

PRACE POGLĄDOWE

JERZY WOSZCZYK

NIEKTÓRE PROBLEMY BIOCHEMII W ANTROPOLOGII

Z Kliniki Chirurgii Ogólnej Instytutu Chirurgii AM w Poznaniu
Dyrektor: prof. dr med. Roman Drews

Rozwój biochemii stworzył dla antropologii możliwość rozszerzenia badań na cechy, które stanowią podłoże zjawisk morfologicznych i wynikają ze zróżnicowania białek w populacjach ludzkich. Uzyskane dotychczas wyniki pozwalają sądzić, że różnice osobnicze pod względem biochemicznym są najprawdopodobniej znacznie poważniejsze niż różnice morfologiczne [29]. Liczba ich też jest olbrzymia. Gdyby np. uwzględnić wszystkie grupy krwi i białka grupowe surowicy, odkryte po roku 1950, to tylko na tej podstawie można by wyodrębnić wiele milionów wariantów osobniczych.

W osoczu ludzkim występuje wiele różnorodnych substancji białkowych, z których pod względem funkcjonalnym można wyodrębnić następujące grupy: 1) białka spełniające rolę koloidalno-osmotyczną (albuminy), 2) białka wiążące metale (ceruloplazmina, siderofilina), 3) białka wiążące hemoglobinę (haptoglobina), 4) białka transportujące lipidy (lipoproteidy alfa i beta), 5) przeciwciała (izohemaglutyniny, gamma-globuliny), 6) białka układu krzepnięcia krwi (np. włóknik, globulina akceleratorowa, protrombina i inne), 7) białka śladowe (hormony i enzymy).

Sformułowanie molekularnej teorii zaburzeń syntezy czy funkcji białek spowodowało, że nie wystarcza już oznaczanie ilości enzymów i białek osocza, ale konieczne staje się podanie ich aktywności biologicznej. Do takiego podejścia zmusza przede wszystkim istnienie wrodzonych genetycznie uwarunkowanych wad metabolicznych coraz częściej rozpoznawanych w klinice. Badanie cech biochemicznych pod tym kątem, chociaż dotąd nie było domeną antropologów, może jednak być przedmiotem ich zainteresowań.

Niemal wszystkie ze znanych obecnie (około 100) genetycznie uwarunkowanych anomalii przemiany materii dziedziczą się recesywnie, a do ujawnienia się choroby dochodzi przy przekazaniu danej cechy przez oboje rodziców. Sądzi się, że przeciętnie anomalie przemiany materii wa-

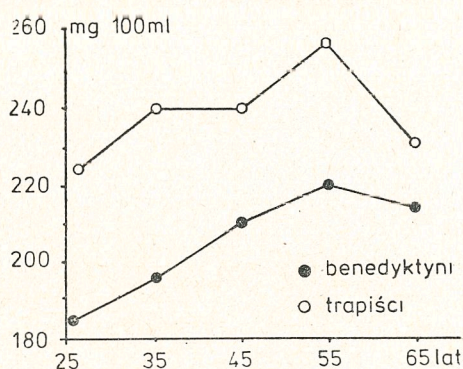
runkuje około 10 genów, których nosicielem jest każdy człowiek i pod względem cech uwarunkowanych przez te geny jest heterozygotą. U takich heterozygotycznych osobników, mimo braku wyraźnych objawów choroby wystąpić mogą zaburzenia metabolizmu. W takich warunkach, przy empirycznym określaniu norm dla prawidłowych procesów przemiany materii, powstaje nie do uniknięcia błąd, wynikający z obecności wśród badanych — osobników z defektem metabolicznym, których nie da się wyeliminować (oznaczenia ceruloplazminy w chorobie Wilsona albo kwasu moczowego w rodzinach obarczonych podagrą). Genetycznie uwarunkowane anomalie przemiany materii najwyraźniej przejawiają się w izolowanych populacjach. W normalnych warunkach, na skutek znacznego wymieszania grup ludzkich, anomalie takie spotyka się w pojedynczych przypadkach.

Dzięki rozwojowi biochemii na przestrzeni ostatnich lat badania antropologiczne mogły odkryć liczne defekty przemiany materii charakterystyczne dla pewnych grup ludności. Klasycznym przykładem takich zaburzeń w przemianie materii jest anemia sierpowata, występująca prawie wyłącznie u Murzynów i polegająca na istnieniu nieprawidłowej hemoglobiny (HbS) w krwinkach czerwonych. Innymi przykładami badania zaburzeń w przemianie materii są oznaczenia poziomu kwasu moczowego w rodzinach obciążonych podagrą albo oznaczenie poziomu ceruloplazminy w chorobie Wilsona (zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe).

Istotne dla wymienionych wyżej badań zagadnienie wyznaczenia wartości prawidłowych (norm populacyjnych) nie jest rozwiązane jednoznacznie. Wśród metod podejścia do tego problemu wymienić należy metody: indukcyjne, dedukcyjne i kombinowane [19]. Wielkości biochemiczne zależne są najogólniej od trzech grup czynników. Są nimi czynniki genetyczne wewnątrzustrojowe i zewnątrzustrojowe. Czynniki wewnątrzustrojowe to te, które wpływają bezpośrednio na parametry przemiany materii. Zmiany, które powodują, można stwierdzić zarówno we wczesnym dzieciństwie, jak i w późnej starości. W tej grupie znajdują się też czynniki zależne od płci, bezobjawowo przebiegających stanów chorobowych, wpływu ciąży fizjologicznej [30]. Przykładem ilustrującym tę grupę jest np. zależność od wieku [18] zawartości w ustroju cholesterolu czy ceruloplazminy.

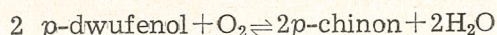
Do grupy czynników zewnątrzustrojowych zalicza się te, które zależą np. od sposobu odżywiania (jako przykład tych uwarunkowań można przytoczyć różnice w poziomie cholesterolu u trapiistów i benedyktynów [2] (ryc. 1). Do nich należą też czynniki psychiczne (pepsynogen) w stanach stressu) czy aktywność enzymów surowicy krwi, w zależności np. od aktywności mięśniowej (wpływ treningu sportowego) [7, 26].

Wbrew oczekiwaniom i rozpowszechnionym dotychczas poglądom występowanie rozkładu normalnego dla cech biochemicznych zdarza się bardzo rzadko. Wynika to najprawdopodobniej z przedstawionych wyżej za-

Ryc. 1. Poziom cholesterolu u trapiś-
tów i benedyktynów

ležności tych cech od zbyt dużej liczby znanych obecnie lub jeszcze nie znanych rozmaitych czynników.

Jako przykład trudności wynikających ze specyfiki cech biochemicznych przedstawiono w niniejszym doniesieniu wyniki badania poziomu ceruloplazminy w surowicy krwi mężczyzn z Poznania. Ceruloplazmina [E. C. 1, 10, 3, 2] oksydoreduktaza *p*-chinol: tlen została wykryta przez Holmberga i Laurella [9, 10] w surowicy ludzkiej i wieprza. Enzym ten katalizuje reakcję:



stąd też nazwa oksydaza *p*-dwufenolu [13]. Jest główną oksydazą osocza krwi [14, 28], kontroluje układ hematopoezy [23] oraz reguluje proces wchłaniania miedzi w przewodzie pokarmowym [12, 22]. Białko to wiąże 90 - 96% wszystkich jonów miedzi w surowicy i dlatego przypisuje się mu rolę przENOŚNIKA miedzi w organizmie [6]. Stany obniżonego poziomu tego białka albo jego wzrostu były przedmiotem zainteresowań licznych autorów [1, 3, 4, 6, 11, 16, 21, 27]. Badania LUSCHA i RAMSAYA zdają się wskazywać na udział ceruloplazminy w wiązaniu żelaza [cyt. wg 24]. Potwierdzono to w dalszych pracach z pomocą radiospektroskopii metodą rezonansu paramagnetycznego [3].

W piśmiennictwie dotyczącym poziomu ceruloplazminy w surowicy ludzi spotykamy się z dużym rozrzutem wyników uwarunkowanym przede wszystkim różnymi metodami oznaczania białka. Średni poziom białka wiążącego miedź określa RAVIN [17] na $0,323 \pm 0,049$ g/litr. SUNDERMAN [25] podaje go na poziomie $0,315 \pm 0,049$ g/litr. Wyniki podane przez COXA [25] dla 66 mężczyzn i 74 kobiet wynoszą odpowiednio (średnia — SD): dla mężczyzn $0,301 \pm 0,045$, dla kobiet $0,311 \pm 0,057$ g/litr. Jedynie JEROME [25] aktywność oksydazy — PFD określa dla niewielkiej grupy mężczyzn na poziomie $0,357 \pm 0,061$, a dla kobiet $0,435 \pm 0,061$ g/litr. W metodach immunodyfuzji SANDOR [2] i HARALAMBIE [cyt. wg

25] otrzymywali wyniki bliskie tym, jakie uzyskuje się w metodach utleniania PFD. Znaczniejsze różnice obserwuje się przy zastosowaniu metod chromatograficznych lub spektrofotometrycznych gdzie według Tripa [25] stężenie ceruloplazminy w surowicy ludzkiej określa się na poziomie $0,263 \pm 0,037$ g/litr [cyt. wg 25].

Niniejsze doniesienie oparto na określeniu aktywności oksydazowej PFD (ceruloplazminy) w surowicy krwi 314 mężczyzn poborowych w Poznaniu, wybranych losowo wśród zakwalifikowanych do oddania honorowo krwi. Wiek badanych wahał się w granicach 19 - 23 lata. Krew pobierano z żyły łokciowej do silikonowanych probówek i przechowywano surowicę do czasu opracowania w temperaturze lodówki ($4 - 10^{\circ}\text{C}$).

W oznaczeniach posługiwano się metodą według Ravina [8, 17, 20, 25], której zasada oparta jest na reakcji enzymatycznego utleniania dwuchlorowodoru p-fenylendiaminy (PFD).

Wyniki aktywności oksydazowej PFD dla próby losowej 314 mężczyzn nie odbiegają od wartości podanych przez Ravina i wynoszą średnio $0,317 \pm 0,003$ g/litr, przy znacznym rozrzucie wartości białka (zakres zmienności $0,172 - 0,427$ g/litr), odchyleniu standardowym $0,068 \pm 0,002$ i współczynnikiem zmienności $v = 21,4 \pm 0,9$. Rozkład zmiennej losowej poziomu oksydazy — PFD (rozkład empiryczny) oraz teoretycznie oczekiwane częstości odpowiadające rozkładowi normalnemu przedstawia tab. 1. Na podstawie danych tej tabeli sprawdzono zgodność uzyskanego rozkładu z rozkładem normalnym w oparciu o test χ^2 . Uzyskana z danych empirycznych

Tab. 1. Analiza zmiennej losowej poziomu ceruloplazminy (eksydazy PFD) w badanej populacji mężczyzn ($n = 314$)

Poziom ceruloplazminy mg/100	Liczebność w próbie V_i	Granica górna zmienna standary- zowana	P_i	Rozkład teore- tyczny nP_i	$V_i - nP_i$	$\frac{V_i - nP_i^2}{nP_i}$
17,25 - 19,74	8	-1,91	0,0280	8,8	0,8	0,073
19,75 - 22,24	21	-1,55	0,0325	10,3	10,7	10,1
22,25 - 24,74	27	-1,175	0,0594	18,8	8,2	3,4
24,75 - 27,24	35	-0,825	0,0849	26,8	8,2	2,38
27,25 - 29,74	40	-0,463	0,1171	37,4	2,6	0,18
29,75 - 32,24	36	-0,101	0,1384	43,8	-7,8	1,43
32,25 - 34,74	37	0,260	0,1422	45,0	-8,0	1,42
34,75 - 37,24	41	0,620	0,1304	41,2	-0,2	0,001
37,25 - 39,74	24	0,985	0,1050	33,2	-9,2	2,56
39,75 - 42,24	21	1,35	0,0838	26,4	-5,4	1,1
42,25 - 44,74	14	1,70	0,0439	13,8	0,2	0,1
44,75 - 47,24	10	2,07	0,0254	8,0	2,0	0,5

wartość $\chi^2=23,167$ jest większa zarówno od wartości $\chi^2_{0,05}=16,919$, jak i $\chi^2_{0,01}=21,666$ (przy liczbie stopni swobody 9). Tak więc hipotezę zgodności uzyskanego rozkładu z rozkładem normalnym należy odrzucić przy obu zastosowanych poziomach istotności (0,05 i 0,01).

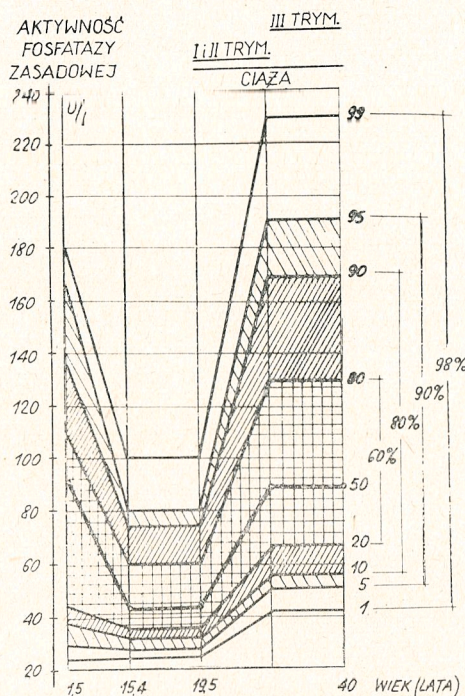
Podobne wyniki uzyskano dla rozkładu ceruloplazminy w innej, liczącej 149 badanych, grupie poborowych mężczyzn. Tendencja braku zgodności rozkładów: empirycznego i ustalonego rozkładu teoretycznie normalnego bywa często obserwowana w przyrodzie. Wynika ona bowiem z asymetrii (skośności) rozkładu cech: biochemicznych, fizjologicznych, psychometrycznych i somatycznych. Pokazano to na zestawieniu tabelarycznym (tabela 2).

Tab. 2. Charakter rozkładu cech biochemicznych i fizjologicznych w wybranych grupach badanych

	Średnia	Wariancja	Odchyl. standardowe	Współczynniki zmienności	Skośność	Splaszczanie
Mężczyźni						
Ceruloplazmina (149)	34,36	50,14	7,08	20,61	0,3517	-0,4944
Ceruloplazmina (314)	31,72	47,33	6,88	21,69	0,1232	-0,7350
Kobiety — SAP						
Gr. kontrolna (148)	44,5	515	22,7	51,06	2,0964	8,2318
Ciąża III-trym, (300)	100,3	1800,6	44,8	43,2	0,76	
					PWS*	
Ciąża ogółem (544)	62,67	108,33	10,41	19,76	0,3538	-0,0866
Fibrynogen (193)	384,2	3736,0	193,3	50,31	0,9525	0,5878
Protrombina (250)	38,6	1223,41	34,98	90,63	1,7675	0,3529
Trombina (250)	35,8	1312,0	36,22	101,2	1,7500	1,3816
Tętno (271)	87,51	143,07	11,96	14,67	0,8895	1,4622
Ciśnienie skurcz. (140)	126,07	218,57	14,78	11,73	0,4005	1,5806
Ciśnienie rozkurcz. (140)	81,06	105,04	10,24	12,60	0,3833	0,0289

* PWS — pearsonowski współczynnik skośności.

Wobec wykazanej skośności (często nawet bardzo znacznej) jest oczywiste, że stosowanie miar o tendencji centralnej jest niewłaściwe. W ustaleniach wartości normatywnych otrzymujemy często taką sytuację, że zakres normy wyznaczony przy użyciu średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego przedstawia artefakty (wielkości nieobserwowane). Bywa tak, że dla cech biochemicznych, np. poziomu witaminy C, aktywności fosfatazy zasadowej SAP i innych otrzymujemy wartości ujemne przy wyznaczaniu wąskiej lub poszerzonej normy. Dla tych powodów powinny znaleźć szersze zastosowanie ujęcia centylowe. Zaletą tego postępowania jest możliwość określenia pozycji, jaką zajmują wyniki u poszczególnych badanych w stosunku do wartości uznanej za prawidłową. Takie postępowanie przedstawiono dla oceny rozkładu aktywności fosfatazy za-

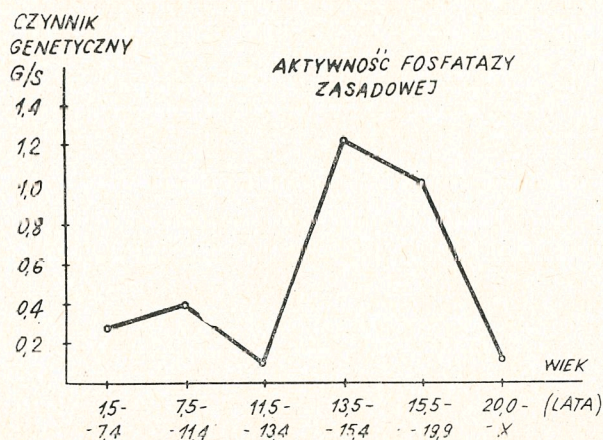


Ryc. 2. Rozkład aktywności SAP u kobiet w grupach wieku oraz w ciąży fizjologicznej: I i II trymestr oraz III trymestr

sadowej SAP. W tym ujęciu aktywność SAP przedstawiono dla różnych grup badanych kobiet: 84 dziewczęta, 148 kobiet w wieku 20 - 40 lat oraz 30 kobiet z niepowikłanym przebiegiem ciąży. Wyniki badań przedstawiono na wykresie (ryc. 2).

Pomiędzy 10 a 90 centylem mieszczą się aktywności dla 80% badanych kobiet. Zakres ten obejmuje „wąską normę” aktywności SAP. Centyle 5 do 95 obejmują aktywności enzymu u 90% badanych i wyznaczają szersze granice wartości przyjmowanych za prawidłowe. Zakres ten jest zbliżony do ogólnie uznawanego kryterium przyrodniczego 0,95, w którym przyjmuje się za normalne te z cech, które reprezentuje 95% badanej populacji [29]. W kontekście układu norm centylowych wartości cech powyżej 95 centyla oraz poniżej 5 centyla graniczą z aktywnościami patologicznymi i dlatego powinny być przedmiotem szczególniejszej uwagi (np. kontroli lekarskiej) bądź stanowią tzw. „osobliwości metabolizmu”.

Oznaczenie aktywności SAP wykonano też u 234 mężczyzn w wieku 1,5 - x lat celem ustalenia różnic międzypłciowych oraz kontroli zjawiska skośności w rozwoju ontogenetycznym. Można było w ten sposób spraw-



Ryc. 3. Czynnik różnic międzypłciowych dla aktywności SAP w grupach wieku zwany tutaj czynnikiem genetycznym

dzić wartość różnicującą: ujmującą różnice międzypłciowe w grupach wieku dla aktywności enzymu. Przedstawiono to na wykresie (ryc. 3).

Wykres wielkości zmian czynnika różnic międzypłciowych w przypadku aktywności SAP dla grup wieku odrębnych płci ma wartość różnicującą w okresie dojrzewania i aż po uzyskanie pełnej dojrzałości (nieco ponad 20 lat). Znaczna odrębność wyników aktywności enzymu u mężczyzn i kobiet w przedziale wieku 11,5 do 20,0 lat wskazuje na potrzebę stosowania dla tych grup wieku (w przypadku tej cechy) odrębnych norm, innych dla chłopców i innych dla dziewcząt.

Podniesiony wcześniej problem skośności rozkładów, np. w przypadku SAP, cechuje znaczna zmienność. O ile w okresie do pokwitania wykazuje niewielką skośność, to rozkład wysoce dodatnio skośny występuje w okresie po pokwitaniu i to zarówno dla mężczyzn i kobiet.

PISMIENNICTWO

1. Adelstein S. i wsp., New. Engl. J. Med. 255, 1956, 105. * 2. Barrow J. G. i wsp., Ann. Int. Med. 52, 1960, 368. * 3. Bauman J. H., Harris J. W., J. Lab. Clin. Med. 70, 1967, 246. * 4. Broman L. i wsp., Bioch. Biophys. Acta. 75, 1963, 365. * 5. Czechowski T. i wsp., *Tablice statystyczne*. Warszawa 1957. * 6. Gubler C. J. i wsp., Fed. Proc. 14, 1955, 135. * 7. Hauss W. H., Leppelmann H. J., Ann. N. Y. Acad. Sci. 75, 1958, 255. * 8. Henry R. i wsp., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 1960, 620. * 9. Holmberg C. G., Laurell C. B., Acta Med. Scand. 2, 1948, 550. * 10. Holmberg C. G., Laurell C. B., Acta Chem. Scand. 5, 1951, 476. * 11. Johnson D. A. i wsp., Clin. Chem. 13, 1967, 142. * 12. Kimmel J. R. i wsp., J. Biol. Chem. 46, 1959, 234. * 13. Komitet Biochemii i Biofizyki PAN, *Enzymy, nomenklatura i klasyfikacja*. Warszawa 1967. * 14. Poulik M. D., Biochim. Biophys. Acta 44, 1960, 390. * 15. Phelps R. A., Putnam F. W., *The*

Plasma Proteins Academic Press N. Y. 1960. * 16. Prasat Z., *Postępy Bioch.* 13, 1967, 43. * 17. Ravin H. A., *J. Lab. Clin. Med.* 58, 1961, 161. * 18. Richterich R., *Wilson's Disease*, wyd. J. M. Walske J. N. Cumings Oxford Univ. Press. Oxford 1961. * 19. Richterich R., *Chemia kliniczna*. Warszawa 1971. * 20. Rice E. W. i wsp., *Stand. methodes of clinical chemistry*. Vol. 4. Academic Press. N. Y. 1963. * 21. Rice E. W., *Clin. Chim. Acta.* 6, 1961, 652. * 22. Scheinberg J. H., Morell A. G., *J. Clin. Invest.* 36, 1957, 1193. * 23. Shimizu M. i wsp., *J. Bioch. (Tokyo)* 49, 1961, 673. * 24. Sturkie P. D., *Fizjologia ptaków*. Warszawa 1970. * 25. Sunderman F. W. Jr., Shozo Namoto., *Clin. Chem.* 16, 1970, 903. * 26. Tessari D. L., *Aumento di attivita dello lattico — deidrogenasi sevisa nel corso del lavoro muscolare nell'uomo. I° Simposium Europeo di Enzimologia Medica Basel (Schweic)* S. Kargen. New York 1961. * 27. Wald J. i wsp., *Post. Hig. Med. Dośw.* 13, 1959, 697. * 28. Walter Ch., Friedon E., *Fed. Proc.* 21, 1962, 246. * 29. Williams R. J., *Biochemical Individuality*. New York N. Y. Wiley 1956. * 30. Woszczyk J., *Wiad. Lek.* 24, 1971, 201.

CERTAINS PROBLÈMES DE BIOCHIMIE DANS L'ANTHROPOLOGIE

PAR J. WOSZCZYK

L'auteur fait l'essai d'apprécier l'importance de certains caractéristiques biochimiques pour l'anthropologie. Il indique les difficultés pour établir les normes biochimiques à cause de facteurs génétiques, qui influent sur les paramètres biochimiques. Comme exemple il présente la tâche de dresser une norme de ceruloplasmine dans le sang de 314 hommes âgés de 18-23 ans. Il attire l'attention sur une concordance excessive des chiffres empiriques et théoriquement normales.

SOME PROBLEMS OF BIOCHEMISTRY IN ANTHROPOLOGY

BY J. WOSZCZYK

An attempt has been made to estimate the value of attributes of biochemistry for anthropology. Difficulties were pointed out in calculating the correct values (standards) for population in connection with inborn, genetically conditioned defects of metabolism. Three groups of agents which influence the size of biochemical parameters were treated only in a very general way. They are the genetic intra- and extra-constitutional agents. To examine the problem of so-called biological norm the population of enlisted men ($n=314$) was used, for whom the level of ceruloplasmine in their blood serum was fixed. The obtained empiric decomposition was compared with the theoretically normal one. The two decompositions show some differences. The extent of these differences is calculated in test χ^2 .

In evaluating the type of ceruloplastic decomposition in the population of recruited men attention was paid to the rare, almost exceptional unity in occurrence of decompositions: of the empiric and the theoretically normal one.