

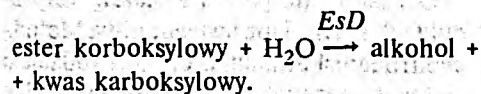
## Polimorfizm układu *EsD* w populacji wielkopolskiej

Marek Stępiak, Krzysztof Kordel, Hanna Mogilnicka

POLYMORPHISM OF THE *EsD* SYSTEM IN THE POPULATION OF WIELKOPOLSKA. Gene frequencies of *EsD*<sup>1</sup> and *EsD*<sup>2</sup> and the corresponding phenotypical frequencies were indicated for 3796 adult subjects of both sexes.

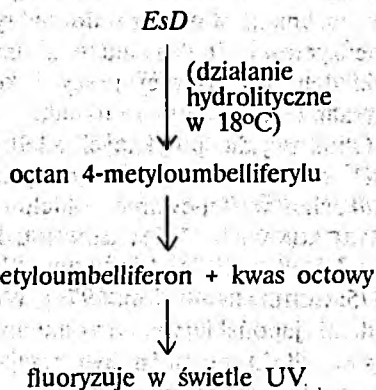
Obecność esteraz *A*, *B* i *C* w ludzkich krwinkach czerwonych wykazał przy zastosowaniu elektroforezy po raz pierwszy TASHIAN [1961]. Czwarta esteraza, określona jako *D* (*EsD*), została opisana przez HOPKINSONA i in. [1973]. Występuje ona u ludzi w erytrocytach oraz w większości tkanek: sercu, wątrobie, grasicy, nerkach, płucach, mózgu, gonadach, mięśniach szkieletowych i leukocytach.

*EsD* jest hydrolazą estrów kwasu octowego lub masłowego. Przeprowadza ona reakcję:



Najczęściej stosowanym substratem do wywołania enzymu jest octan 4-metylumbelliferylu lub maślan 4-metylumbelliferylu. Przebieg reakcji biochemi-

cznych przy wykrywaniu izoenzymów *EsD* jest następujący:



Stosując elektroforezę w żelu skrobiowym można wyróżnić 3 powszechnie spotykane fenotypy esterazy *D*, a mianowicie: *EsD*<sup>1</sup>, *EsD*<sup>2</sup> i *EsD*<sup>2-1</sup>. Są one determinowane przez parę autosomalnych kodominujących alleli *EsD*<sup>1</sup> i *EsD*<sup>2</sup> jednego locus, znajdującego się na 13 chromosomie, w subregionie 13q31 lub q32 [SIKOWS 1977].

LITTLEFIELD i in. 1978, TURLEAU i in. 1978]. Układ ten dziedziczny się zgodnie z prawami Mendla i nie ulega zmianie w ciągu życia. Ten model dziedziczenia układu *EsD* został potwierdzony badaniami rodzinnymi i populacyjnymi przez wielu autorów [BENKMANN, GOEDDE 1974; HEIDE 1976].

Fenotypy *EsD* są w pełni wykształcone w momencie urodzenia. WIECZORAK i DOBOSZ [1977] wykazali, że fenotypy te wykształcają się pomiędzy 6 a 7 tygodniem życia płodowego. Z uwagi na dość korzystny rozkład częstości alleli *EsD*<sup>1</sup> i *EsD*<sup>2</sup>, sprawdzony model dziedziczenia i proste metody oznaczenia polimorfizmu tego enzymu (duża trwałość aktywności, powtarzalność wyników) jest on powszechnie stosowany w ekspertyzie sądowo-lekarskiej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że systemy buforowe do określania izoenzymów *Acp* i *PGM* mogą być z powodzeniem stosowane do wykrywania izoenzymów *EsD*. Pozwala to minimalnym nakładem dodatkowej pracy i kosztów uzyskać oznaczenie tego układu.

Obok zwykle spotykanych alleli *EsD*<sup>1</sup> i *EsD*<sup>2</sup> stwierdzono w pojedynczych przypadkach występowanie allelu *EsD*<sup>3</sup> [BARGAGNA i in. 1975; BENDER, FRANK 1974] i allelu *EsD*<sup>4</sup> [RITTNER, MÜLLER 1975; SCHLESINGER i in. 1979]. W jednej rodzinie japońskiej wykryto odmianę fenotypową, dla której można było przyjąć tylko niezwykle sprzężenie genów *EsD*<sup>3,1</sup> [SUZUKI i in. 1978]. BENDER i FRANK [1974] opisali wariant *EsD* 3-1, który charakteryzuje się obecnością kilku pasm izoenzymów. Fenotyp *EsD* 3-1 został także opisany w populacji niemieckiej (RFN) przez RITTNERA i MÜLLERA [1975] i w populacji włoskiej przez BARGAGNA i in. [1975]. W 1978 roku SUZUKI i in. [1978] zaobserwowali wśród 2367 badanych Ja-

pończyków heterozygotę w zakresie genów *EsD*<sup>3</sup> i *EsD*<sup>2</sup>, a mianowicie fenotyp *EsD* 3-2. BERG i in. [1976] oraz GRÜNER i SIMEONI [1978] wykazali w populacji niemieckiej (RFN) obecność kolejnych, bardzo rzadko występujących wariantów *EsD* 4-1 i *EsD* 4-2. U pacjentów z trisomią chromosomu 13 (47XY + 13) opisano fenotypy *EsD* 2-1-1.

Oprócz rzadko spotykanych fenotypów z genami *EsD*<sup>3</sup>, *EsD*<sup>4</sup> MARKS i in. [1977] stwierdzili u jednego osobnika z populacji amerykańskiej brak aktywności enzymu *EsD* sugerując, że jest to spowodowane istnieniem genu "niemego" *EsD*<sup>0</sup>. Również obecnością genu *EsD*<sup>0</sup> tłumaczono "nietypową" segregację cech układu *EsD* stwierdzoną w jednej rodzinie amerykańskiej i polskiej [SPARKES i in. 1979]. Osoby, u których spodziewano się obecności genu *EsD*<sup>0</sup>, w obu badanych rodzinach wykazały zmniejszoną aktywność esteraazy *D*. Analizy obrazów chromosomów 13 pary, wybarwionych metodą wzorów prążkowych *G* lub *R*, nie są w stanie udowodnić jakichkolwiek zmian w budowie tego chromosomu, ze względu na to, że są to zmiany o charakterze jednogenowym. Wydaje się jednak, że oznaczenie poziomu aktywności *EsD* oraz badania rodzinne mogą stanowić cenną informację przy ustaleniu fenotypów heterozygotycznych z genem "niemym".

OLAISEN i in. [1976] wykazali, że produkt allelu *EsD*<sup>2</sup> nie jest jednolity. Metodą elektroogniskowania, która jest rodzajem elektroforezy, w której rozdział białek polega na wykorzystaniu różnic ich punktów izoelektrycznych, można odróżnić frakcję o wyższym lub niższym pI. Olaisen udowodnił, że frakcje o niższym pI są determinowane przez gen *EsD*<sup>2</sup>, a o wyższym pI przez nowy gen *EsD*<sup>5</sup>, który występuje z niższą częstością niż gen *EsD*<sup>2</sup>. Tak więc za pomocą metody elektroogni-

skowania można wyróżnić w układzie grupowym *EsD* sześć fenotypów: *EsD* 1-1, *EsD* 2-2, *EsD* 5-1, *EsD* 5-2, *EsD* 5-5.

Celem niniejszej pracy jest zbadanie zróżnicowania cech układu *EsD* w populacji wielkopolskiej i porównanie jej z innymi regionami Polski i z wybranymi krajami.

## Material i metody

Badania, których wyniki przedstawiamy poniżej, były przeprowadzone w Zakładzie Medycyny Sądowej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, w latach 1978-1985. Są one kontynuacją prac prowadzonych przez Z. PRZYBYLSKIEGO i T. MARCINKOWSKIEGO [1974].

Do badań użyto 3796 hemolizatów krwinkowych pochodzących od niespokrewnionych osób dorosłych obojga płci, zamieszkujących region wielkopolski. Oznaczenie izoenzymów *EsD* przeprowadzono metodą rozdziału elektroforetycznego w żelu skrobiowym, przy użyciu systemu buforowego stosowanego do rozdziału *AcP* (bufor fosforanowo-cytrynianowy pH 5,9). Do ujawniania frakcji izoenzymów używano octan-4-metyloumbelliferylu. Wyniki odczytywano w świetle nadfioletowym (366 nm). Pasma izoenzymów *EsD* fluoryzują na ciemnym tle podłoża. Elektroforezę przeprowadzono przez 17 godzin w chłodni, przy gęstości strumienia prądu 2,5 mA/cm<sup>2</sup>.

Otrzymane wyniki przedstawiono w postaci wartości względnych, -co ułatwia

porównanie różnych grup i stwarza bardziej czytelny obraz danych. Wyniki dotyczące częstości pojawiania się poszczególnych fenotypów *EsD* i częstości genowe poddano analizie statystycznej. Weryfikację różnic między częstościami przeprowadzono na poziomie istotności 0,05. Rozkłady empiryczne porównano z częstościami oczekiwanymi za pomocą testu chi-kwadrat. Częstości fenotypowe *EsD* obliczane dla badanej populacji posłużyły do określenia rozkładu częstości genowych przy zastosowaniu wzorów Wienera i Vaisborga.

## Wyniki

Dane dotyczące badań własnych, przeprowadzonych na populacji wielkopolskiej (tab. 1) pozwoliły na ustalenie, że fenotyp *EsD* 1 występuje najczęściej, tj. w 80,16%, *EsD* 2-1 w 19,42%, a *EsD* 2 w 0,42%. Częstości genowe obserwowane w populacji wielkopolskiej porównano z częstościami genowymi występującymi w innych regionach Polski (tab. 2). Obserwuje się dość znaczne różnice częstości genowych układu *EsD* między Wielkopolską a populacjami pozaeuropejskimi (tab. 3).

Tabela 1. Fenotypy *EsD* i częstości genowe w populacji wielkopolskiej

Fenotyp <i>EsD</i>	Wartości obserwowane		Wartości oczekiwane		$\chi^2$	Częstości genowe
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
1	3043	80,16	3068	80,80	0,2037	<i>EsD</i> <sup>1</sup> = 0,899 <i>EsD</i> <sup>2</sup> = 0,101
2 - 1	737	19,42	689	18,18	3,3439	
2	16	0,42	39	1,02	13,5641	
Ogółem	3796	100,0	3796	100,0		

Tabela 2. Częstości genów *EsD* w różnych regionach Polski

Region kraju	Liczba badanych	Częstości genowe	Autor
wschodni	1279	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,903	JAKLIŃSKI i in. [1977]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,097	
	1979	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,907	KOZIÓŁ [1980]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,093	
północno-wschodni	2064	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,900	BYRDY, TREMBACZEWSKA [1980]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,100	
południowy	250	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,900	TUROWSKA, JANIK [1979]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,100	
wielkopolski	3796	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,899	badania własne
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,101	
południowo-zachodni	1219	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,919	DOBOSZ [1983]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,080	
		<i>EsD</i> <sup>0</sup> 0,001	
	1741	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,917	DOBOSZ [1985]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,082	
		<i>EsD</i> <sup>0</sup> 0,001	
populacja polska	885	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,897	SCHLESINGER i in. [1979]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,103	
	2437	<i>EsD</i> <sup>1</sup> 0,903	SZCZÓTKA, SCHLESINGER [1980]
		<i>EsD</i> <sup>2</sup> 0,097	

Tabela 3. Częstość występowania genów  $EsD^1$ ,  $EsD^2$ ,  $EsD^3$ , w różnych populacjach wg TUROWSKIEJ [1980] z uwzględnieniem wyników badań własnych

Populacja	Liczba badanych	$EsD^1$	$EsD^2$	$EsD^3$
EUROPA				
Anglia	774	0,8869	0,1131	
Belgia	166	0,894	0,106	
Dania				
Kopenhaga	1392	0,896	0,104	
NRF				
Bonn	562	0,8897	0,1094	0,0009
Frankfurt	510	0,8882	0,1118	
Freiburg	185	0,8892	0,1081	0,0027
Hamburg	408	0,8824	0,1176	
Kolonia	2028	0,8965	0,1135	
Norwegia				
Oslo	217	0,887	0,113	
Polska				
Lublin	1279	0,903	0,097	
Kraków	250	0,898	0,102	
Wrocław	2437	0,903	0,097	
Poznań				
(bad. własne)	3796	0,899	0,101	
Szwajcaria				
Berno	624	0,867	0,133	
Szwecja				
Laponczycy	219	0,41	0,59	
Włochy				
Rzym	540	0,840	0,160	
Toskania	500	0,856	0,143	0,0001
Veneto	630	0,8556	0,1444	
AZJA				
Afganistan	224	0,897	0,103	
Sri Lanka	135	0,743	0,237	
Chłirczy (USA)	111	0,612	0,388	
Japonia				
Tokio	1066	0,6376	0,3424	
Okinawa	179	0,631	0,369	
Kuwejt	160	0,8932	0,1968	
Nepal	134	0,6492	0,3508	
Nepal Wsch.	365	0,6178	0,3822	
Indianie				
Anglia	278	0,773	0,227	
Singapur	171	0,7396	0,2602	
Murzyni				
Zambia	734	0,916	0,084	
Anglia	102	0,902	0,098	
Kamerun	97	0,945	0,055	
Plemiona Bantu	180	0,9722	0,0278	
Uganda	209	0,890	0,110	

## Wnioski

1. Częstości  $EsD^1$ ,  $EsD^2$  w populacji wielkopolskiej są zbliżone z częstościami występującymi w innych regionach Polski.
2. U zbadanych dotąd mieszkańców Polski stwierdzono, że częstości alleli  $EsD^1$  i  $EsD^2$  są zbliżone do częstości w innych populacjach środkowo- i zachodnioeuropejskich.
3. Obserwuje się dość znaczne różnice między częstościami genowymi układu  $EsD$  w populacji wielkopolskiej i populacjach pozaeuropejskich.

## Piśmiennictwo

- BARGAGNA M., R. DOMENICI, A. MORALI, 1975, *Red cell esterase-D polymorphism in the population of Tuscany*, Humangenetik, 29, 251.
- BENDER K., R. FRANK, 1974, *Esterase D Polymorphismus*, Humangenetik, 23, 315.
- BENKMANN H., H. GOEDDE, 1974, *Esterase D polymorphism: Gene frequencies and family data*, Humangenetik, 24, 325.
- BERG K., F. SCHWARZFISCHER, H. WISCHERATH, 1976, *Esterase D polymorphism: description of the "new" allele  $EsD^4$* , Hum. Genet., 32, 81.
- BYRDY M., M. TREMBACZEWSKA, 1980, *Polimorficzny układ  $EsD$  w populacji północno-wschodniego regionu Polski*, Arch. Med. Sąd. i Krym., 30, 125.
- DOBOSZ T., 1985, *Układy grupowe enzymów ludzkich krwinek czerwonych, (maszynopis pracy habilitacyjnej)*, Wrocław.
- DOBOSZ T., 1983, *Distribution of red cell enzyme polymorphisms in South-West Poland*, Hum. Hered., 33, 155.
- GRÜNER O., E. SIMEONI, 1978, *Polymorphismus der menschlichen Erythrozyten - Esterase D*, Rechtsmedizin, 81, 261.
- HEIDE K. G., 1976, *Esterase D Polymorphismus: Phänotypverteilung und Genfrequenzen in Norddeutschland*, Rechtsmedizin, 77, 295.
- HOPKINSON D. A., M. A. MESTRINER, J. CORTNER, H. HARRIS, 1973, *Esterase D: a new Human polymorphism*, Ann. Hum. Genet. 37, 119.
- JAKLIŃSKI A., P. KOZIOŁ, W. ŻÓLCIŃSKA, 1971, *Oznaczenie układu  $EsD$  w sprawach o ustalenie spornego ojcostwa*, Arch. Med. Sąd. i Kryminol., 27, 127.
- KOZIOŁ P., 1980 *Aktywność esterazy D w hemolizatach krwinkowych o różnych fenotypach  $EsD$* , Arch. Med. Sąd. i Kryminol., 30, 119.
- LITTLEFIELD J. W., J. de GROUCHY, F. EBLING, J. AMSTERDAM, 1978, Excerpta Medica, 66.
- MARKS M., T. JENKINS, C. NURSE, 1977, *The red cell glutamic - pyruvic transaminase, carbonic anhydrase I and II, and esterase D polymorphism in the Ambo population of South West Africa with evidence for the existence of an  $EsD^0$  allele*, Hum. Genet., 37, 49.
- OLAISEN B., B. TEISBERG, R. JONASSEN, 1976,  *$EsD$  polymorphism in Norway*, Hum. Genet., 34, 63.
- PRZYBYLSKI Z., T. MARCINKOWSKI, 1974, *Polimorfizm układów grupowych enzymów czerwono-krwinkowych wśród ludności wielkopolskiej z uwzględnieniem płci*, Przegl. Antropol., 50, 331.
- RITTNER CH., G. MÜLLER, 1975, *Esterase D: some population and formal genetical data*, Hum. Hered., 25, 125.
- SCHLESINGER D., J. HAŁASA, M. MAŃCZAK, 1979, *Polimorfizm  $EsD$  w populacji polskiej*, Doniesienie na Konf. Nauk. p.n. Badanie i wykorzystanie immunologicznego zróżnicowania organizmów Wrocław.
- SHOWS T. B., 1977, *Proceedings of the Fifth International Conference Montreal, Canada*.
- SPARKES R., S. TARGUM, E. GERSHON, G. SENSABAUGH, 1979, *Evidence for a null allele at the esterase D (EC. 3.1.1.1.) locus*, Hum. Genet. 46, 319.
- SUZUKI T., S. KASHIMURA, K. UMETSU, T. KUDO 1978,  *$EsD$  phenotypes in Northeastern Japan*, Rechtsmedizin, 81, 119.
- SZCZOTKA H., D. SCHLESINGER, 1980, *Tablice do obliczania prawdopodobieństwa ojcostwa w populacji polskiej*, Mat. Pr. Antropol., 98, 3.
- TASHIAN R. E., *Multiple forms of esterases from human erythrocytes*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 108, 364.
- TURLEAU C., J. SÉGER, J. de GROUCHY, F. DORÉ J. C. JOB, 1978, Ann. Génét., 21, 189.
- TUROWSKA B., J. JANIK, 1978, *Układ grupowy  $EsD$  w populacji Polski Południowej*, Arch. Med. Sąd. Kryminol., 28, 217.
- TUROWSKA B., 1980, *Enzymy krwi ludzkiej w medycynie sądowej*, Warszawa.
- WIECZORAK E., T. DOBOSZ, 1977, *Oznaczenie fenoty- pów układów grupowych enzymów AK, ADH, GPT 6PGD, PGM i  $EsD$  w krwi pępowinowej noworodków ciężcy donoszonej*, Ginekologia Polska, 12, 1059.

Maszynopis nadesłano w styczniu 1987 r.

## S u m m a r y

The paper presents results of investigations on the enzymatic system of *D* esterase of red cells in 3796 adult subjects of both sexes, not related to each other, living in Wielkopolska region.

The following gene frequencies were found:  $EsD^1 = 0.899$  and  $EsD^2 = 0.101$ , and the phenotypic parts were determined; for phenotype *EsD* 1 they are 80.16%, for *EsD* 2-1: 19.42% and for *EsD* 2: 0.42%.

The gene frequencies observed in the population of Wielkopolska were compared with the gene frequencies occurring in other regions of Poland and it was found that they are convergent. It was also determined that the *EsD* gene frequencies of Wielkopolska region are close to the frequencies in other mid-European and West-European populations, while there are significant differences in comparison with populations from the outside of Europe.