

LA PSEUDOCHOLINESTÉRASE :  
ASPECTS GÉNÉTIQUES ET ANTHROPOLOGIQUES  
DE L'ENZYMOLOGIE

par

André LEGUEBE

Notre connaissance de plus en plus approfondie de la structure du matériel héréditaire a mis particulièrement en relief l'importance des observations réalisées dans le domaine de la biochimie des protéines et des enzymes.

Nous nous proposons de montrer par l'analyse des études entreprises sur la pseudocholinestérase ou cholinestérase sérique, l'intérêt que présente pour l'anthropologiste la transposition des données de la physiologie au domaine de la génétique des populations ou plus largement à celui de la biologie des populations. Nous constaterons simultanément que l'étude de la distribution d'un caractère dans une population peut contribuer largement à éclairer d'un jour nouveau l'analyse d'un mécanisme physiologique.

Les estérases sont les enzymes susceptibles d'hydrolyser une catégorie spéciale de corps organiques dénommés esters. Il en existe, dans l'organisme humain une très grande variété. Les érythrocytes humains contiennent plusieurs estérases (TASHIAN, 1961) dont la cholinestérase ou acetylcholinestérase qui hydrolyse l'acetylcholine avec une activité maximum pour une concentration de 3 mg pour 100 ml.

Le sérum humain d'autre part contient au moins deux estérases (MORTON et KALOW, 1959) :

a) une arylestérase (estérase A) qui attaque le phénylacétate à l'exclusion des esters aliphatiques.

b) une pseudocholinestérase (estérase C), protéine de poids moléculaire 300.000 qui clive l'acétylcholine (activité maximum pour une concentration de 300 mg pour 100 ml) et surtout une assez large gamme d'esters aliphatiques et aromatiques (butyrylcholine, benzoylcholine, etc...) (pour les synonymes *cf.* KALOW, 1962, p. 70). La fonction physiologique de la pseudocholinestérase demeure encore actuellement inconnue.

#### POLYMORPHISME DE LA PSEUDOCHOLINESTERASE

La reconnaissance du polymorphisme de la pseudocholinestérase découle d'observations cliniques; en effet, l'application d'électrochocs est accompagnée de l'injection de suxamethonium (ou dicholinester de l'acide succinique) qui exerce un effet de relaxation sur les muscles. La paralysie musculaire provoquée par les doses généralement employées (30 à 100 mg) est de brève durée (deux ou trois minutes) parce que la pseudocholinestérase du sérum hydrolyse cet ester au même titre qu'elle hydrolyse l'acétylcholine.

Chez certains sujets, s'observe toutefois une action du suxamethonium beaucoup plus prolongée, action qui s'accompagne d'apnée: la destruction du suxaméthonium s'effectue beaucoup plus lentement, ce qui s'explique par une aptitude moins grande du sérum de ces individus à hydrolyser l'ester (KALOW et GUNN, 1957). On a assez rapidement soupçonné que cette hypersensibilité au suxaméthonium était génétiquement déterminée étant donné que la parentèle des *propositus* comptait généralement une ou plusieurs personnes dont le taux d'activité cholinestérasique du sérum était plus faible. (LEHMANN *et al.*, 1956, 1958); KALOW et STRATTON, 1957).

#### L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

Dans des conditions définies de pH, de température et de concentration en substrat, le nombre de molécules décomposées d'un substrat déterminé par unité de temps et par unité de masse d'enzyme exprime « l'activité spécifique ». Les conditions à préciser pour réaliser cette mesure sont donc nombreuses; plusieurs méthodes ont, dans le cas de la pseudocholinestérase, été utilisées et il convient de préciser les relations existant entre les deux méthodes les plus généralement utilisées à l'heure actuelle (KALOW et LINDSAY, 1955):

a) la méthode manométrique (AMMON, 1933) : l'acide libéré par l'action de l'enzyme (sérum dilué au 1/50) sur un substrat qui peut être soit l'acétylcholine (concentration finale :  $2,76 \times 10^{-2}$  M), soit la benzoylcholine (concentration finale :  $6 \times 10^{-3}$  M), agit sur du bicarbonate de sodium, 0,025 M. L'anhydride carbonique dégagé est mesuré au moyen d'un appareil de Warburg.

L'unité de cholinestérase sérique est définie par le nombre de micromoles d'acétylcholine hydrolysées par 1 ml de sérum en une heure à 37°.

Dans de telles conditions, les individus normaux ont un sérum qui possède, une activité se situant entre 178 et 330 unités avec une moyenne de 238 unités. Si c'est la benzoylcholine qui est utilisée comme substrat, les variations normales se situent entre 60 et 120 unités par ml.

b) la méthode optique : on mesure l'évolution de la densité optique pendant trois minutes à 240 m $\mu$  et à 26° dans des cuvettes de 1 cm, d'un mélange en parties égales de sérum dilué au 1 :100 et de benzoylcholine  $10^{-4}$  M dans un tampon phosphate de pH = 7.4 (75.84 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> anhydre et 18.156g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhydre dans 10 litres d'eau). La dilution finale du sérum est donc de 1 :200 et la concentration en benzoylcholine de  $5 \times 10^{-5}$  M. Le « blanc » est constitué par un mélange de parties égales de sérum dilué et de tampon phosphate. KALOW et LINDSAY (1955, p. 570) ont établi des formules permettant de convertir les valeurs obtenues à différentes températures.

La corrélation entre les mesures faites au moyen de l'acétylcholine et de la benzoylcholine (0.974) n'atteint pas la valeur à laquelle on pourrait s'attendre sur la base de la bonne reproductibilité des mesures : sur le plan pratique, la benzoylcholine offre un certain nombre d'avantages qui ont fait préférer son emploi.

Il est possible de convertir les données obtenues par la méthode optique avec la benzoylcholine en unités définies plus haut pour l'acétylcholine (micromoles par heure et par ml de sérum à 37°C.), au moyen d'une formule empirique :

$$2422 \times \Delta A_s - 9.71$$

$\Delta A_s$  représentant la différence de densité optique obtenue après un temps d'observation de trois minutes. L'erreur standard est de  $\pm 15.05$  unités (KALOW, GENEST et STARON, 1956).

## INHIBITION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

L'étude du phénomène d'inhibition, c'est à dire de la diminution de la vitesse de réaction à la suite de l'addition d'une substance au milieu réactionnel contribue à caractériser un enzyme puisque tous les enzymes ne sont pas également sensibles aux mêmes inhibiteurs.

Parmi les nombreux inhibiteurs de la pseudocholinestérase, deux d'entre eux ont pris une importance particulière puisqu'ils servent à établir une distinction entre la forme normale de l'enzyme et les autres formes plus exceptionnelles :

1) *La dibucaïne* : on compare la vitesse de réaction en l'absence et en présence de l'inhibiteur (x et y). Les conditions expérimentales sont identiques à celles définies pour la mesure de l'activité. La concentration en dibucaïne est de  $10^{-5}$  M (KALOW et GENEST, 1957).

Le nombre dibucaïne DN est donné par la relation

$$DN = 100 (1 - y/x)$$

L'erreur expérimentale est de  $\pm 2$  unités DN. Dans le cas d'un enzyme normal, le nombre dibucaïne qui s'exprime en « pour cent » sera élevé et on admet qu'il est indépendant de la concentration en enzyme, bien que KALOW et GUNN (1959) aient observé une faible corrélation négative ( $r = -0.097$ ) significative ( $P < 0.01$ ).

2) *Le fluorure de sodium* : HARRIS et WHITTAKER (1961) ont montré que le fluorure de sodium est également un inhibiteur de la pseudocholinestérase et qu'on peut, comme on l'a fait pour la dibucaïne, définir un nombre fluorure FN.

Le fluorure de sodium est utilisé à une concentration de  $5 \times 10^{-5}$  M. L'examen d'une série de sérums a montré qu'il n'existe pas une relation constante entre les résultats obtenus au moyen de la dibucaïne et ceux enregistrés au moyen du fluorure de sodium.

3) *Autres inhibiteurs* : l'action de nombreux autres inhibiteurs a été étudiée (KALOW et DAVIES, 1958 ; HARRIS et WHITTAKER, 1958, 1962, 1963 ; KALOW, 1962, p. 75). Le produit connu sous le sigle RO2-0683, à une concentration  $10^{-8}$  M, tout en donnant des valeurs qualitativement voisines — après un temps d'incubation, de celles obtenues par la dibucaïne, aurait une action cent fois plus forte et établirait une distinction cinq fois meilleure entre les divers phénotypes (KALOW et GUNN, 1959, p. 246 ; LIDDELL *et al.*, 1963, p. 96 ; LEHMANN et LIDDELL, 1964, p. 88).

Cet inhibiteur a été utilisé pour la mise au point d'un test rapide et d'un test par diffusion dans l'agar permettant de détecter certaines variantes de la cholinestérase (GOEDDE *et al.*, 1963 ; HARRIS et ROBSON, 1963 ; GOEDDE et FUSS 1964). Selon SIMPSON et KALOW (1965), les résultats du test par diffusion ne sont pas en parfait accord avec ceux fournis par la méthode spectrophotométrique alors que GOEDDE et ses collaborateurs (1964) trouvent des résultats entièrement concordants sans toutefois que le phénotype UF puisse être distingué.

En résumé, les inhibiteurs sont de trois types :

- 1) le fluorure de sodium dont l'action est encore mal expliquée ;
- 2) des composés organophosphorés qui ne possèdent aucun groupe chargé positivement et dont l'action inhibitrice s'exerce sur toutes les variantes de l'enzyme.
- 3) des composés qui, comme la dibucaïne, possèdent tous un atome d'azote porteur d'une charge positive et ont la propriété d'occuper le site anionique de l'enzyme : ce sont ces inhibiteurs qui ont révélé l'existence du polymorphisme de la pseudocholinestérase et on est donc conduit à admettre que les différences observées résultent d'une particularité du site anionique de l'enzyme (LEHMANN et LIDDELL, 1964 ; BAMFORD et HARRIS, 1964).

#### VARIABILITÉ DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

L'activité enzymatique est une donnée extrêmement variable d'individu à individu et le coefficient de variation dans une population normale peut atteindre 25 % (KALOW et GUNN, 1959).

L'activité pseudocholinestérasique du sérum varie au cours de l'existence des individus. Chez le nouveau-né, la valeur est légèrement inférieure à la moyenne des adultes, valeur qui est atteinte à l'âge de deux mois pour continuer à croître jusqu'au moment de la puberté (LEHMANN *et al.*, 1957) de  $2.52 \pm 1.18$  unités entre 3 et 19 ans (SIMPSON et KALOW, 1963).

Le taux est plus élevé chez les hommes que chez les femmes (RIDDER *et al.*, 1957 ; LEHMANN et LIDDELL, 1964, p. 80) mais cette différence pourrait être une conséquence de la différence de poids entre les individus qui composent les échantillons masculin et féminin : KALOW et GUNN (1959) ont en effet observé une corré-

lation  $r = + 0.24$  ( $P < 0.01$ ) entre le poids et l'activité enzymatique et BERRY *et al.* (1954) ont montré l'existence d'une relation entre cette activité et le développement de la graisse sous-cutanée.

D'autre part, au cours de l'existence adulte, le taux d'activité diminue avec l'âge comme le démontrent les résultats de KALOW et GUNN (1959) qui ont calculé un coefficient de corrélation  $r = 0.323$  ( $P < 0.05$ ), de Liddell sur un échantillon de cinq cents donneurs de sang anglais (LEHMANN et LIDDEL, 1964, p. 80) et de Harris et ses collaborateurs (1963) sur 213 sujets de Tristan da Cunha.

L'activité enzymatique est également influencée par divers états pathologiques (néphrose, hépatite, cancer).

Les taux ont tendance à s'élever après un repas (WETSTONE, TENNANT and WHITE, 1957) et à baisser si le sérum est conservé pendant un temps prolongé à température ordinaire.

En vue de préciser si les variations interindividuelles de l'activité enzymatique dépendent de facteurs génétiques ou doivent être attribuées à des influences mésologiques, SIMPSON et KALOW (1963) ont procédé à l'examen de deux échantillons de sujets normaux, le premier constitué de 25 couples et des 57 enfants qui en sont issus (107 sujets au total), le second composé de 15 paires de jumeaux monozygotes et de 13 paires de jumeaux dizyotes de même sexe.

Dans le premier échantillon, on observe une corrélation de 0,45 entre les valeurs obtenues pour les parents et pour les enfants ( $P = 0,01$ ) mais la variance interfamiliale est plus élevée que la variance intrafamiliale ( $F = 2.42$  ;  $P < 0.01$ ) : le milieu et l'hérédité peuvent également expliquer ce résultat.

Les corrélations intraclasses (comparaison des différences inter-paires et intrapaires) pour les couples de parents et pour les fratries assez semblables, respectivement 0,30 et 0,42, ne sont pas en faveur d'une détermination génétique du taux de l'activité enzymatique.

Pour l'échantillon de jumeaux qui, dans le cas de l'intervention de polygènes serait plus démonstratif qu'un échantillon familial peu fourni, un caractère génétiquement déterminé manifestera une variance « interindividus » semblable, pour les monozygotes et pour les dizyotes mais une corrélation « intrapaires, plus élevée pour les monozygotes que pour les dizyotes. Or dans les échantillons examinés, les corrélations voisines (0.68 pour les MZ et 0.71 pour les DZ) montrent que l'influence des conditions mésologiques est vraisemblablement prédominante.

## DISTRIBUTION DU « NOMBRE DIBUCAINE » DANS UNE POPULATION

Une situation totalement différente se présente si on prend en considération le nombre dibucaïne. Ce nombre dibucaïne est caractéristique de l'enzyme. Il est constant chez un individu : il est indépendant des variations d'activité observées chez un individu, qui sont attribuables aux variations du taux de synthèse et du taux de destruction par exemple (KALOW et GENEST, 1957). Il n'est pas corrélé à l'âge ou au poids (KALOW et GUNN, 1959) et il ne dépend aucunement du temps qui sépare le prélèvement du sérum de la mesure du DN.

En effet, la méthode utilisée pour définir le DN (rapport de deux vitesses de réaction, en présence et en l'absence d'inhibiteur) est telle que même si le taux d'enzyme est bas, le rapport ne s'en trouve pas modifié.

L'ensemble des sujets se répartit en trois groupes d'importance inégale mais très nettement séparés (KALOW et STARON, 1957) :

a) le groupe le plus important qui englobe les sujets ayant des DN compris entre 71 et 85, c'est-à-dire chez qui l'activité est réduite de 71 à 85 % par la présence de dibucaïne  $10^{-5}$  M.

b) un groupe vingt-cinq à trente fois numériquement moins fort où se rangent les sujets dont le nombre dibucaïne se situe entre 43 et 70.

c) quelques rares sujets dont les nombres dibucaïne oscillent autour de 20 ou moins.

Le tableau ci-dessous donne le nombre dibucaïne moyen et l'écart-type d'échantillons des 3 phénotypes, échantillons non tirés au hasard, mentionne le terme qui a servi à désigner le phénotype des sujets inclus dans chacun des groupes et le génotype correspondant tel qu'il sera précisé dans la suite.

Il faut toutefois souligner qu'il est difficile actuellement de comparer les valeurs de moyennes obtenues dans différents laboratoires. On a constaté en effet (KALOW et GUNN, 1959), sans que la cause ait pu en être déterminée, une légère élévation des moyennes des DN des sujets normaux et atypiques pendant une période allant de fin 1957 à l'été de 1958 (pour les sujets normaux, on observait une moyenne de  $81.02 \pm 0.07$  au lieu de la valeur  $78.75 \pm 0.06$  trouvée précédemment). Les trois phénotypes définis au moyen du DN se rencontrent avec les mêmes fréquences dans les deux sexes et dans les différentes classes d'âges.

Groupe		a	b	c
Phénotype		normal	intermédiaire	atypique
Génotype		$E_1^u E_1^u$	$E_1^u E_1^a$	$E_1^a E_1^a$
KALOW et STARON, 1957	N	1495	59	9
	DN (moyenne)	$78.75 \pm 0.06$	$61.9 \pm 0.3$	$15.8 \pm 0.7$
	écart-type	2.28	3.3	2.8
HARRIS et WHITTAKER, 1961	N	179	84	22
	DN (moyenne)	80.06	61.93	21.82
	écart-type	1.56	4.17	2.92
GOEDDE et al., 1964	N	123	50	—
	DN (moyenne)	81.3	64.0	—
	écart-type	2.1	4.2	—

La distinction entre les trois phénotypes est nette quand on utilise le DN alors que la distribution est unimodale pour le taux d'activité parce que le nombre dibucaine lui, n'est pas influencé par les variations qui se produisent nécessairement chez chaque individu (HARRIS *et al.*, 1960).

Résumant la situation, Kalow, en 1959, avance l'hypothèse que les trois phénotypes correspondant à trois génotypes dus aux combinaisons de deux allèles,  $E_1^u$  et  $E_1^a$ , le premier produisant une pseudo-cholinestérase dont l'activité est normale, le second  $E_1^a$  responsable de la formation d'une pseudo-cholinestérase atypique, subissant une faible inhibition de la part des inhibiteurs classiques de l'enzyme normal.

Le sérum des sujets hétérozygotes  $E_1^u E_1^a$  contiendrait alors un mélange des deux formes de l'enzyme : l'étude des relations observées entre le nombre dibucaine et l'activité enzymatique apporte une confirmation de cette façon de voir (HARRIS *et al.*, 1960, p. 7).

Pour un échantillon de 69 sujets répartis en trois groupes selon leur nombre dibucaine (HARRIS *et al.*, 1960), on obtient les valeurs suivantes pour l'activité enzymatique :

Phénotype	Nombre de sujets	Moyenne	s.d.
Normal	23	83.48	20.20
Inter-médiaire	31	56.06	14.30
Atypique	15	21.47	6.55

L'importance de l'écart-type pour l'activité enzymatique montre clairement que, pour les 3 phénotypes, les distributions se recouvrent largement et que la situation peut se schématiser de la façon suivante :

**Unités enzymatiques**

	20	36	60	90	
Homozygotes atypiques : $E_1^a E_1^a$	$E_1^a E_1^a$	+	$E_1^u E_1^a$	Hétérozygotes :	$E_1^u E_1^u$
					+
					$E_1^u E_1^a$
					Homozygotes normaux : $E_1^u E_1^u$

Mais si on établit un graphique où sont portés en abscisses le taux d'enzyme et en ordonnées le nombre dibucaine de chacun des sujets, on observe que :

a) pour le groupe des sujets normaux et le groupe des atypiques, il n'y a pas de corrélation statistiquement significative entre le DN et le taux d'enzyme. Les variations du taux observées ne sont dues qu'au hasard (conditions mésologiques et biologiques nombreuses exerçant toutes une action d'importance à peu près égale.

b) pour le groupe des intermédiaires, on observe entre les séries des deux valeurs une corrélation élevée ( $r = 0.65$ ) et significative

( $P < 0.001$ ) : les hétérozygotes possèdent dans leur sérum deux formes de pseudocholinesterase dans des proportions dépendant du fonctionnement respectif des deux allèles.

#### L'ALLÈLE « FLUORO-RÉSISTANT »

L'utilisation du fluorure de sodium comme inhibiteur donne les valeurs suivantes pour les trois phénotypes définis au moyen de la dibucaïne (HARRIS et WHITTAKER, 1961) :

Phénotype	FN	Écart-type
Normal	61.35	3.21
Intermédiaire	47.79	4.48
Atypique	23.14	2.23

Pour déceler la cause des rares discordances observées entre les résultats obtenus au moyen de la dibucaïne ou au moyen du fluorure de sodium comme inhibiteurs, HARRIS et WHITTAKER (1962) ont examiné un échantillon de 119 sujets se composant de :

1) 22 *propositus* phénotypiquement intermédiaires sous le rapport de leur DN.

2) 19 conjoints de ces sujets, tous présentant un phénotype normal. Trois des conjoints des 22 *propositus* n'ont pu être examinés : ils présentaient vraisemblablement le phénotype normal qui a une fréquence de loin beaucoup plus élevée que les deux autres phénotypes.

3) 78 enfants issus de ces couples, 41 de phénotype normal, 37 de phénotype intermédiaire.

Si on examine la figure 1 où sont reportées les données de HARRIS et WHITTAKER (1962) et celles postérieures de LIDDELL *et al.* (1963), on voit que, par rapport à l'axe des abscisses (nombre dibucaïne), l'ensemble des sujets présenterait une courbe à deux sommets avec un antimode pour la valeur 70 de DN en accord avec les résultats obtenus par Kalow.

Pour le nombre fluorure, porté en ordonnées, bien que la distribution soit également bimodale la discrimination entre les groupes

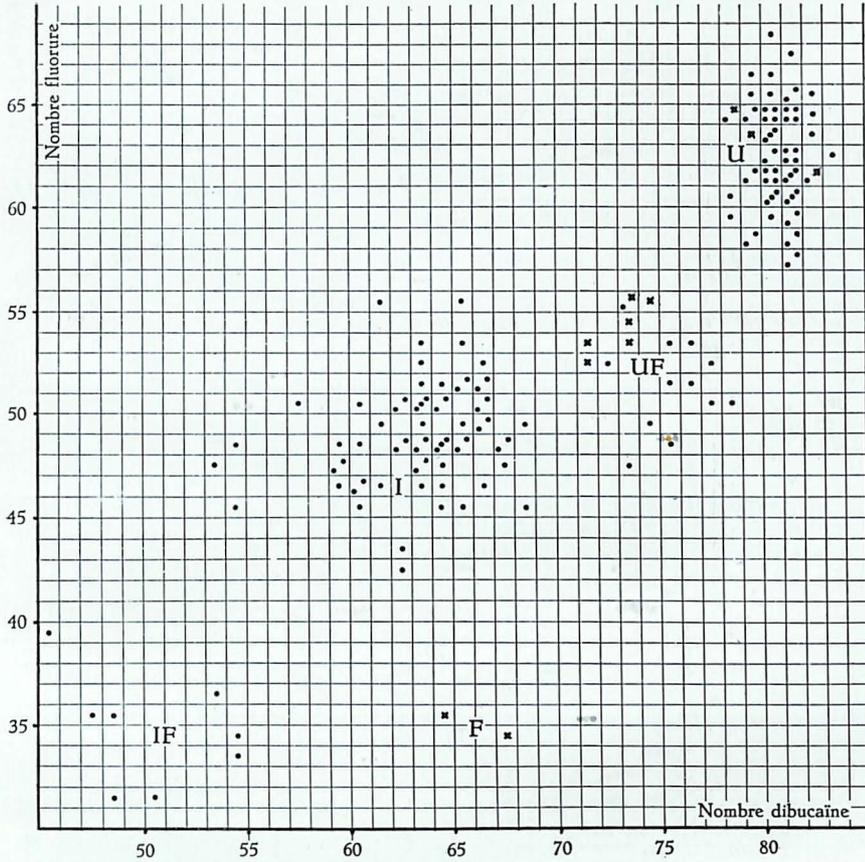


FIG. 1

U + UF (phénotype normal) et I + IF (phénotype intermédiaire), s'estompe.

Si on considère le tableau de corrélation entre le nombre dibucaïne et le nombre fluorure (figure 1), on voit que du groupe U se détachent quelques individus UF à nombre dibucaïne normal, toutefois à la limite inférieure de la normalité, et à nombre fluorure intermédiaire.

Les individus de phénotype normal sous le rapport du nombre dibucaïne se répartissent donc dans deux catégories selon que leur nombre fluorure est normal ou intermédiaire.

De même des individus se détachent du groupe des intermédiaires sous le rapport du nombre dibucaïne (45 à 70) parce que la valeur de leur nombre fluorure est parmi les plus basses observées. Les individus intermédiaires appartiennent donc également à deux phénotypes au moins (I et IF + F).

L'intérêt de ces subdivisions apparaît quand on examine la répartition familiale des phénotypes.

TABLEAU I

**Répartition des phénotypes des enfants issus de 26 mariages**  
(HARRIS et WHITTAKER, 1962 ; LIDDEL *et al.*, 1963).

Types d'unions	Nombre d'unions	Enfants				
		U	UF	I	IF	F
U × I	17	30	—	28	—	—
? × I	3	6	—	4	—	—
U × IF	2 + 2	—	5 + 3	5 + 3	—	—
UF × IF	0 + 1	—	—	—	0 + 3	—
U × F	0 + 1	—	0 + 3	—	—	—
Total	22 + 4	36	5 + 6	37 + 3	0 + 3	—

Nous constatons que l'apparition du phénotype UF est limitée aux descendants d'unions U × IF et que ce phénotype UF ne se rencontre pas chez les enfants issus d'unions U × I.

Ces observations peuvent recevoir deux explications au moins :

a) le locus destiné à la production de la pseudocholinestérase peut être occupé par trois allèles produisant chacun une pseudocholinestérase propre :

	inhibée par la dibucaïne	inhibée par le fluorure de sodium
$E_1^u$	+	+
$E_1^s$	—	—
$E_1^f$	+	—

La combinaison de ces allèles donne 6 génotypes et 6 phéno-

types s'il n'y a pas dominance d'un allèle sur les autres, soit :

Génotypes	Phénotypes	Observés par
$E_1^u E_1^u$	U	KALOW et STARON, 1957
$E_1^u E_1^f$	UF	HARRIS et WHITTAKER, 1961
$E_1^u E_1^a$	I	KALOW et STARON, 1957
$E_1^a E_1^f$	IF	HARRIS et WHITTAKER, 1961
$E_1^f E_1^f$	F	LIDDELL <i>et al.</i> , 1963
$E_1^a E_1^a$	A	KALOW et STARON, 1957

b) une autre solution suggérée par HARRIS et WHITTAKER (1962) encore que les auteurs la considérassent comme moins probable : le caractère est sous la dépendance de deux loci

- 1) un locus avec les deux allèles  $E_1^u$  et  $E_1^a$
- 2) un locus avec un gène modificateur pour lequel l'un des allèles, rare (x), serait responsable des phénotypes UF et IF. On aurait alors, par exemple :

	Gène modificateur		
	XX	Xx	xx
$E_1^u E_1^u$	U	UF	?
$E_1^u E_1^a$	I	IF	?
$E_1^a E_1^a$	A		?

La première hypothèse s'avère la plus probable puisqu'on observe la ségrégation des caractères dans les descendants des unions  $U \times IF$  (voir tableau I).

En effet, dans l'hypothèse d'un seul locus à 3 allèles, aucun des descendants d'unions entre sujets l'un homozygote pour un allèle ( $E_1^u E_1^u$ ), l'autre hétérozygote pour les deux autres allèles ( $E_1^a E_1^f$ ) ne peut être semblable à l'un ou l'autre des parents, alors que la chose est possible dans l'hypothèse de deux loci surtout si ces deux loci sont sur des chromosomes différents ou si, situés sur le même chromosome, ils sont suffisamment éloignés l'un de l'autre.

On a pu montrer grâce à l'établissement des pédigrées que les deux sujets désignés par F dans la figure 1 sont homozygotes pour l'allèle  $E_1^f$  : ils possèdent donc le génotype  $E_1^f E_1^f$ .

L'ALLÈLE « SILENCIEUX »

La distribution des phénotypes dans quatre pédigrées recueillis par différents observateurs (cf. LIDDELL *et al.*, 1962 ; LEHMANN et LIDDELL, 1964) ne peut pas s'expliquer au moyen des trois allèles reconnus jusqu'à présent.

Ce sont des pédigrées dans lesquels notamment un sujet « atypique » (A) est issu d'un père « intermédiaire » (I) et d'une mère « normale » (U) ou d'un père « atypique » (A) et d'une mère « normale » (U). Un exemple en est donné dans la figure 2 A.

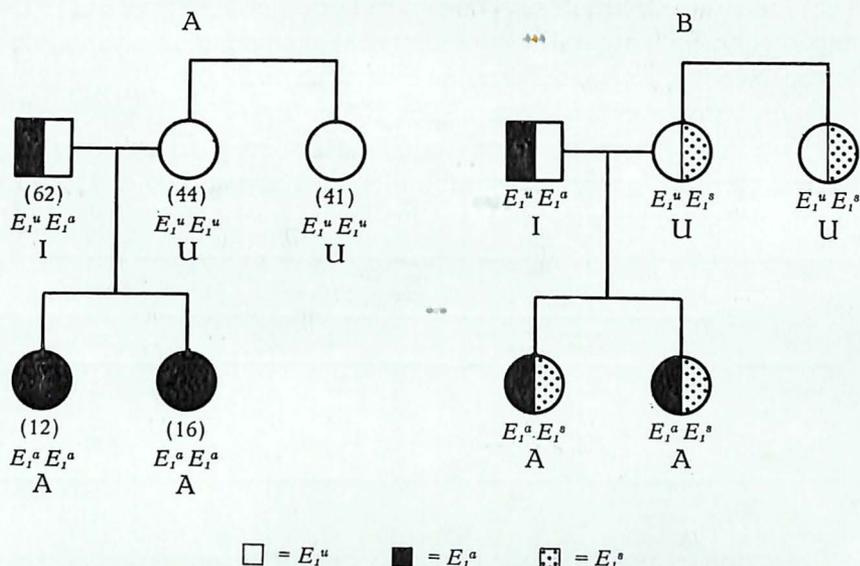


FIG. 2

Modifications apportées à un pédigrée par l'introduction de l'allèle  $E_1^s$ .

Ceci a conduit LIDDELL et ses collaborateurs (1962) à reprendre la première hypothèse de KALOW et STARON (1957) selon laquelle divers allèles produisent la pseudochoolinestérase à des taux différents : un allèle « silencieux », l'allèle  $E_1^s$  ne produit pas d'enzyme. Les individus hétérozygotes se caractérisent par un DN et un FN normaux et par un taux bas d'enzyme. Le sérum des sujets homozygotes  $E_1^s E_1^s$  (un cas connu : LIDDELL *et al.*, 1962) ne posséderait aucune activité pseudochoolinestérasique.

La présence de l'allèle « silencieux » peut être détectée :

- a) chez des sujets dont le sérum ne présente aucune activité cholinestérasique.
- b) dans des pédigrées où se rencontre l'allèle « atypique » et où les trois allèles  $E_1^u$ ,  $E_1^f$ ,  $E_1^a$  ne permettent pas d'expliquer les phénotypes observés.

SIMPSON et KALOW (1964) ont repéré 5 familles supplémentaires répondant à la seconde condition et ont testé trois hypothèses qui pourraient expliquer les faits observés :

a) le gène silencieux est situé à un autre locus du chromosome mais est lié aux gènes de structure  $E_1^u$  et  $E_1^a$ . Étant donné le peu de données actuellement disponibles, cette disposition, similaire à celle qu'on admet pour les groupes Rh, revient à supposer l'existence de quatre allèles au lieu de deux au même locus. Sa vérification ne sera possible que si on peut observer des cas de crossing over.

b) il existe un gène suppresseur (s) qui se ségrège indépendamment du gène de structure : les unions entre un sujet homozygote pour les deux loci et un sujet hétérozygote pour les deux loci ( $E_1^u E_1^u SS \times E_1^u E_1^a Ss$ ) donneront un quart de descendants de phénotype intermédiaire  $E_1^u E_1^a SS$  ; or dans la descendance de ce type de mariage on n'observe actuellement aucun cas de sujet intermédiaire. On devrait également dans cette hypothèse enregistrer une fréquence beaucoup plus élevée de sujets dont le sérum ne présenterait aucune activité pseudocholinestérasique en raison de la haute fréquence de l'allèle  $E_1^u$  et la probabilité élevée qu'il a de s'associer au gène suppresseur s.

Cette seconde hypothèse semble donc pouvoir être abandonnée.

c) le gène « silencieux » est un quatrième allèle situé au même locus que  $E_1^u$ ,  $E_1^a$  et  $E_1^f$ .

Cette hypothèse explique :

- 1) tous les pédigrées actuellement recueillis.
- 2) la très faible fréquence des sujets dont le sérum ne présente aucune activité enzymatique (en principe  $E_1^s E_1^s$ ). Cette fréquence est de 1 : 10.000, la fréquence de l'allèle étant égale à 0,0028.

Elle trouve une confirmation dans la mesure des valeurs de l'activité enzymatique du sérum de sujets hétérozygotes  $E_1^u E_1^s$  et  $E_1^a E_1^s$  qui doivent être respectivement plus basses que celles des homo-

zygotes  $E_1^u E_1^u$  et  $E_1^a E_1^a$  sans que toutefois cette mesure suffise à établir une distinction certaine entre les phénotypes :

phénotype U	1800	205.7 ± 0.9 unités
$E_1^u E_1^s$	6	147.7 ± 26.3 unités arbit.
$E_1^a E_1^a$	32	115.0 ± 5.6
$E_1^a E_1^s$	6	66.4 ± 8.3

En résumé, il semble que le locus intéressé puisse être occupé par 4 allèles qui peuvent donner lieu à 10 génotypes, 4 homozygotes et 6 hétérozygotes, dont les caractéristiques sont reprises dans le tableau 2 (MOTULSKY, 1964).

TABLEAU 2

	$E_1^u$	$E_1^f$	$E_1^a$	$E_1^s$	
$E_1^u$	U	UF	UA=I	U	
	71-83	71-78	52-69	71-83	Nombre dibucaïne
	57-68	50-55	42-55	57-68	Nombre fluorure
	100 %	80 %	78 %	65 %	Taux d'enzyme en %
	0.96		0.035	0.006	Fréq. observée (théorique)
$E_1^f$		F	AF=IF	FS	
		64,67,68	47-53	Inconnu	Nombre dibucaïne
		34,35,35	31-39		Nombre fluorure
		50 %	60 %		Taux d'enzyme en %
		3 cas connus	rare		Fréq. Observée (théorique)
$E_1^a$			A	AS	
			15-25	15-25	Nombre dibucaïne
			20-25	20-25	Nombre fluorure
			25 %	20 %	Taux d'enzyme en %
			(1/3000)	(1/8000)	Fréq. observée (théorique)
$E_1^s$				S	
				—	Nombre dibucaïne
				—	Nombre fluorure
				0	Taux d'enzyme en %
				1 cas (1 × 10 <sup>-5</sup> )	Fréq. observée (théorique)

Ces données peuvent être complétées par celles de WHITTAKER (1964) concernant le taux d'activité enzymatique moyen mesuré

par hydrolyse de la benzoylcholine et son écart-type pour les différents phénotypes et celles de GOEDDE *et al.* (1964) qui ont mesuré l'activité en  $\mu\text{M}$  d'acetylcholine.

	WHITTAKER, 1964				GOEDDE <i>et al.</i> , 1964		
	Nombre sujets	Activité	Écart-type	S.E.	Nombre de sujets	Activité	Écart-type
U	402	103	24	1.20	123	244.60	79.68
UF	19	89	28	6.46	19	220.38	55.00
UA	122	79	23	2.08	50	171.94	29.06
AF	5	61	13	5.70	—	—	
A	46	44	18	2.66	—	—	

L'analyse par GOEDDE et ses collaborateurs (1964) de 408 familles comprenant 771 enfants a montré qu'un modèle génétique impliquant 4 allèles en un locus d'un autosome suffisait à expliquer tous les pédigrées observés.

GOEDDE et BAITSCH (1964) ont récemment suggéré de modifier les nomenclatures proposées par LEHMANN et LIDDELL (1964) et par MOTULSKY (1964) pour préciser les distinctions entre génotype et phénotype et pour éviter de désigner le locus de la pseudocholinestérase par la lettre E déjà utilisée dans les groupes Rh : les allèles sont désignés par  $\text{Ch}_1^u$  ( $= E_1^u$ ),  $\text{Ch}_1^D$  ( $= E_1^a$ ),  $\text{Ch}_1^F$  ( $= E_1^f$ ),  $\text{Ch}_1^S$  ( $= E_1^s$ ), les génotypes par la combinaison deux à deux de ces différents allèles et les phénotypes par  $\text{Ch}_1(\text{UU})$ ,  $\text{Ch}_1(\text{UF})$ ,  $\text{Ch}_1(\text{UD})$ , ...  $\text{Ch}_1(\text{FF})$ .

#### L'HÉTÉROGÉNÉITÉ DE L'ENZYME

La caractérisation des phénotypes au moyen des divers inhibiteurs et la définition des génotypes au moyen de l'analyse génétique ne constituent qu'une première démarche de la recherche. Il est important de préciser la nature des modifications responsables de l'hétérogénéité de la pseudocholinestérase. DUBBS et ses collaborateurs (1960) avaient montré au moyen de l'électrophorèse l'existence d'un doublet à activité pseudocholinestérasique dans la région des  $\alpha_2\beta$  globulines, d'une large zone migrant entre les  $\beta$  et les  $\text{Fa}_2$  et une autre située dans l'albumine.

LIDDELL *et al.* (1962) ont séparé au moyen de la chromatographie sur colonne et de l'électrophorèse sur papier les variantes de l'enzyme  $E^u_1$  et  $E^a_1$ . De plus en comparant le sérum de deux sujets respectivement  $E^a_1 E^f_1$  et  $E^f_1 E^f_1$ , ils ont pu montrer que l'enzyme produit par le gène  $E^f_1 a$ , à un pH alcalin, une mobilité électrophorétique légèrement moindre que  $E^u_1$  mais plus grande que  $E^a_1$  (LIDDELL *et al.*, 1963).

HARRIS et ses collaborateurs (1962 et 1963) ont enrichi ces observations en utilisant soit, l'électrophorèse à deux dimensions (sur papier Whatman 3 à pH 8,6 et gel d'amidon en tampon discontinu de Poulik) soit le gel d'amidon à pH 6,0 (tampon Tris/Citrate). Les zones d'activité estérasique sont révélées au moyen de l' $\alpha$ -naphthylacétate comme substrat et la 5-chloro-o-toluidine (Fast Red TR Salt, Gurr) et différenciées en fonction de leur réaction à divers inhibiteurs.

Quatre zones, présentant une activité pseudocholinestérasique et se situant dans la région des  $\alpha_2\beta$  globulines, désignées par  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  et  $C_4$  se distinguent au moyen de l'électrophorèse à pH 8,6. En outre on observe une zone de même mobilité bidimensionnelle que l'albumine mais dont l'activité n'est pas inhibée par les inhibiteurs de la pseudocholinestérase ou de l'arylestérase (EDTA,  $Ca^{++}$ , physostigmine).

L'intensité plus grande de la zone  $C_4$  laisse supposer qu'elle est responsable de l'activité enzymatique du sérum. La seconde dimension de l'électrophorèse contribue à préciser certaines sous-fractions de la zone  $C_4$  :

- a) une fraction occupant une position oblique, particulièrement importante dans le sang de cordon ou le sang foetal.
- b) deux fractions  $S_1$  et  $S_2$  qui apparaissent dans les sérums conservés à  $+4^\circ$  ou à  $-20^\circ$ , respectivement après plus de 10 jours ( $S_1$ ) et après plusieurs semaines ( $S_2$ )
- c) une fraction  $C_5$  de mobilité moindre que  $C_4$  trouvée régulièrement chez certains sujets et absente chez d'autres (phénotypes  $C_5 +$  et  $C_5 -$ )
- d) un nombre variable de fractions faiblement colorées d'une part entre  $C_3$  et  $C_4$  et d'autre part entre  $C_4$  et la ligne de départ.

L'électrophorèse à une dimension ( $-$  vers  $+$ ) en milieu acide (pH 6,0) sur du sérum dilué au quart au moyen d'eau physiologique donne

- a) une séparation médiocre des fractions  $C_1$ ,  $C_2$ , et  $C_3$ .
- b) une fraction  $C_4$  (moins nette qu'à pH 8,6) avec laquelle se confondent les fractions  $S_1$  et  $S_2$
- c) une bonne résolution de la fraction  $C_5$  pour laquelle cette dernière méthode serait plus sensible.

FRÉQUENCE DU PHÉNOTYPE  $C_5 +$ 

Deux échantillons composés respectivement de 213 sujets de Tristan da Cunha, comprenant des sujets apparentés, et de 248 sujets britanniques, ont été analysés et ont donné lieu aux conclusions suivantes :

- a) la fréquence de  $C_5 +$  est indépendante de l'âge et du sexe du sujet.
- b) tous les sujets  $C_5 +$  appartiennent au phénotype normal. Cette caractéristique est donc indépendante des phénotypes déterminés en se basant sur la valeur des DN et des DF.
- c) les distributions des DN et des DF dans les groupes de sujets  $C_5 +$  et  $C_5 -$  des deux échantillons pris séparément ne sont pas significativement différentes.
- d) l'activité pseudocholinestérasique mesurée par hydrolyse de la benzoylcholine est plus élevée en moyenne de 30 % pour le groupe  $C_5 +$  de phénotype U que pour le groupe  $C_5 -$  ( $135 \pm 3,86$  contre  $103 \pm 1,20$  unités d'activité).

Cette donnée ne permet toutefois pas d'établir une discrimination entre les deux phénotypes parce que les distributions des valeurs pour les sujets des deux groupes se recouvrent très largement.

e) Cette dernière constatation, et le fait qu'une corrélation négative avec l'âge s'observe pour les échantillons de sujets  $C_5 +$  et  $C_5 -$  pris séparément, tendent à exclure la possibilité que l'apparition de la fraction  $C_5$  soit le conséquence d'une élévation du taux d'activité enzymatique.

f) il n'est actuellement pas possible en raison du manque de données, de préciser par quel mécanisme génétique se transmet la fraction  $C_5$ . On observe cependant une très importante concentration familiale du caractère puisque, parmi soixante sujets apparentés à 9 individus possédant la fraction  $C_5$  choisis comme *propositus*, 19 possédaient également la fraction  $C_5$

## DONNÉES ANTHROPOLOGIQUES

Les résultats d'enquêtes portant sur diverses populations du globe sont reprises dans le tableau 3. Tous les tests n'ont pas été appli-

TABLEAU 3

Populations	Fréquences des phénotypes							Auteurs
	N	U	UF	UA (I)	AF (IF)	A	F	
Canadiens	2017	1942	—	74	—	1	—	KALOW et GUNN, 1959
Anglais	317	296	—	21	—	0	—	» »
Anglais	703	676	—	27	—	0	—	KATTAMIS <i>et al.</i> , 1962
Anglais	248	238	1	9	0	0	—	HARRIS <i>et al.</i> , 1963
Allemands	801	763	12	26	0	0	—	GOEDDE <i>et al.</i> , 1964
Allemands (S.O.)	118	113	1	4	0	0	—	GOEDDE et ALTLAND, 1963
Tchèques (Prague)	82	75	0	7	0	0	—	» »
Europe centrale (Allem., Autr., Hong.)	78	75	—	3	—	0	—	KALOW et GUNN, 1959
Slaves (Pol., Russie, Young.)	181	167	—	14	—	0	—	» »
Français-Italiens	84	81	—	3	—	0	—	» »
Grecs	360	347	—	13	—	0	—	KATTAMIS <i>et al.</i> 1962
Portugais	179	173	—	6	—	0	—	»
Berbères	55	53	—	2	—	0	—	»
Marocains (Juifs)	51	50	—	1	—	0	—	»
Israélites	393	368	—	25	—	0	—	SZEINBERG <i>et al.</i> , 1963
Indiens (Mexique)	377	370	—	7	—	0	—	LISKER <i>et al.</i> , 1964
Brésiliens	2138	2056	20	60	1	1	0	SIMPSON et KALOW, 1965
Japonais	100	98	2	0	0	0	—	OMOTO et GOEDDE, 1965
Tristan da Cunha	150	147	3(?)	0	0	0	—	1965
Tristan da Cunha	213	213	0	0	0	0	—	HARRIS <i>et al.</i> , 1963
Australiens (Abor.)	98	97	—	1	—	0	—	HORSFALL <i>et al.</i> , 1963

qués à chacun des échantillons et les fréquences géniques des trois allèles  $E_1^u$ ,  $E_1^a$ ,  $E_1^f$  qui peuvent être estimées à partir des fréquences absolues des phénotypes, ne sont encore que partiellement connues (tableau 4).

L'observation d'un polymorphisme génétiquement déterminé suggère l'intervention, d'une force sélective. Dans le cas de la pseudo-

TABLEAU 4

Populations	Fréquences des allèles		
	$E_1^u$	$E_1^a$	$E_1^f$
Canada	0.981	0.0188 $\pm 0.0021$	—
Angleterre	0.981	0.019	—
Grèce	0.982	0.018	—
Portugal	0.983	0.017	—
Tchécoslovaquie	0.9574	0.0426	—
Allemagne	0.9832	0.0169	—
	0.9762	0.0162	0.0075
Australie (Abor.)	0.9949	0.0051	—
Mexique (Indiens)	0.9908	0.0092	—
Bresil	0.9794	0.0147	0.0049
Japon	0.99	0.00	0.01

cholinestérase, nous ne constatons pratiquement pas de différence significative dans la fréquence des divers allèles pour des populations appartenant à des groupes raciaux bien distincts par d'autres caractères. Cette force sélective semble donc agir faiblement à l'heure actuelle ou s'exercer avec une intensité identique dans les différentes régions. L'absence du phénotype UA dans une échantillon de 250 Japonais ne permet toutefois pas de se montrer, dès à présent, complètement affirmatif sur ce point.

Le rôle joué par la pseudocholinestérase au point de vue physiologique pourra, lorsque nous le connaîtrons, nous aider à déterminer comment agit cette force sélective. Étant donné que c'est le traitement de malades mentaux qui nous a mis sur la voie de la découverte du polymorphisme de la pseudocholinestérase, on a étudié les relations existant entre ces deux ordres de faits. Si l'allèle  $E_1^a$  a une fréquence légèrement supérieure à celle d'une population saine dans un échantillon de 2442 malades mentaux ( $E_1^a = 0,0256 \pm 0,0023$ ), les proportions d'homozygotes et d'hétérozygotes dans ces deux groupes ne sont pas significativement différentes (KALOW et GUNN, 1959, table 5).

En ce qui concerne la fraction  $C_5$  (correspondant au locus  $E_2$  ou  $Ch_2$  dans la nouvelle nomenclature), la différence considérable

TABLEAU 5

Fréquences des phénotypes C<sup>5</sup> +

Populations	N	Freq. abs.	Freq. rel.
Anglais	248	13	0.05
Tristan da Cunha	213	36	0.17
Abor. austral.	104	0	0.00

entre les Anglais et les insulaires de Tristan da Cunha est dépourvue de toute signification anthropologique puisque ce dernier échantillon est composé de sujets apparentés, appartenant à une population fortement endogame descendant d'une quinzaine d'individus seulement.

S'il se confirme que les différents allèles de la pseudocholinestérase se rencontrent dans toutes les populations du globe avec des fréquences identiques et qu'ils ne sont pratiquement sensibles à aucune force sélective, l'intérêt anthropologique de ce caractère n'en reste pas moins très vif. En effet, des recherches appelées à connaître une extension considérable et visant à préciser l'évolution du pool, du capital génétique de petites communautés plus ou moins fermées, pourraient tirer un large parti d'un caractère de ce type.

*Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique  
Section d'Anthropologie et de Préhistoire.*

## BIBLIOGRAPHIE

- BAMFORD, K. F. et H. HARRIS  
1964, Studies on « usual » and « atypical » serum cholinesterase using *a* naphthyl acetate as substrate.  
*Ann. hum. Genet.*, 27 : 417-425.
- BERRY, W. T. C., P. J. COWIN et D. R. DAVIES.  
1954, A relationship between body fat and plasma pseudocholinesterase.  
*Brit. J. Nutrition*, 8 : 79.
- DAVIES, R. O., A. V. MARTON et W. KALOW,  
1960. The action of normal and atypical cholinesterase of human serum upon a serie of esters of choline.  
*Canad. J. Biochem. Physiol.*, 38 : 546-551.
- DUBBS, C. A., Ch. VIVONIA et J. M. HILBURN.  
1960, Subfraction of human serum enzymes.  
*Science*, 131 : 1529-1537.

- GOEDDE, H. W. et K. ALTLAND  
1963, Pseudocholinesterase variant in Germany and in Czechoslovakia.  
*Nature*, 198 : 1203-1204.
- GOEDDE H. W., K. ALTLAND et K. BROSS,  
1963, Genetik und Biochemie der Pseudocholinesterasen.  
*Deutsch. med. Wochenschr.*, 88 : 2510.
- GOEDDE, H. W. et W. FUSS,  
1964, Differenzierung von Pseudocholinesterase-Varianten im Diffu-  
sionstest.  
*Klin. Wochenschr.*, 42 : 286-289.
- GOEDDE, H. W. et H. BAITSCH  
1964, On nomenclature of pseudocholinesterase polymorphism.  
*Acta genet.*, 14 : 366-369.
- GOEDDE, H. W., K. OMOTO, H. RITTER et H. BAITSCH  
1964, Zur formalen Genetik der Pseudocholinesterase.  
*Humangenetik*, 1 : 1-13. \*\*\*
- HARRIS, H. et M. WHITTAKER  
1959, Differential response of human serum cholinesterase types to an  
inhibitor in potato.  
*Nature*, 183 : 1808-1809.
- HARRIS, H., M. WHITTAKER, H. LEHMANN et E. SILK  
1960, The pseudocholinesterases variants.  
*Acta genet.*, 10 : 1-16.
- HARRIS, H. et M. WHITTAKER  
1961, Differential inhibition of human serum cholinesterase with  
fluoride: recognition of two new phenotypes.  
*Nature*, 191 : 496-498.
- HARRIS, H., D. A. HOPKINSON et E. B. ROBSON  
1962, Two-dimensional electrophoresis of pseudocholinesterase com-  
ponents in normal human serum.  
*Nature*, 196 : 1296.
- HARRIS, H. et M. WHITTAKER  
1962, The serum cholinesterase variants. A study of twenty-two families  
selected via the «intermediate» phenotypes.  
*Ann. hum. Genet.*, 26 : 59-72.
- HARRIS, H. et M. WHITTAKER  
1962, Differential inhibition of the serum cholinesterase phenotypes by  
solanine and solanidine.  
*Ann. hum. Genet.*, 26 : 73-76.
- HARRIS, H., D. A. HOPKINSON, E. B. ROBSON et M. WHITTAKER  
1963, Genetical studies on a new variant of serum cholinesterase de-  
tected by electrophoresis.  
*Ann. hum. Genet.*, 26 : 359-382.
- HARRIS, H. et M. WHITTAKER  
1963, Differential inhibition of «usual» and atypical cholinesterase  
by NaCl and NaF.  
*Ann. hum. Genet.*, 27 : 53-58.

- HARRIS, H. D. et E. B. ROBSON  
1963. Screening tests for the « atypical » and « intermediate » serum-cholinesterase types.  
*Lancet*, 2 : 218-221.
- HORSFALL, W. R., H. LEHMANN et D. DAVIES  
1963. Incidence of pseudocholinesterase variants in Australian aborigines.  
*Nature*, 199 : 115.
- KALOW, W.  
1959. Cholinesterase types. In : *Ciba Foundation symposium. Biochemistry of human genetics*. London, J. A. Churchill, pp. 39-59.
- KALOW, W.  
1962. Pharmacogenetics.  
Philadelphia : W. B. Saunders Co.
- KALOW, W. et H. A. LINDSAY  
1955. A comparison of optical and manometric methods for the assay of human serum cholinesterase.  
*Canad. J. Biochem. Physiol.*, 33 : 568-574.
- KALOW, W., K. GENEST et N. STARON  
1956. Kinetic studies on the hydrolysis of benzoycholine by human serum cholinesterase.  
*Canad. J. Biochem. Physiol.*, 34 : 637.
- KALOW, W. et D. R. GUNN  
1957. The relation between dose of succinylcholine and duration of apnea in man.  
*J. Pharmacol.*, 120 : 203-214.
- KALOW, W. et K. GENEST  
1957. A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers.  
*Canad. J. Biochem. Physiol.*, 35 : 339-346.
- KALOW, W. et N. STARON  
1957. On distribution and inheritance of human serum cholinesterase as indicated by dibucaine numbers.  
*Canad. J. Biochem. Physiol.*, 35 : 1305-1317.
- KALOW, W. et R. O. DAVIES  
1958. The activity of various esterase inhibitors towards atypical human serum cholinesterase.  
*Biochem. Pharmacol.*, 1 : 183-192.
- KALOW, W. et D. R. GUNN  
1959. Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum.  
*Ann. hum. Genet.*, 23 : 239-250.
- KATTAMIS, Chr., L. ZANNOS-MARIOLEA, A. P. FRANCO, J. LIDDELL, H. LEHMANN, D. DAVIES  
1962. Frequency of atypical pseudocholinesterase in British and Mediterranean populations.  
*Nature*, 196 (4854) : 599-560.

- LEHMANN, H. et E. RYAN  
1956, The familial incidence of low pseudocholinesterase level.  
*Lancet*, 2 : 124.
- LEHMANN, H., J. COOK et E. RYAN  
1957, Pseudocholinesterase in early infancy.  
*Proc. Roy. Soc. Med.*, 50 : 147-150.
- LEHMANN, H., V. PATSTON et E. RYAN  
1958, The inheritance of an idiopathic low plasma pseudocholinesterase level.  
*J. Clin. Path.*, 11 : 554.
- LEHMANN, H., E. SILK, H. HARRIS et M. WHITTAKER  
1960, A new pseudocholinesterase phenotype?  
*Acta genet.*, 10 : 241-246.
- LEHMANN, H., J. LIDDELL, B. BLACKWELL, D. C. O'CONNOR et A. V. DAWS  
1963, Two further serum pseudocholinesterase phenotypes as causes of suxamethonium apnoea.  
*Brit. Med. J.*, 1 : 1116-1118.
- LEHMANN, H. et J. LIDDELL  
1964, Genetical variants of human serum cholinesterase.  
In : *Progress in medical genetics*, 3 : 75-105.
- LIDDELL, J., H. LEHMANN, D. DAVIES et A. SHARIH  
1962, Physical separation of pseudocholinesterase variants in human serum.  
*Lancet*, 1 : 463-464.
- LIDDELL, J., H. LEHMANN et E. SILK  
1962, A «silent» pseudocholinesterase gene.  
*Nature*, 193 : 561-562.
- LIDDELL, J., H. LEHMANN et D. DAVIES  
1963, Harris and Whittaker's pseudocholinesterase variant with increased resistance to fluoride.  
*Acta genet.*, 13 : 95-108.
- LISKER, R., C. DELMORAL et A. LORIA  
1964, Frequency of the atypical pseudocholinesterase in four Indian (Mexican) tribes.  
*Nature*, 202 : 815.
- MOTULSKY, A. G.  
1964, Pharmacogenetics.  
In : A. G. Steinberg et A. G. Bearn, *Progress in Medical genetics*, 3 : 52-56.
- OMOTO, K. et H. W. GOEDDE  
1965, Pseudocholinesterase variants in Japan.  
*Nature*, 205 (4972) : 726.
- RUBINSTEIN, H. M. et A. A. DIETZ  
1963, Human serum cholinesterase. II. A comparison of the hydrolysis-rate of acetylcholine and benzoylcholine by normal and abnormal sera.  
*J. Lab. clin. Med.*, 61 : 979-986.

- RIDER, J. A., J. L. HODGES, S. SWADER et A. D. WIGGINS  
1957, Plasma and red cell cholinesterase in 800 « healthy » blood donors.  
*J. Lab. clin. Med.*, 50 : 376-383.
- SIMPSON, N. E. et W. KALOW  
1963, Serum cholinesterase levels in families and twins.  
*Amer. J. hum. Genet.*, 15 : 280-287.
- SIMPSON, N. E. et W. KALOW  
1964, The « silent » gene for serum cholinesterase.  
*Amer. J. hum. Genet.*, 16 (2) : 180-188.
- SIMPSON, N. E. et W. KALOW  
1965, Comparisons of two methods for typing of serum cholinesterase and prevalence of its variants in a Brazilian population.  
*Amer. J. hum. Genet.*, 17 (2) : 156-162.
- SZEINBERG, A., M. MAYER, Z. EISENBERG, E. OSTERFELD, R. BAR-OR et R. EZRA  
1963, Atypical pseudocholinesterase and sensitivity to suxamethonium in Jewish subjects.  
*Israel med. J.*, 22 : 137.
- WETSTONE, H. J., R. TENNANT et B. V. WHITE  
1957, Studies of cholinesterase activity. 1. Serum cholinesterase, methods and normal values.  
*Gastroenterology*, 33 : 41-49.
- WHITTAKER, M.  
1964, The pseudocholinesterase variants : esterase levels and increased resistance to fluoride.  
*Acta genet.*, 14 : 281-285.