38**, 55, 1976.
5. Balchum O.J., O'Brien J.S. and Goldstein B.D.: *Ozone and unsaturated fatty acids*. Arch. Environ. Health, **22**, 32, 1971.
6. Sabine J.C.: *Erythrocyte cholinesterase titres in hematologic disease states*. Am. J. Med., **27**, 81, 1959.
7. Das P.K.: *On probable red cell cholinesterase variants and their significance in disease*. 7th. Int. Symp. on structure and function of erythrocytes. Abhandlungen der akademie der Wissenschaften der DDR. Akademie-Verlag, Berlin.
8. King J.: *The cholinesterases*. In Practical Clinical Enzymology, p. 174, van Nostrand, London, 1965.
9. Weber H.: *Rasche und einfache Ultramikromethode zur Bestimmung der Serumcholinesterase*. Dt. Med. Wschr., **91**, 1927, 1966.
10. Szasz G.: *Cholinesterase-Bestimmung in Serum mit Acetyl- und Butyrylcholin als Substrat*. Clin. Chim. Acta, **19**, 1919, 1968.
11. Schmidt E. und Schmidt F.W.: *Aspekte der Enzym-Diagnostik*. Medsche Welt, Stuttg., **21**, 805, 1970.
12. Prellwitz W., Kapp S. und Müller D.: *Vergleich von Methoden zur Aktivitätsbestimmung der Serumcholinesterase (Acylcholin-acylhydrolase E.C. 3.1.1.8) und deren diagnostische Wertigkeit*. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., **14**, 93, 1976.
13. Bellino M., Ficarra M., Frontali N., Ghezzi F., Guarcini A.M., Orecchio F., Serpietri L.A. and Trania M.E.: *A quick and simple method for the routine determination of acetyl- and butyryl cholinesterase in blood*. Br. J. Ind. Med., **35**, 161, 1978.
14. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. jr. and Featherstone R.M.: *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*. Biochem. Pharmacol., **7**, 88, 1961.