

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Butyrylcholinesteráza a její využití jako prognostického markeru

Klára Šepsová

Bakalářská práce

2018

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Butyrylcholinesterase as a prognostic marker

Klára Šepsová

Bachelor thesis

2018

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Klára Šepsová**  
Osobní číslo: **C14344**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Butyrylcholinesteráza a její využití jako prognostického markeru**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se enzymů ze skupiny cholinesteráz.
2. V první části se zaměřit na popis jednotlivých cholinesteráz, odlišnosti jednotlivých enzymů a popsat mechanismus účinku.
3. Druhou část věnovat podrobnému popisu butyrylcholinesterázy, popsat její funkce v organismu na různých úrovních a genetické varianty.
4. V poslední části věnovat pozornost využití butyrylcholinesterázy jako prognostického markeru při různých onemocněních, možnostem léčby a metodám stanovení tohoto enzymu.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Katarína Vorčáková, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce:

**27. listopadu 2017**


Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

## **Prohlášení**

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 29.06.2018

Šepsová Klára

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Kataríně Vorčákové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a pomoc při vypracování, zejména za bezproblémovou a rychlou komunikaci a poskytnutí spousty cenných rad v průběhu psaní mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat svým kamarádkám, které byly ochotné mi pomoci s řešením jakéhokoliv problému. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za neustálou podporu.

## **Anotace**

Tato bakalářská práce se zabývá butyrylcholinesterázou jako jednou z hlavních lidských cholinesteráz. Podrobně popisuje jednotlivé cholinesterázy, jejich odlišnosti a mechanismy účinku. Dále pojednává o funkci butyrylcholinesterázy v organismu a jejích genetických variantách. Pozornost je věnována také jejímu využití jako prognostického markeru při různých onemocněních, možnostem léčby a metodám stanovení butyrylcholinesterázy.

## **Klíčová slova**

Butyrylcholinesteráza, prognostický marker, enzym, sérová aktivita

## **Title**

Butyrylcholinesterase as a prognostic marker

## **Annotation**

This bachelor thesis deals with butyrylcholinesterase as one of the main human cholinesterases. It describes in detail individual cholinesterases, their differences and mechanisms of action. It also discusses the function of butyrylcholinesterase in the organism and its genetic variants. Attention is also paid to its use as a prognostic marker in various diseases, treatment options and methods of determination of butyrylcholinesterase.

## **Keywords**

Butyrylcholinesterase, prognostic marker, enzyme, serum activity

## **Seznam obrázků**

Obr. č. 1 - Enzymatická hydrolýza acetylcholinu.....	15
Obr. č. 2 - 3D struktura acetylcholinesterázy .....	16
Obr. č. 3 - Enzymatická hydrolýza butyrylcholinu.....	18
Obr. č. 4 - 3D struktura butyrylcholinesterázy .....	18
Obr. č. 5 - Molekulární formy butyrylcholinesterázy .....	23
Obr. č. 6 - Hydrolýza acetylcholinu acetylcholinesterázou a butyrylcholinesterázou.....	29
Obr. č. 7 - Butyrylcholinesteráza v mozkové kůře pacienta s Alzheimerovou chorobou .....	31

## **Seznam tabulek**

Tabulka č. 1 - Látky podléhající rozkladu za katalýzy BChE a jejich působení .....	21
Tabulka č. 2 - Genetické varianty lidské butyrylcholinesterázy.....	25



## Seznam zkratek a značek

3H-TdR	tritiovaný thymidin
ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AD	Alzheimerova choroba
ALT	alaninaminotransferáza
ApoE	apolipoprotein E
AST	aspartátaminotransferáza
A $\beta$	amyloid beta
BCh	butyrylcholin
BChE	butyrylcholinesteráza
BMI	index tělesné hmotnosti
cDNA	komplementární DNA
CocH	kokainová hydroláza
CRP	C-reaktivní protein
DLB	demence s Lewyho tělísky
DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina
GGT	gama-glutamyltransferáza
ChAT	cholinacetyltransferáza
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
IL-6	interleukin 6

LCAT	lecitincholesterolacyltransferáza
mRNA	mitochondriální RNA
PCR	polymerázová řetězcová reakce
PD	Parkinsonova choroba
PEM	podvýživa v oblasti bílkovinné energie
PRiMA	membránová kotva bohatá na prolin
TNB	5-thio-2-nitrobenzoová kyselina
TNF- $\alpha$	nádorový nekrotický faktor $\alpha$

## Obsah

ÚVOD.....	14
1 ENZYMY ZE SKUPINY CHOLINESTERÁZ .....	15
1.1 Cholinesterázy v organismu .....	15
1.2 Acetylcholinesteráza.....	15
1.2.1 Struktura a umístění acetylcholinesterázy v organismu .....	15
1.2.2 Funkce acetylcholinesterázy.....	16
1.2.3 Molekulární formy acetylcholinesterázy .....	17
2 BUTYRYLCHOLINESTERÁZA.....	18
2.1 Struktura a umístění butyrylcholinesterázy v organismu .....	19
2.2 Funkce butyrylcholinesterázy v organismu.....	19
2.2.1 Fyziologické funkce .....	19
2.2.2 Farmakologické a toxikologické funkce .....	20
2.3 Tkáňová exprese butyrylcholinesterázy .....	21
2.4 Molekulární formy butyrylcholinesterázy .....	22
2.4.1 Hydrofilní, ve vodě rozpustné formy .....	23
2.5 Tetramerizační oblast butyrylcholinesterázy.....	24
2.6 Genetické varianty butyrylcholinesterázy .....	24
2.6.1 K-varianta butyrylcholinesterázy .....	24
2.7 Genetická variabilita.....	25
2.8 Možnosti stanovení butyrylcholinesterázy .....	25

2.8.1	Ellmanova metoda .....	26
2.8.2	Metoda využívající dibukain .....	27
2.8.3	Biosenzory založené na butyrylcholinesteráze.....	27
2.8.4	Polymerázová řetězcová reakce .....	27
3	BUTYRYLCHOLINESTERÁZA JAKO PROGNOTICKÝ MARKER .....	28
3.1	Druhy patologických a fyziologických stavů .....	28
3.1.1	Alzheimerova choroba.....	28
3.1.2	Parkinsonova choroba .....	31
3.1.3	Demence s Lewyho tělísky.....	32
3.1.4	Podvýživa v oblasti bílkovinné energie a záněty .....	33
3.1.5	Malignita.....	34
3.1.6	Uremický syndrom a hemodialýza .....	35
3.1.7	Zánětlivá onemocnění střev.....	35
3.1.8	Závažná onemocnění .....	36
3.1.9	Mentální anorexie .....	36
3.1.10	Enterální a parentální výživa .....	37
3.1.11	Jaterní a mimojaterní onemocnění.....	37
3.1.12	AIDS .....	38
3.1.13	HELLP syndrom .....	39
3.1.14	Obezita a metabolický syndrom .....	39
3.1.15	Chronická obstrukční plicní nemoc .....	41

3.1.16	Onemocnění ledvin .....	42
3.1.17	Kardiopulmonální bypass .....	42
3.2	Butyrylcholinesterázový nedostatek.....	42
4	TERAPIE S VYUŽITÍM BUTYRYLCHOLINESTERÁZY .....	43
4.1	Exogenní butyrylcholinesterázová terapie .....	43
4.2	Butyrylcholinesterázová genová terapie.....	43
4.3	Vliv léků na butyrylcholinesterázu.....	43
5	ZÁVĚR.....	45
6	REFERENCE .....	46

## ÚVOD

Cholinesterázy patří do skupiny esteráz a jejich hlavní funkcí je hydrolýza esterů založených na bázi cholinu. Tento rozklad je důležitý pro návrat cholinergních neuronů do klidového stavu po jejich aktivaci. Jako příklad může sloužit neuromuskulární spojení, kde acetylcholin (ACh) vyvolává kontrakci, a poté musí být rozštěpen cholinesterázou, aby se sval mohl opět uvolnit. Pro tyto účely existují dva typy cholinesteráz, a to acetylcholinesteráza (AChE), která se nachází zejména na membráně erytrocytů a v nervových synapsích, a butyrylcholinesteráza (BChE), která se vyskytuje především v krevní plazmě a v játrech [1].

Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma enzymy spočívá v substrátové specifitě. Zatímco AChE hydrolyzuje výhradně acetylcholin, BChE rozkládá hlavně butyrylcholin (BCh), ale může převzít funkci AChE a štěpit acetylcholin. Absence nebo mutace BChE vede k tzv. butyrylcholinesterázovému nedostatku. Tento stav se nemusí projevit, pokud pacienti nejsou vystaveni působení svalových relaxantů, mezi které se řadí především succinylcholin a mivakurium. BChE hraje důležitou roli také v metabolismu lokálních anestetik na bázi esterů, kde nedostatek tohoto enzymu může snižovat toleranci a bezpečnost a zároveň zvyšovat riziko vedlejších účinků tohoto typu anestetik [2; 3].

Monitorování aktivity BChE je významným prognostickým markerem v řadě různých závažných onemocnění postihujících velkou část populace. Poklesy hladiny sérové BChE jsou důležité zejména při včasné diagnostice Alzheimerovy (AD) nebo Parkinsonovy (PD) choroby, různých patologických stavů spojených s podvýživou a také při jaterních onemocněních. V neposlední řadě je nutno zmínit, že BChE nalézá stále častější uplatnění v rámci genové a exogenní terapie, a to zejména k profylaxi nebo léčbě intoxikace organofosfáty a při léčbě závislosti na kokainu, jelikož BChE dokáže rychle a účinně inhibovat rozklad drog [4].

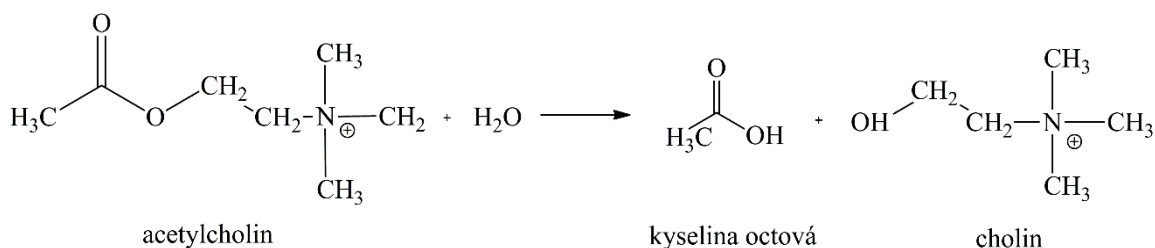
# 1 ENZYMY ZE SKUPINY CHOLINESTERÁZ

## 1.1 Cholinesterázy v organismu

Cholinesterázy se řadí mezi hlavní lidské esterázy. Esterázy se vyznačují hydrolyzou esterové vazby v molekule na kyselinu a alkohol. U cholinesteráz je to štěpení cholinu, ke kterému vykazují vysokou substrátovou specifitu. V lidském těle se vyskytují dva typy cholinesteráz, acetylcholinesteráza a butyrylcholinesteráza [1]. Tyto dva enzymy mají obvykle podobnou strukturu a chování, avšak se liší substrátovou specifitou, citlivostí k inhibitorům a imunologickými vlastnostmi [5].

## 1.2 Acetylcholinesteráza

Acetylcholinesteráza, označovaná jako pravá nebo specifická cholinesteráza, je membránově vázaný glykoprotein, který hydrolyzuje neurotransmitter acetylcholin za vzniku cholinu a acetátu [3] a průběh reakce je znázorněn na obrázku č. 1.

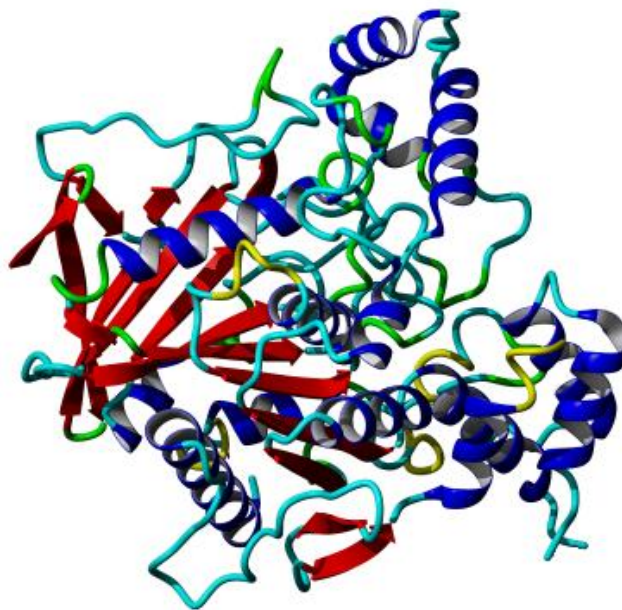


Obr. č. 1 - Enzymatická hydrolyza acetylcholinu

### 1.2.1 Struktura a umístění acetylcholinesterázy v organismu

Acetylcholinesteráza je jedním z klíčových enzymů v centrálním a periferním nervovém systému, který působí při přenosu nervových impulzů [6]. Je ukotvena v synaptické štěrbině, kde se shromažďují katalytické podjednotkové tetramery kolem šroubovice polyprolinu II [3]. AChE je v plazmě přítomna pouze ve stopovém množství, a proto ji lze pro většinu účelů v lidské plazmě ignorovat. Naopak je AChE obsažena na povrchu lidských červených krvinek, kde je na vnější povrch membrány eryocytů vázána přes glykolipidovou kotvu [1].

Další místa výskytu AChE jsou v nervosvalových ploténkách, plicích, játrech či slinivce [3]. Aktivita acetylcholinesterázy je nezbytná pro neurotransmisi. Akutní inhibice aktivity AChE může být smrtelná během několika minut. Předpokládalo se, že genetické varianty acetylcholinesterázy byly nekompatibilní se životem, a tak nebyly přítomny v živých organizmech. Proto bylo překvapivé, že poměrně běžná genetická varianta chromacetylcholinesterázy je přítomna v lidské populaci [1]. Struktura acetylcholinesterázy je znázorněna na obrázku č. 2.



**Obr. č. 2** - 3D struktura acetylcholinesterázy [7]

### **1.2.2 Funkce acetylcholinesterázy**

Acetylcholinesteráza je navržena tak, aby jako substrát přijímala pouze acetylcholin. Její hlavní funkcí je účast na zakončení nervových synapsí [1]. AChE je cílem nervových činidel, insekticidů a terapeutických léků, zejména těch anti-Alzheimerových. Cílově řízená syntéza a struktura založená na bázi léku byla použita k získání účinných anticholinesterázových činidel. Navíc je pravděpodobné, že AChE hraje kromě své klasické úlohy při ukončení synaptického přenosu (například jako adhezni protein) také neklasické role, jako hydrolýza acetylcholinu v nesynaptických částech nebo diferenciaci hematopoetických buněk. AChE také urychluje sestavení amyloidního peptidu do amyloidních vláken [3].



### 1.2.3 Molekulární formy acetylcholinesterázy

V lidském organismu se acetylcholinesteráza nachází na sedmém chromozomu (7q22). AChE se vyskytuje ve formách monomeru (G1), dimeru (G2) a tetrameru (G4) [1]. G1 forma je výhradně rozpustná, zatímco G4 se vyskytuje v rozpustné i membránově vázané formě. Poměr G1 a G4 se v různých částech lidského mozku liší [8]. Formy rozpustné ve vodě jsou vylučovány do tělních tekutin. Ve vodě rozpustná forma AChE, G4, je secernována nadledvinkami, buněčnými kulturami nervových buněk, svalových buněk, periferními nervovými buňkami *in vivo* nebo po stimulaci nervu v hemidiafragmových přípravcích. U plodů s poruchou nervové trubice se AChE uvolňuje do centrálních nervových buněk cerebrospinální tekutinou, ze které se rozlévá plodová voda [9].

Butyrylcholinesteráza je druhý enzym ze skupiny cholinesteráz a podrobně bude popsána v kapitole 2.



## 2.1 Struktura a umístění butyrylcholinesterázy v organismu

Butyrylcholinesteráza se skládá z centrálních  $\beta$  listů, které jsou obklopeny šroubovicemi  $\alpha$ . Lidská BChE je kódována jediným autozomálním genem (dříve CHE1 nebo E1) a je mapována na chromozomu 3 (3q26). Lokus E1 vykazuje velký polyalelizmus [10]. Některé genetické varianty E1 jsou zodpovědné za abnormální odpověď na succinylcholin (lék používaný v chirurgii jako blokátor krátkodobého účinku acetylcholinového receptoru) a svalové relaxace [9].

Druhé místo (dříve CHE2 nebo E2) je umístěno na chromozomu 2 a kóduje necholinesterázové podjednotky, nazývané X, v izoenzymu C5 lidské plazmatické BChE. C5 je tetramer, který je nekovalentně vázán na podjednotku X. Průměrná koncentrace BChE v plazmě je 5 mg/l.

Čtyři molekulární formy, které rozlišujeme, mohou být identifikovány gelovou elektroforézou a aktivním zbarvením plazmy. Kompletní aminokyselinová sekvence lidské BChE byla určena Edmanovou metodou, která je založena na odbourávání vysoce purifikované plazmy C4 a odvozena z její cDNA sekvence [10]. Monomerní jednotka obsahuje 574 aminokyselin a 9 asparaginových komplexů glykanů. Dále také obsahuje disulfidické můstky, které obsahují cystein a zpevňují strukturu [12]. Obsah cukru v tomto sialoglykoproteinu je 24 hmot. %. Vypočítaná molekulová hmotnost polypeptidového řetězce je 65,1 kDa, zatímco vzhledem ke glykosylaci při denaturaci polyakrylamidu gelovou elektroforézou dosahuje přibližně 85 kDa. Heterogenní glykosylace ovlivňuje složení, stabilitu, imunogenní a farmakokinetické vlastnosti BChE, nikoli vlastnosti katalytické [10].

## 2.2 Funkce butyrylcholinesterázy v organismu

Lidská butyrylcholinesteráza má několik funkcí. Důležitá je především pro své farmakologické a toxikologické účinky.

### 2.2.1 Fyziologické funkce

Fyziologické funkce BChE jsou doposud neobjasněné, ale hodně zkoumané a diskutované. Jedná se především o pozorování zdravých jedinců nesoucích tichou variantu BChE. Za „silent“, neboli tichou formu BChE, považujeme neaktivní formu enzymu nebo nepřítomnost bílkoviny v organismu [10]. Důležitá otázka byla zodpovězena testem na myších,

kdy bylo zjištěno, že za určitých patologických podmínek může BChE převzít funkci AChE a nahradit ji tak v centrálním nervovém systému a neurosvalových spojeních [13].

BChE má i jiné neenzymatické funkce. Peptidázová aktivita lidské BChE byla prokázána pouze omylem při testování aryl-acylamidázové a peptidázové aktivity AChE a BChE [14]. BChE vykazuje aryl-acylamidázovou aktivitu, ale ta je příliš nízká, aby měla významnou roli v metabolismu endogenních aryl-acylamidáz, jako je například melatonin. Melatonin na rozdíl od BChE dokáže reagovat s metabolity hormonů (serotonin nebo podobné sloučeniny mezi které patří např. tyramin) [15]. Neenzymatická aktivita BChE při neurogenezi a neurálních poruchách je přiřazována jejím glykanům. Zdá se, že BChE působí jako zprostředkovatel ve formování rozpustné AChE- $\beta$  amyloidních sestav, ale na rozdíl od AChE to nehraje roli při tvorbě fibrilů u Alzheimerovy choroby [10].

### **2.2.2 Farmakologické a toxikologické funkce**

Butyrylcholinesteráza hraje důležitou roli při zpracování, katabolizmu nebo detoxikaci hydrofilních a hydrofobních sloučenin obsahujících estery karboxylových nebo fosforečných kyselin a z tohoto důvodu je BChE farmakologicky a toxikologicky důležitý serinový enzym, který se využívá při degradaci léků a toxinů [12]. Lidská BChE hydrolyzuje mnoho esterů na bázi cholinů, mnoho terapeutických látek obsahujících estery nebo návykové látky (aspirin, irinotekan, heroin, aj.) [10].

BChE je hlavní detoxikační enzym kokainu u lidí. Plazmatická BChE také hydrolyzuje prekurzory léků jako je izosorbitol diaspirinát a bambuterol. Přírodní jedy obsažené v potravinách, jako jsou glykoalkaloidy (solaniny brambor a chakoniny), jsou reverzibilními inhibitory BChE. Tyto látky dokážou inhibovat rozklady drog obsahujících estery, které jsou katalyzované butyrylcholinesterázou. Lidská BChE reaguje s jedovatými karbamáty a organofosfáty. Plazmatická BChE tedy vykazuje přirozenou ochranu proti jejich toxicitě u subletálních dávek. Podání velkého množství exogenní lidské BChE by tím pádem mohlo být používáno k profylaxi nebo léčbě intoxikace [10].

Butyrylcholinesteráza se také podílí na hydrolýze hormonů. BChE je jednou z esteráz, která degraduje hormon stimulující chuť k jídlu ghrelin [1]. Ghrelin je inaktivován hydrolýzou esterové vazby pomocí BChE v lidské krevní plazmě. V tomto případě enzym působí jako hydroláza, která mění ghrelin na inaktivní desacyl-ghrelin. Tato reakce má za následek snížení pocitu hladu [16].

Vybrané látky podléhající rozkladu za katalýzy BChE a jejich působení jsou uvedeny v tabulce č. 1.

**Tabulka č. 1** - Látky podléhající rozkladu za katalýzy BChE a jejich působení [17]

<b>Působení látky</b>	<b>Vybrané látky</b>
Analgetikum	Aspirin
Analgetikum	Izosorbitol diaspirinát
Anti-astmatikum	Bambuterol
Lokální anestetikum, vazokonstriktor	Kokain
Protirakovinné působení	Irinotekan (CPT-11)
Beta-blokátor	Flestolol
Alfa-blokátor, erektilní dysfunkce	Moxysilit
Stimulant chuti k jídlu	Ghrelin
Analgetikum	Heroin
Lokální anestetikum	Prokain
Svalový relaxant	Sukcinylcholin
Svalový relaxant	Mivakron
Protizánětlivé působení	Methylprednisolon acetát
Lokální anestetikum	Chloroprokain
Lokální anestetikum	Tetrakain

### 2.3 Tkáňová exprese butyrylcholinesterázy

V lidském těle je desetkrát více butyrylcholinesterázy než acetylcholinesterázy. BChE je obsažena ve významném množství v lidské plazmě [1]. Kvůli genotypové aberaci (typ chromozomové mutace; poruchy, které způsobují tento typ mutace, jako například trizomie, lze detekovat pomocí analýzy DNA fragmentů) u malé části zdravé populace BChE v plazmě chybí. Studie provedené v Evropě ukazují na 3-4 % prevalence vrozeného deficitu BChE v séru. [18].

Tkáně z lidských těl byly homogenizovány a testovány na aktivitu BChE a AChE, kde hodnoty aktivity byly převedeny na nanomolekulární bílkoviny na základě známých specifických aktivit každého enzymu [1]. Ze studie tkáňové distribuce mRNA

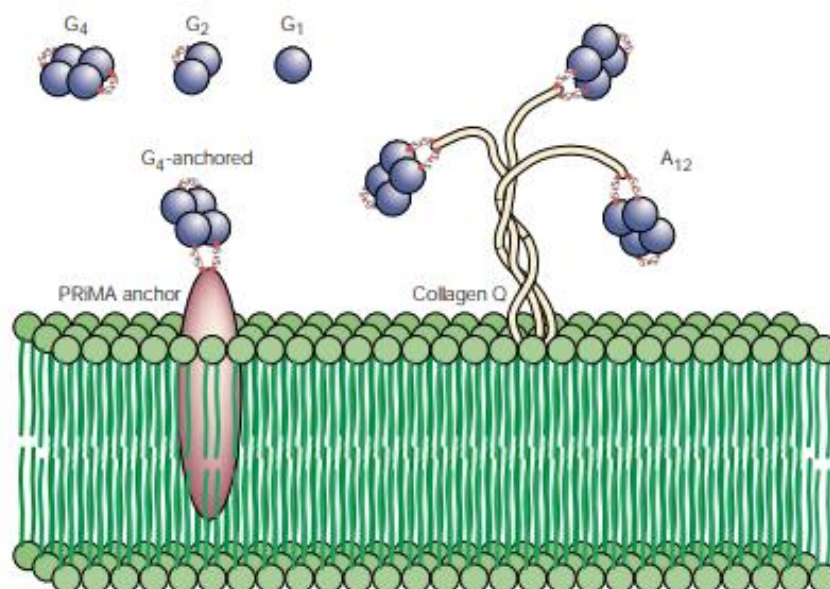
acetylcholinesterázy a butyrylcholinesterázy metodou Northern blot (biochemická hybridizační metoda k analýze RNA) byly zjištěny nejvyšší hladiny mRNA butyrylcholinesterázy v játrech a plicích, což jsou tkáně známé jako hlavní detoxikační místa lidského těla. Tyto výsledky tedy naznačují, že BChE může být prvořadá látka při obraně těla proti jedům, které člověk sní nebo vdechne.

## 2.4 Molekulární formy butyrylcholinesterázy

Acetylcholinesteráza a butyrylcholinesteráza mají z 65 % homogenní sekvenci aminokyselin. Na chromozomech jsou kódovány různými geny. V lidském organizmu se BChE nachází na třetím chromozomu (3q26.1 – q26.2) [1]. Různé molekulární formy vznikají sestřihem kódovací oblasti původního transkriptu. Distribuce a rozpustnost molekulárních forem byla zkoumána pomocí centrifugace s hustotním gradientem v různých částech centrální nervové soustavy. Celková aktivita BChE byla poměrně rovnoměrně rozdělena, lišily se pouze tři ze zkoumaných částí [8].

Butyrylcholinesteráza se v séru vyskytuje v symetrické monomerní formě (G1), monomeru spojeného s albuminem (G1-ALB), dimeru (G2), který se skládá ze dvou monomerů spojených disulfidickým můstkem vytvořeným mezi zbytky cysteinu každého monomeru, a tetrameru (G4), který vzniká hydrofobní interakcí mezi dvěma formami G2. V lidském mozku se nejvíce vyskytuje v izoformě G4 [8]. Formy G1, G2 a G4 jsou symetrické, hydrofilní, kulovité a většinou se nacházejí v rozpustných formách [19]. Tyto globulární formy jsou buď snadno extrahovatelné v pufrch s nízkou iontovou silou, nebo těsně navázány na membrány a vyžadují rozpuštění v detergentu. Formy s prodlouženým tvarem se nazývají asymetrické, ty nereagují s detergenty, ale jsou solubilizovány v pufrch s vysokou koncentrací solí. Asymetrické formy obsahují jednu až tři tetramerové podjednotky připojené disulfidickými vazbami ke kolagenu [9]. Protein, který ukotví BChE k membráně je známý jako membránová kotva bohatá na prolin (PRiMA), která se rovněž podílí na oligomeraci jednotlivých katalytických podjednotek. Existují také asymetrické formy, které jsou k membráně připojeny pomocí trojšroubovicové kolagenové kotvy. Tetramer ve formě kolagenu se nazývá A4, dva takové tetramery tvoří formu A8 a nejsložitější forma A12 vzniká spojením tří tetramerů a má 12 podjednotek. Kolagen Q je zodpovědný za sestavení BChE do těchto multimerů a obsahuje aminosloučeninu bohatou na prolin, která podporuje jejich sestavení do extracelulárního matrix [19]. Formy dělíme na hydrofilní, rozpustné ve vodě, membránově vázané nebo spojené s extracelulární maticí silnými interakcemi s jinými molekulami [9].

Molekulární formy BChE jsou znázorněny na obrázku č. 5, kde G1 představuje monomer, G2 dimer, G4 tetramer. G4-anchored je ukotvená forma tetrameru na PRiMA kotvě. A12 reprezentuje asymetrickou formu BChE, která je k lipidové dvojvrstvě připojena kolagenem Q.



**Obr. č. 5** - Molekulární formy butyrylcholinesterázy [19]

#### 2.4.1 Hydrofilní, ve vodě rozpustné formy

Nejvíce studovaná rozpustná forma butyrylcholinesterázy je její rozpuštěná forma v lidské plazmě. 95 % aktivity nalezené v plazmě představuje tetramer G4, který vznikl spojením dvou dimerů silnou hydrofobní interakcí. Dvě podjednotky v každém dimeru jsou spojeny jednou disulfidickou vazbou v poloze Cys-571 [9]. Dimery a monomery nalezené v plazmě se považují spíše za degradační produkty tetramerů. Hmotností spektrometrie dokazuje, že BChE ve formě tetrameru obsahuje fragmenty bohaté na prolin, které jsou odvozené od lamellipodinu [1]. Izomerní forma BChE v plazmě migruje elektroforézou rychleji než dimer a bylo prokázáno, že je spojena disulfidickou vazbou monomeru BChE s albuminem [9].

## 2.5 Tetramerizační oblast butyrylcholinesterázy

Tetramerizační domény tvoří 40 aminokyselin s C-koncem butyrylcholinesterázy. Tyto zbytky jsou nutné pro sestavení čtyř podjednotek do tetrameru, nemají však žádný účinek na katalytickou aktivitu látek. Dosud získané krystalické struktury jsou pro zkrácené monomery butyrylcholinesterázy. Bylo nutné odstranit 40-C-koncových aminokyselin, protože jejich přítomnost interferuje s krystalizací. Struktura tetramerizační domény je získávána kokrystalizací syntetického peptidu, který je složený ze 40-C-koncových aminokyselin spojených s vazebnou doménou bohatou na prolin [1].

## 2.6 Genetické varianty butyrylcholinesterázy

Genetické varianty butyrylcholinesterázy ovlivňují vazebnou afinitu a enzymovou aktivitu [1]. Pro gen BChE bylo popsáno více než 65 genetických variant s různou hladinou enzymové aktivity. Normální aktivita BChE v séru se udává  $8440 \pm 1780$  IU/L (pro butyrylcholin použitý jako substrát). Atypické varianty (Asp70Gly nebo mutace rezistentní vůči dibukainu) vykazují sníženou aktivitu, protože Asp70 hraje důležitou roli pro počáteční vazbu kladně nabitých substrátů na aktivní roklinu. Sníženou aktivitu vykazují také K-varianta (Ala539Thr), J-varianta (Glu497Val) a varianty rezistentní vůči fluoridům (Thr247met nebo Gly390Val).

Dále byly rozpoznány tiché varianty s 0-2 % normální aktivity. Tyto varianty se nazývají tiché, protože nemohou katalyzovat hydrolýzu cholinových esterů. Varianty C5+ (kombinace BChE s neznámým proteinem), Cynthiana a Johannesburg vykazují zvýšenou enzymovou aktivitu BChE [12]. K-varianta je studována jako nejvíce rizikový faktor pro Alzheimerovu chorobu [20]. Genetické varianty jsou kromě Alzheimerovy choroby spojeny dále s výškou člověka, indexem tělesné hmotnosti a odpovědí na xenobiotické látky, mezi které patří například succinylcholin, heroin či kokain [21].

### 2.6.1 K-varianta butyrylcholinesterázy

K-varianta BChE je nejběžnější genetická varianta butyrylcholinesterázy, která byla pojmenována na počest průkopníka farmakogenetiky Wenera Kalowa [1]. Nachází se na kodonu 539 a vede k nahrazení alaninu zbytkem threoninu (Ala539Thr). Naproti BChE, která koluje v plazmě, má K-varianta o 33 % nižší enzymovou aktivitu [19]. V homozygotní formě se nachází u jednoho ze šedesáti tří Američanů, kde jeden ze čtyř je přenašečem. Mutace



varianty K nemá vliv na katalytickou aktivitu molekuly BChE, ovlivňuje (snižuje) pouze množství enzymu. Předpokládá se, že varianta K je spojena s mutací v promotoru nebo zesilovači, ale doposud to nebylo prokázáno. Je běžné i více mutací. Atypická mutace je s variantou K spojena tak, že téměř všichni lidé, kteří mají atypickou mutaci, mají mutaci K na stejné alele. Stejně tak je tomu i u varianty J. Naopak to však neplatí, nejčastěji se varianta K vyskytuje samostatně [1].

## 2.7 Genetická variabilita

Nedostatky genetické variability jsou způsobeny jednou nebo více abnormálními alelami získanými dědičně. Varianty, které nastávají, jsou selhání produkce normálního množství enzymu, nebo produkce BChE se změněnou strukturou a aktivitou [17]. Některé z přirozeně se vyskytujících genetických variant jsou uvedeny v tabulce č. 2.

**Tabulka č. 2** - Genetické varianty lidské butyrylcholinesterázy [17]

<b>Genetická varianta</b>	<b>Mutace</b>	<b>Aktivita %</b>
U (obvyklá forma)		
A (atypická forma, dibukain rezistentní)	Asp70Gly	50
K (Kalow forma)	Ala539Thr	70
J forma	Glu497Val	30
F1 (F-rezistentní)	Thr247Met	Neznámá
F2 (F-rezistentní)	Gly390Val	85
H forma	Val142Met	10
S (tichá forma)	129Stop	

## 2.8 Možnosti stanovení butyrylcholinesterázy

Stanovení BChE v séru by mělo být zahrnuto do rutinních klinických diagnostických postupů k vyhodnocení klinických stavů pacienta, jelikož BChE jako jedna z cholinesteráz hydrolyzující acetylcholin hraje klíčovou roli při procesu cholinergní neurotransmise. Změny v činnosti BChE jsou spojeny s mnoha nemocemi, zejména s Alzheimerovou a Parkinsonovou

chorobou a v případě zánětu nebo podvýživy v oblasti bílkovinné energie, což je forma podvýživy definovaná jako řada patologických stavů vyplývajících ze souběžného nedostatku bílkovin a/nebo energie v různých poměrech [4; 22].

Existují různé přístupy ke studiu aktivity BChE, jako metody závislé na pH, elektrometrické, spektrofotometrické, titrační, kolorimetrické, radiometrické, fluorimetrické, polarografické, enzymové či histochemické metody nebo analytické postupy založené na biosenzorech. Tyto metody však v praxi nemohou být využívány, a to kvůli náročné úpravě vzorku, nedostatečné specifitě enzymu k substrátu, či dlouhé době měření. Nejvíce využívaný je Ellmanův test, což je spektrofotometrická citlivá metoda k měření inhibice cholinesteráz, především k hodnocení stavu pacientů postižených organofosfátovými inhibitory, kteří vykazují snížené hodnoty BChE. Další je extrémně citlivá radiometrická metoda Johnson-Russel, což je vedle Ellmanova testu jedna z prvních metod používaných k měření enzymatické aktivity cholinesteráz. Tento způsob testování je sice pomalý, ale velmi přesný. Mezi moderní techniky patří kolorimetrická metoda se zlatými nanočásticemi, využívající agregace nanočástic zlata. Tato metoda slouží ke stanovení aktivity cholinesteráz a screeningu jejich inhibitorů [22].

Sérová aktivita BChE může zjistit, zda existuje kvantitativní vada enzymatické funkce. Nejčastějšími laboratorními testy jsou ty, které využívají dibukain a fluoridy jako inhibitory. Existuje však mnoho dalších inhibičních testů, například s použitím chloridů, močoviny a sukcinylcholinu. Tyto testy jsou přínosné v určování BChE nedostatku, ale nejsou vždy přesné v rozlišování individuálního genotypu, který vyžaduje genetické testování [2].

### **2.8.1 Ellmanova metoda**

Pro měření aktivity cholinesteráz se široce využívá Ellmanova metoda. Tato technika je založena na hydrolýze specifického substrátu, pro BChE je to bytyrylthiocholin, kde se pracuje pomocí spektrofotometrické detekce při vlnové délce 412 nm. Aktivita cholinesterázy se měří nepřímo kvantifikací koncentrace iontů kyseliny 5-thio-2-nitrobenzoové (TNB), vytvořené v reakci mezi Ellmanovým činidlem (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina; DTNB) a thiolem, který slouží jako substrát.

Tato metoda je jednoduchá, rychlá a levná, ale má i několik nevýhod. První je interference cholinesteráz v krvi s hemoglobinem, který má stejné absorpční maximum jako vznikající indikátor. Z tohoto důvodu je potřeba hodně zředěný vzorek krve. Další nevýhodou je reakce

DTNB se sulfhydrylovými skupinami v roztoku. Kvůli těmto problémům byly zavedeny různé modifikace metody, jako je práce při odlišné vlnové délce nebo práce s dvoupaprskovými spektrofotometry [23; 24].

### **2.8.2 Metoda využívající dibukain**

Metoda využívající dibukain jako inhibitor pro stanovení BChE v séru, je kvantitativní test pro stanovení její inhibované a neinhibované aktivity. BChE slouží jako katalyzátor hydrolyzy butyrylthiocholinu na thiocholin a butyrát, kde thiocholin redukuje hexakvanoželezitan (žlutý) na hexakvanoželeznatan (téměř bezbarvý). Při vlnové délce 405-412 nm se měří barevná změna, kdy pokles absorbance je přímo úměrný koncentraci BChE ve vzorku [25].

### **2.8.3 Biosenzory založené na butyrylcholinesteráze**

Butyrylcholinesteráza má také důležité využití při analytických aplikacích, kdy se využívá jako biologická složka biosenzorů na detekci organických sloučenin fosforu a jiných inhibitorů cholinesteráz. Většina takto založených biosenzorů používá potenciometrické elektrody s enzymem imobilizovaným na iontově-selektivní membráně nebo elektrody amperometrické [26]. Vývin těchto systémů pro detekci esterů toxických látek a stanovení jejich koncentrace ve vzduchu, vodě, potravinách, drogách a biologických vzorcích rychle stoupá. Jako příklad můžeme uvést například „bio-sniffer“, neboli citlivý a selektivní plynový biosenzor pro stanovení nikotinu s využitím enzymové aktivity BChE. Tento snímač se skládá z kyslíkové elektrody s imobilizovanou membránou enzymu [27]. Dalším příkladem biosenzoru využívajícího BChE je biosenzor pro detekci glykoalkaloidů z brambor [28].

### **2.8.4 Polymerázová řetězcová reakce**

Polymerázová řetězcová reakce (PCR) je proces, který se používá k replikaci určitých částí DNA. Cílem tohoto testu je určit, kde a jaké mutace nebo varianty vzniknou na konkrétní části DNA. Varianty BChE mohou být identifikované touto technikou, a tak může dojít ke správné genotypizaci. Bohužel tato technologie je v současné době k dispozici pouze pro výzkumné účely [2].

## **3 BUTYRYLCHOLINESTERÁZA JAKO PROGNOSTICKÝ MARKER**

Butyrylcholinesteráza je prognostickým ukazatelem jaterních i mimojaterních onemocnění, jakož i ukazatel podvýživy a obezity [4].

Koncentrace v séru a aktivita BChE přesně odrážejí dostupnost aminokyselinových substrátů a/nebo poruchy syntézy bílkovin v důsledku hepatocelulárního poškození. Při rakovině s nebo bez jaterního poškození slouží sérová hladina BChE jako přesný funkční a prognostický indikátor, užitečný pro sledování klinických a terapeutických intervencí podle prognózy pacientů. Při absenci zánětu může BChE sloužit také jako ukazatel účinnosti nutriční podpory [4].

Také v lidském mozku se nachází za patologických podmínek vysoká hladina BChE, čehož lze využít k analýze neurodegenerativních chorob. Pomocí histochemických testů byla prokázána distribuce BChE v neuronech, gliových a endotelových buňkách lidského mozku [19].

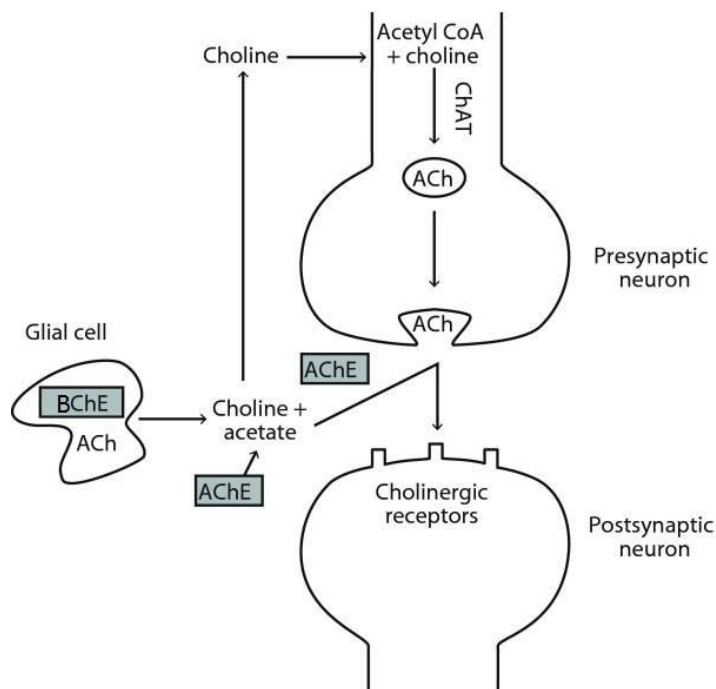
### **3.1 Druhy patologických a fyziologických stavů**

Hladina butyrylcholinesterázy v séru se snižuje v mnoha klinických stavech, jako je akutní a chronické poškození jater, cirhóza, metastázy na játrech, poranění a infekce, záněty, stres a podvýživa [4]. Zvýšená aktivita tohoto enzymu se vyskytuje u diabetu 1. a 2. typu, urémie, hypertyreózy a u hyperlipidemických subjektů. Dále je zvýšená aktivita BChE pozitivně spojena se sérovými koncentracemi cholesterolu a triglyceridů a s měřením nadváhy, obezity a distribucí tělesného tuku [29].

#### **3.1.1 Alzheimerova choroba**

Alzheimerova choroba je chronické a progresivní neurodegenerativní onemocnění. V organismu dochází k degeneraci cholinergních neuronů, což vede ke ztrátě neurotransmise [17]. Onemocnění je charakterizováno extracelulární akumulací beta amyloidních ( $A\beta$ ) peptidů ve formě amyloidních plaků v mozku postižených jedinců [30]. V cholinergní signalizaci hrají důležitou roli AChE a BChE. Butyrylcholinesteráza může hydrolyzovat acetylcholin, a tak kompenzovat funkci AChE, když jsou její hladiny vyčerpány. Blokované schéma tohoto procesu je znázorněné na obrázku č. 6, kde nervové impulzy v presynaptickém neuronu jsou vyvolány

splynutím vezikul obsahujících ACh s presynaptickou membránou a následným uvolňováním ACh do synaptické štěrbinu. ACh difunduje přes synaptickou štěrbinu a interaguje s cholinergními receptory na postsynaptickém neuronu. AChE zprostředkovává hydrolýzu ACh na cholin a acetát. Cholin je poté transportován do presynaptického neuronu a používá se jako substrát pro syntézu ACh. Analogickým způsobem je synapticky uvolněný ACh hydrolyzován na cholin a acetát gliální BChE. Cholin se poté vrací zpět do synaptické štěrbinu, kde dochází ke zpětnému vychytávání cholinergními neurony [31].



**Obr. č. 6** – Hydrolýza acetylcholinu acetylcholinesterázou a butyrylcholinesterázou [31]

(ACh = acetylcholin, AChE = acetylcholinesteráza, BChE = butyrylcholinesteráza,

ChAT = cholinacetyltransferáza, CoA = koenzym A)

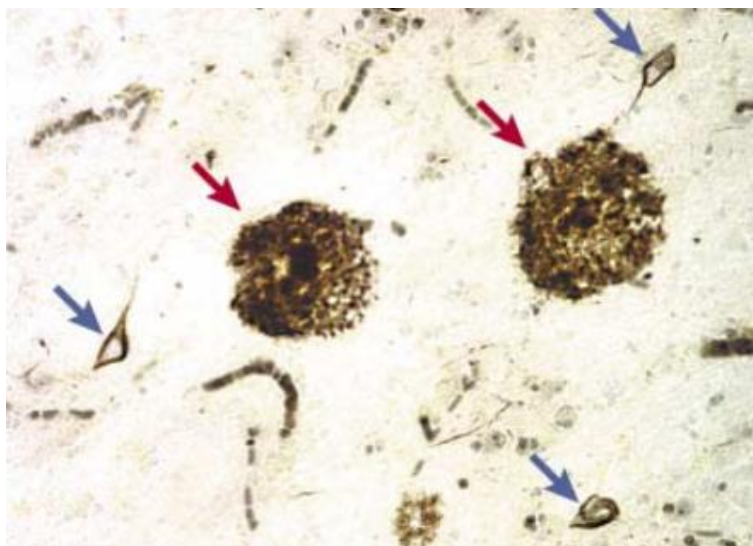
V mozkové kůře a hipokampu jsou pozorovány změny v aktivitě cholinesteráz, kdy hladina AChE je snížena, zatímco hladiny BChE jsou údajně zvýšené nebo nezměněné, přičemž změny se stávají výraznějšími během onemocnění [31]. Aktivita BChE se zvyšuje s věkem [30]. Toto onemocnění je hlavní příčinou demence u starších lidí. Postihuje 10 % populace starší 65 let, u lidí starších 85 let je to 50 % [17].

Ačkoli je zřejmé, že značný podíl Alzheimerovy choroby má genetický základ, tak je apolipoprotein E (ApoE) jediný genetický faktor, který může být důsledně implikován

u non-familiárních onemocnění pozdního nástupu. Jelikož přítomnost alely ApoE není nezbytná, ani vhodná pro průběh, či zahájení onemocnění, bylo zapotřebí určit i další možné genetické faktory, které mohou vyvolat náchylnost k AD. Za jeden z možných ukazatelů byla zvolena K-varianta BChE. Současné působení K-varianty BChE a ApoE zvyšuje riziko vzniku AD, zejména u pacientů starších 75 let [30].

U Alzheimerovy choroby se BChE nachází ve spojení s patologií, kde enzym BChE vykazuje aktivitu v placích A $\beta$  a v neurofibrilárních spleteninách (obrázek č.7) [32]. Původ BChE vázané na plak a spletence není plně identifikován. Neurony normální mozkové kůry obsahují velmi malé množství BChE, a proto enzymová aktivita v placích a spleteninách nemůže být přiřazena pasivnímu zachycení BChE v degenerovaných axonech a perikaryích. Mimo to amyloidový prekurzorový protein nevykazuje významnou aktivitu BChE, takže enzymová aktivita vázaná na plaky nemůže být připisována přítomnosti amyloidních depozit [33]. BChE se účastní transformace A $\beta$  z původně benigní formy na maligní, která je spojena s degenerací nervové tkáně a klinickou demencí [30]. Navíc BChE blokuje agregaci A $\beta$  vláken a výskyt K-varianty alely způsobuje 30% redukci aktivity cholinesterázy v séru. Kvůli tomu se K-varianta BChE stává jako vhodný kandidát pro určení rizikových faktorů pro AD [30]. Také genotyp BChE může ovlivnit riziko AD a rychlost progresu onemocnění. Účinnost BChE je zde značně vyšší u mužů než u žen [31]. Alzheimerova choroba je také spojena s výrazným zvýšením celkové aktivity BChE ve spánkových lalocích [33].

Mozek pacientů s AD vykazuje řadu patologických změn. Pouze extracelulární akumulace A $\beta$  ve formě plaků je specifická k tomuto onemocnění a odlišuje ho tak od jiných onemocnění s demencí. A $\beta$  obsahuje amyloid prekurzorového proteinu, jehož abnormální zpracování je bráno jako příčina mechanismu tvorby plaků a AD. Amyloidní depozity jsou nezbytné prvky v patogenezi Alzheimerovy choroby, avšak samy o sobě nejsou dostatečné pro vyvolání neurální degenerace a demence. Než se stanou amyloidní plaky patogenními, podléhají zdlouhavé transformaci. Reaktivita BChE je faktorem, který se účastní procesu transformace a případné patogenity depozit A $\beta$  u AD. Plocha plaku vykazující reaktivitu BChE je u pacientů s demencí až šestinásobná [33]. BChE v placích a neuroglíích je selektivně inhibována indolaminy, inhibitory karboxypeptidáz a dalšími inhibitory proteáz, jako je například bacitracin [34].



**Obr. č. 7** – Butyrylcholinesteráza v mozkové kůře pacienta s Alzheimerovou chorobou [19]  
(A $\beta$  plaky – červené šípky, neurofibrilární spleteniny – modré šípky)

Alzheimerova choroba patří mezi nevléčitelná onemocnění. Farmakoterapie modifikující AD je zaměřena především na snížení hladin A $\beta$ , ze kterého jsou složeny senilní plaky a hyperfosforylovaného proteinu Tau, který vytváří neurofibrilární spleteniny v mozku. Amyloidní plaky příliš silně nekorelují s poznáváním, a proto může být protein Tau klinicky účinnější při léčbě demence spojené s AD, jelikož hyperfosforylovaný protein Tau, neurofibrilární spleteniny, synaptické a neuronální ztráty jsou úzce spjaty s deficitem v paměti. Snížením hladin hyperfosforylovaného proteinu Tau v mozku se zlepšují kognitivní schopnosti u pacienta s AD. Nejčastěji používanými terapeutickými látkami jsou nootropní léčiva [35; 36].

### 3.1.2 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba je po Alzheimerově chorobě druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění, které postihuje přibližně 1 % osob starších 60 let a 3 % pacientů ve věku nad 80 let [37]. Ačkoli byly provedeny rozsáhlé studie k identifikaci PD pomocí biomarkerů, dosud nebyly zjištěny žádné validované biomarkery a diagnóza zůstává založena především na klinických příznacích. Parkinsonova choroba se typicky projevuje jako úbytek dopaminergních neuronů v části mozku nazvané jako *substantia nigra* (černá substance), avšak zahrnuje i změny neurotransmiterů mimo ni. Tyto patologické změny vedou k mnoha dalším příznakům včetně dysfunkce čichu, kognitivních poruch, deprese, úzkosti, poruch spánku,

autonomní dysfunkce, bolesti a únavy [38]. U více jak 80 % pacientů s PD, kteří mají kognitivní poruchy, se při dlouhodobém trvání nemoci projeví demence [39].

Bylo prokázáno, že pacienti s PD trpící demencí také trpěli těžkými cholinergními deficity po celém mozku. Protože hlavní parasympatický neurotransmitter uvolňovaný cholinergními neurony je acetylcholin, který může být hydrolyzován AChE a BChE, tak je aktivita BChE spojena se závažností onemocnění a může být použita k předpovědi prognózy PD [40].

Sérová BChE je klinicky nejčastěji využívána jako marker pro hodnocení otrav organofosfáty, přičemž organické fosfáty, jakož i jiné formy expozice toxinů v životním prostředí jsou rizikovými faktory právě pro Parkinsonovu chorobu. U populace vystavené organofosfátům byl zaznamenán pokles sérové aktivity BChE. Avšak téměř u necelých 40 % pacientů, kteří byli vystaveny vysokým hladinám organofosfátů, snížená aktivita zaznamenána nebyla, což může vyplývat z genetického pozadí pacientů různých ras [41].

Během studie na pacientech trpících Parkinsonovou chorobou byla prokázána výrazně nižší aktivita BChE. Aktivita BChE byla také snížena u starších pacientů s touto chorobou. U kuřáků s PD nebylo prokázáno žádné spojení s aktivitou BChE, což naznačuje, že aktivita BChE koreluje pouze s Parkinsonovou chorobou nezávislou na jaterní funkci, anamnéze kouření, metabolickém syndromu nebo jakýchkoliv jiných klinických charakteristikách [42].

Parkinsonova choroba taktéž patří mezi nevyléčitelná onemocnění. Současná terapie je z velké části založena na strategii nahrazení dopaminu. Chronická léčba je však spojena s vývojem motorických komplikací. Zlepšení motorických funkcí a kvality života pacientů můžeme dosáhnout pomocí levodopy (první lék pro léčbu PD; L-dihydroxy-fenylalanin) a jiných dopaminergních léků [43; 44].

### **3.1.3 Demence s Lewyho tělísky**

Demence s Lewyho tělísky (DLB) je neurodegenerativní onemocnění, které ovlivňuje chování, kognitivní a motorické funkce. U tohoto onemocnění se vyskytuje rozsáhlý deficit v cholinergní neurotransmisi, která je vážnější než u pacientů s Alzheimerovou chorobou. Protože je tento druh demence charakterizován ztrátou cholinergních neuronů a progresivním poklesem hladin acetylcholinu, tak i zde se BChE využívá jako prognostický marker, kde



u osob s tímto onemocněním se průměrná aktivita BChE pohybuje ve výrazně nižších hodnotách [45].

Léčba pacientů s DLB je náročná a lék na toto onemocnění zatím neexistuje. Klinická diagnostika se u DLB většinou soustřeďuje na léčbu nekognitivních funkcí. Lékaři léčí pouze jednotlivé příznaky, a to pomocí léků využívaných u Alzheimerovy (inhibitory cholinesteráz) a Parkinsonovy choroby (levodopa). Problémem je, že používaná léčiva mohou rapidně zhoršit symptomy u pacientů (halucinace, těžký parkinsonismus, až smrt) [46].

### **3.1.4 Podvýživa v oblasti bílkovinné energie a záněty**

S obecnými klinickými stavy a stavem výživy se sérová BChE v roli nutričního a prognostického ukazatele rychle mění [47]. Hladiny BChE jsou silně ovlivněny zánětem, citlivě se snižují v akutní fázi a rychle se zvyšují, jakmile se zánět zhorší [48]. U pacientů s podvýživou v oblasti bílkovinné energie (PEM) sérová BChE klesá díky nedostatečné dostupnosti substrátu pro syntézu, nikoliv kvůli selhání hepatocelulárních buněk [47].

U podvyživených dětí s marazmem (duševní a tělesná zchátralost) a edematózní podvýživou je hladina BChE v séru, celkové bílkoviny a hladina albuminu nižší než u normálních dětí. Tyto hodnoty se po třech týdnech nutriční rehabilitace mají tendenci zvyšovat [49].

U hospitalizovaných pacientů s diagnostikou útrobní nebo mimoútrobní podvýživy bílkovinné energie jsou hladiny BChE nízké a významně korelují, především při útrobní podvýživě, s hodnotami transferinu, albuminu a cholesterolu. Útrobní podvýživa je stav spojený s nízkými hodnotami útrobních proteinů, jako je albumin nebo transferin a celkovým počtem lymfocytů [50].

Také u geriatrických pacientů je BChE platným prognostickým indikátorem, který je přísně spojen s výživovým stavem a zánětem. U zdravé geriatrické populace nebyla zjištěna žádná souvislost mezi hladinami BChE a pokročilým věkem, což naznačuje, že věk neovlivňuje snížení aktivity esteráz. Toto zjištění je obzvláště užitečné, pokud se domníváme, že starší populace je častěji léčena, a že esterázy se primárně podílejí na metabolismu léků [51]. Naopak snížená aktivita plazmatické BChE byla zjištěna u křehkých starších lidí a při akutním onemocnění, zatímco C-reaktivní protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) a nádorový nekrotický faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) měly hodnoty zvýšené [50].

Léčba PEM spočívá v korekci abnormalit tekutin a elektrolytů, mezi které patří hypokalémie, hypofosfatémie a hypomagnezémie. Dále je léčba spojena s léčbou zánětů a infekcí spojených s PEM [52].

### 3.1.5 Malignita

U pacientů s pokročilým onkologickým onemocněním, které je doprovázeno mírným až středně závažným zánětem a různými stupni PEM, byla zjištěna snížená hladina plazmatické BChE. Nejnižší aktivita byla zjištěna u pacientů s jaterními metastázemi, a to navzdory normalnosti jiných jaterních testů. Jeden z možných mechanismů odpovědných za snížení aktivity BChE u pacientů s rakovinou může být sekundární anorexie doprovázející malignitu [53].

U pacientů s peritoneální karcinózou bylo zjištěno, že sérové hladiny BChE společně s albuminem a Kornofského skórem (metoda k hodnocení celkového stavu pacienta; používá se především v onkologii, kde se podle škály hodnotí, jestli má být pacientovi podána chemoterapeutická léčba, nebo provedeny případné změny v dávkování léku) představují předpovědní faktor pro přežití [54].

U pacientů s rakovinou, kteří podstoupili nutriční hodnocení při vstupu a po jednom týdnu léčby bylo zjištěno, že v případě hladiny sérové BChE pod vstupní dávkou 1900 IU/L existuje riziko vzniku příslušné ztráty tělesné hmotnosti, hypoproteinémie a hypoalbuminémie během hospitalizace [55].

U pacientů s karcinomem děložního čípku a těch, kteří zároveň prodělávají radioterapii, se aktivita BChE ukázala jako prognostický marker, kde aktivita BChE byla nižší u všech pacientů před zahájením radiační terapie, zvýšila se při radioterapii a zůstala v normálním rozmezí po šesti měsících sledování u pacientů bez detekovatelné nemoci [56].

Dále bylo vyzorováno, že hladina sérové BChE, proteiny rychlého obratu (transferin, prealbumin vázající thyroxin a protein vázající retinol), tělesná hmotnost a bilance dusíku se zlepšily během výživové podpory u pacientů s rakovinou. Zlepšení hladin těchto sérových enzymů by se mohlo primárně odrážet na zlepšení obecných klinických stavů a zánětů [57].

U pacientů s non-Hodgkinovým lymfomem byl zaznamenán vztah mezi nutričním stavem (aktivita BChE, albumin, počet lymfocytů, hmotnost, ztráta hmotnosti) a růstem nádoru (hodnocení rychlosti inkorporace značeného thymidinu, 3H-TdR, nádorové tkáně), a to takový,

že nízká sérová aktivita BChE (index špatného nutričního stavu a přítomnost zánětu) a vysoká inkorporace 3H-TdR společně dokazují to, že udržení dobrého výživového stavu nemá žádný škodlivý účinek na růst nádoru [4].

U pacientů s rakovinou pankreatu, kteří podstoupili makroskopickou léčebnou resekci, nízké hladiny BChE v séru korelují s invazí nervové pleteně na primární nádor, což představuje špatný prognostický index. U pacientů s nízkými hladinami BChE byly dále zaznamenány systémové poruchy, včetně špatného výkonu, anémie a hypoalbuminémie [58].

Existuje široká škála mechanismů, které zabraňují a inhibují růst nádorových buněk. K léčbě nádorových onemocnění se využívá několika metod, mezi které patří chemoterapie, radioterapie, chirurgická léčba, hormonální terapie, termoterapie, imunoterapie nebo biologická terapie. V dnešní době se stále více onkologických pacientů obrací na alternativní medicínu [59].

### **3.1.6 Uremický syndrom a hemodialýza**

Pacienti s urémií podstupující hemodialýzu často trpí podvýživou, kterou ovlivňuje mnoho faktorů, jako například uremická toxicita, infekce, hyperkatabolismus, ztráta aminokyselin během dialýzy, abnormality v metabolismu aminokyselin a bílkovin a snížená syntéza proteinů v játrech. U pacientů s chronickou dialýzou se kromě tradičních parametrů (antropometrické indexy, obsah sérových proteinů, indexy imunitní odpovědi) jako prognostický marker využívá také BChE. Společně s BChE u chronicky uremických pacientů podstupujících konzervativní nebo dialyzační léčbu klesá také sérový protein, albumin a počet lymfocytů. Krátkodobá intravenózní suplementace esenciálních aminokyselin během dialýzy způsobuje nárůst tělesné hmotnosti, obvodu ramene svalů a sérového albuminu, stejně jako hladiny BChE [60].

### **3.1.7 Zánětlivá onemocnění střev**

Dalším tématem diskuze je inverzní příbuznost mezi BChE a albuminy v séru s proteiny akutní fáze, a to v důsledku působení protizánětlivých cytokinů. Hladiny BChE jsou společně s koncentrací sérového albuminu navrženy jako přímé markery podvýživy a nepřímého indexu zánětlivé aktivity u Crohnovy choroby. Aktivita BChE a koncentrace albuminu je výrazně nižší u pacientů s aktivní Crohnovou chorobou než u pacientů bez onemocnění, dále také jsou

hodnoty obou těchto látek mnohem nižší u podvyživených než u dobře vyživovaných pacientů [61].

Crohnova choroba patří mezi onemocnění, pro které neexistuje jednotná léčebná terapie. Nejčastěji se používá protizánětlivá léčba Crohnovy choroby, ve složitějších případech je nutný chirurgický zákrok [62].

### **3.1.8 Závažná onemocnění**

Mezi závažná onemocnění můžeme brát popáleniny. Velikost a závažnost popálenin úzce souvisí s redukcí aktivity BChE. Nejnižší úrovně BChE jsou zaznamenány pět až šest dní po spálení, u pacientů s těžkými popáleninami zůstává nízká aktivita BChE až čtyři měsíce po úrazu. Počáteční pokles aktivity je způsoben zředěním krve, zatímco prodloužení nízkých hladin zapříčiňuje porušená jaterní syntéza nebo uvolňování či přítomnost látek v plazmě. Kvůli riziku hyperkalémií je succinylcholin u pacienta s popáleninami v podstatě kontraindikován [2].

U pacientů s kritickými onemocněními, kdy je pohlcování živin v horních oblastech střeva mírně snižené a má za následek gastrointestinální dysmotilitu, je sérová aktivita BChE také snižena, což naznačuje normální biosyntetické procesy [63].

Osoby, které prodělaly septický šok, vykazují výrazně nižší hladiny BChE, albuminu a cholesterolu v séru [64].

U dospělých pacientů, kterým má být provedena orthotopická transplantace jater, je snižena hladina BChE ukazatelem krátkodobého přežití po provedení transplantace, což může být užitečné pro rozhodování před provedením zákroku [65].

### **3.1.9 Mentální anorexie**

Mentální anorexie představuje čistou formu podvýživy podobnou marazmu, kdy mohou být negativně ovlivněny mnohé orgány a systémy. U některých případů jaterního selhání byly popsány abnormality v sérových jaterních enzymech. U mentální anorexie se předpokládá, že mírné až středně velké zvýšení jaterních enzymů se projevuje na obsahu tuku v játrech, což je typické pro několik proteinů a podvýživových stavů. Za těchto klinických okolností by ztukovatění jater mohlo být důsledkem mezi syntézou a sekrecí jaterních triacylglycerolů a sníženou syntézou lipoproteinů v důsledku snížené dostupnosti aminokyselin [66].

Abnormální sérové koncentrace BChE a jiných jaterních enzymů bývají často zjištěny nejen v těžkých případech hospitalizovaných pacientů s mentální anorexií, ale také u ambulantních pacientů s poruchou příjmu potravy, což je ukazatelem účinků primární podvýživy na jaterní funkci a nedostatek proteinových substrátů. V extrémních případech mentální anorexie došlo k akutnímu selhání jater s výrazným zvýšením sérových transamináz a dramatickým snížením hladin BChE. Avšak po obnovení výživy hladina enzymu rychle stoupla [67].

Nízká aktivita BChE v séru spojena s podvýživou ukazuje na sníženou dostupnost živin, nikoliv na změny tělesného složení. Hladina enzymu není závislá na věku, hmotnosti a BMI pacientů [68].

Pacienti s mentální anorexií souběžně trpí vyčerpáním a depresí, proto je pro léčbu efektivní využití léků sloužících k přírůstku hmotnosti a proti depresi [69].

### **3.1.10 Enterální a parentální výživa**

Také u pacientů, kterým je podávána enterální či parentální výživa spolu s dalšími biochemickými (sérový albumin, prealbumin, transferin, cholesterol, thyroxin vázající protein, retinol vázající protein) a hematologickými (počet lymfocytů) parametry, se zdá být také BChE jako potenciální spolehlivý prognostický marker. Hladina BChE v séru se rychle mění s rozdíly v nutričním stavu pacienta [70]. Sérová BChE představuje citlivý marker zlepšení klinických stavů pacienta po vyřešení infekce a obnovení parentální výživy centrálním žilním katetrem [71].

U jedinců starších 80 let, kterým je podávána enterální nebo parentální výživa, byly zjištěny snížené hladiny BChE [70].

### **3.1.11 Jaterní a mimojaterní onemocnění**

Pokud jde o onemocnění jater, snížená aktivita BChE nám značí hepatocelulární poškození. Změny v aktivitě BChE se vyskytují u onemocnění s poraněním jaterního parenchymu, jako je fibróza jater, hepatitida a cirhóza [16]. Obnovu buněk lze zajistit postupným zvyšováním hladin BChE. Aktivita BChE v séru u jaterních onemocnění paralelně souvisí se sérovým cholesterolem a albuminem [72].

Sérové hladiny BChE snižují jaterní dysfunkci v důsledku snížené syntézy ve srovnání s jinými jaterními enzymy, jejichž hladiny se zvyšují z důvodu zvýšeného uvolňování z poškozených buněčných membrán [4].

Jaterní a mimojaterní onemocnění se pomocí aktivity BChE v séru a výsledků jaterních testů rozdělují do tří možných skupin. Do první skupiny spadají jaterní onemocnění s nejméně čtyřmi z pěti jaterních testů s abnormálními výsledky (aspartát-transamináza, alanin-transamináza, fosfatáza, celkový bilirubin a albumin). Pacienti této skupiny vykazují sérovou aktivitu BChE výrazně pod referenční hodnotou. Druhou skupinu tvoří mimojaterní onemocnění s alespoň dvěma abnormálními jaterními testy. Jedinci, kteří spadají do této skupiny, mají snížené hladiny BChE. Třetí skupinu tvoří zdravé subjekty.

Sérová aktivita BChE se zdá být jako více specifický marker dysfunkce jater než tradiční jaterní testy vzhledem k tomu, že játra jsou primární zdroj lidské BChE a tento enzym během zotavování výrazně snižuje syntézu a dysfunkci hepatocytů [53].

Pro onemocnění jater, které není způsobené alkoholem, v současné době neexistuje žádný lék ani možný chirurgický zákrok, který by byl pro léčbu vhodný. Léčba cirhózy není zcela účinná, ale omezeně můžeme zmírnit symptomy pomocí hepatoprotektiv, což jsou látky, které mají pozitivní účinek na obnovu jaterních buněk. Poškozenou funkci tohoto orgánu obnovíme pomocí transplantace [73].

### **3.1.12 AIDS**

U pacientů s AIDS a abnormálním D-xylózovým testem (toleranční test používaný v diagnostice malabsorpčního syndromu) je v důsledku dysfunkce tlustého střeva aktivita BChE, celkové sérové proteiny, albumin a cholesterol výrazně nižší než u pacientů s normálním absorpčním testem D-xylózy. V tomto stavu dále aktivita BChE koreluje se snížením tělesného složení bílkovin a energie spojeného s podvýživou [74].

AIDS patří mezi další nevléčitelné choroby. Léčba se skládá z antiretrovirové terapie, která zpomaluje průběh onemocnění. Současně léčba také zahrnuje preventivní a aktivní léčbu oportunních infekcí [75].

### 3.1.13 HELLP syndrom

U těhotných žen s HELLP syndromem (stav těžké toxikózy komplikovaný hemolýzou, trombocytopenií, abnormálním nátěrem periferní krve a patologickými jaterními testy) je aktivita butyrylcholinesterázy snížena a postupně se zvyšuje s obnovou funkce jater. Snížení aktivity BChE začíná přibližně v 10. týdnu těhotenství, další potom nastává po porodu před normalizací (10-42 dní po porodu). Toto snížení však není klinicky významné, protože aby se projevila citlivost na sukcinylcholin, musí být aktivita snížena na 50 %, v tomto případě je to mezi 25-33 %. Korelace mezi aktivitou BChE a intenzitou zánětlivé odezvy, měřeným počtem buněk, tělesnou teplotou a hladinou imunoglobulinu A je negativní [76].

Jedinou doporučenou léčbou u HELLP syndromu je ukončení těhotenství, kdy po vyjmutí placenty z těla příznaky postupem času vymizí. Ke zmírnění specifických příznaků mohou být podávána některá léčiva, jako například kortikosteroidy pro zrání plodu, které zvyšují počet krevních destiček u matky a mohou zlepšit zdraví novorozenců [77].

### 3.1.14 Obezita a metabolický syndrom

Butyrylcholinesteráza reguluje degradaci butyrylcholinu, meziprojektu metabolismu lipidů, a zároveň existuje blízký vztah mezi hladinami BChE v séru, cholesterolem a triacylglyceroly [78].

Butyrylcholinesteráza je široce zapojena do patofyziologie metabolického syndromu. Její enzymatická aktivita je pozitivně spojena s kardiovaskulárními rizikovými faktory. Vyšší aktivita BChE je u pacientů s hypertenzí, hyperlipidémií a obezitou. Na druhou stranu je aktivita BChE nepřímo spojena s kardiovaskulární mortalitou. U jedinců s velmi nízkou aktivitou BChE je zaznamenána vyšší míra úmrtnosti. Pacienti, kteří prodělali akutní infarkt myokardu nebo podstoupili léčbu  $\beta$ -blokátory vykazují nízké hodnoty BChE [79].

V experimentálních studiích během výkrmu prasat se aktivita BChE výrazně zvýšila, pravděpodobně kvůli adaptivní reakci jaterní syntézy tohoto enzymu na zvýšený metabolismus lipidů. Ve výzkumu na myších se lišily hladiny BChE u myší, které byly omezeně krmené (nízké hladiny BChE) a těch, které byly krmené normální stravou. Současně bylo pozorováno zvýšení aktivity BChE u hubených myší krmených podle diety s vysokým obsahem sacharidů. Naopak výrazná redukce aktivity BChE se objevila v játrech geneticky diabetických myší, které 24 hodin hladověly [4].

Aktivita BChE v játrech se přímo mění v závislosti na obsahu bílkovin ve stravě. Vysoko-bílkovinné diety mají ve srovnání s dietami s vysokým obsahem sacharidů nebo tuků mnohem vyšší nárůst aktivity BChE [80]. Také u diabetu 1. a 2. typu je aktivita BChE výrazně zvýšena [4].

Butyrylcholinesteráza může hrát roli v metabolismu lipidů, ať už přímo, nebo prostřednictvím synergického účinku s cholesterolesterázou [81]. Doposud není přesně určeno, zda je vyšší aktivita BChE příčinou, nebo důsledkem dyslipidémie a metabolického syndromu. Intervence, které primárně zvyšují nebo snižují krevní lipidy, mají stejný účinek na BChE, avšak inhibice aktivity BChE *in vivo* nesnižuje koncentrace lipidů [82]. Aktivita BChE byla snížena po léčbě bezafibrátem, ale po léčbě statiny se nezměnila [81].

Ve studiích na diabetických pacientech bylo zjištěno, že nárůst BChE významně koreluje se sérovým inzulínem, C-peptidem a volnými mastnými kyselinami. Bylo tak nepřímo dokázáno, že inzulínová rezistence a zvýšený tok volných mastných kyselin z tukové tkáně do jater stimulují hepatickou syntézu sérové BChE [78].

Další propojení mezi aktivitou BChE a metabolickým syndromem nám naznačuje souvislost s aktivitami AST (aspartátaminotransferáza), ALT (alaninaminotransferáza) a GGT (gama-glutamyltransferáza), o nichž je známo, že jsou spojeny s rezistencí na inzulín. Pacienti s nadváhou a diabetem 2. typu vykazují značně zvýšené aktivity sérového ALT, GGT a BChE a silnou korelaci BChE se sérovými triglyceridy [83].

Zvýšená aktivita BChE byla pozorována u neobézních a obézních pacientů se ztukovatělými játry, zatímco u obézních subjektů bez jaterních změn byly zjištěny hladiny BChE v horní části normálního rozmezí. U pacientů se ztukovatělými játry, kteří byli podrobena nízkokalorické dietě, klesala aktivita BChE souběžně se zlepšením steatózy jater [84].

Markantní podobnost byla zaznamenána také mezi plazmatickou LCAT (lecitincholesterolacyltransferáza) a sérovou aktivitou BChE. Oba enzymy vykazovaly nižší hodnoty u jaterních onemocnění a vyšší u endogenní hypertriglyceridémie. Také pozitivně korelovaly se sérovým cholesterolem a triglyceridy, což naznačuje, že oba jaterní enzymy mohou být indukovány zvýšením počtu sérových lipidů a lipoproteinů [85].

Také krevní tlak může být kauzálně ovlivněn BChE, protože její substrát acetylcholin vyvolává vazodilataci prostřednictvím uvolňování NO endoteliálními muskarinovými



cholinergními receptory. Nadbytek cholinesterázové aktivity v metabolickém syndromu může také negativně ovlivnit endoteliální funkci, a nakonec zvýšit krevní tlak [86].

Mimo umístění genu BChE na chromozomu 3 se vyskytuje také varianta cholinesterázy 2 mapována na chromozom 5. Bylo zjištěno, že varianta na pátém chromozomu obsahuje gen pro protein, který se váže na BChE a zvyšuje její aktivitu. Dalším vysvětlením by mohlo být, že vysoké koncentrace lipidů v séru mohou indukovat stereoskopické změny v enzymatické konfiguraci, která modifikuje aktivitu BChE nebo změnu v expresi genu kódujícího enzym, který určuje koncentraci a aktivitu BChE [87].

### **3.1.15 Chronická obstrukční plicní nemoc**

Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) je charakterizována převážně omezeným proudem vzduchu dýchacími cestami a zánětlivostí plíce škodlivým prachem a plyny, kdy průtok vzduchu při léčbě nelze obnovit na počáteční hodnotu. Onemocnění se projevuje dušností, vykašláváním hlenů a kašlem, hlavní příčinou je kouření. CHOPN je spojena se zvýšeným rizikem infekcí dýchacích cest, rakoviny plic, plicní embolie, pneumotoraxu, ischemické choroby srdeční, diabetu a deprese [16].

Protože je CHOPN spojena se zánětlivými procesy, může být lidská BChE využita jako prognostický marker, jelikož patří mezi hlavní enzymy biosyntézy spojené se zánětem, oxidačním stresem a metabolismem lipidů [88]. BChE se také podílí na metabolismu xenobiotických látek a léků, včetně těch, které se používají při léčbě CHOPN, jako například akridinium bromid. Z tohoto důvodu může BChE ovlivnit účinnost léčby změnami své aktivity. Aktivitu enzymu může také změnit oxidační stres. V krevní plazmě pacientů s CHOPN můžeme pozorovat výrazný pokles aktivity BChE spojený se zvýšenou peroxidací lipidů a poklesem celkové antioxidační kapacity [16].

CHOPN je progresivní onemocnění, při kterém je funkce plic nezávislá na léčbě. Avšak její symptomy jsou léčitelné, což umožňuje zpomalení rozvoje onemocnění. Hlavním cílem je tedy snížit rizikové faktory. Jediným opatřením, které snižuje úmrtnost, je přestat s kouřením [89].

### **3.1.16 Onemocnění ledvin**

Existuje spojení mezi onemocněním ledvin a poklesem hladiny BChE, ale důvody nejsou zcela jasné. U pacientů, kteří podstoupili transplantaci ledvin, byl zaznamenán počáteční pokles BChE s následnou normalizací přibližně patnáct dní po transplantaci, což je přibližně stejná doba jako poločas rozpadu enzymu.

Funkci ledvin nahrazuje dialýza, kdy pacient dvakrát nebo třikrát týdně podstupuje peritoneální dialýzu (břišní nebo pobřišnicová) nebo hemodialýzu. V současné době pro léčbu chronického selhání ledvin je nejvhodnější transplantace [2].

### **3.1.17 Kardiopulmonální bypass**

Po zahájení kardiopulmonálního bypassu jsou hodnoty aktivity BChE sníženy až do 37 % oproti referenčním hodnotám. Toto snížení nesouvisí s anestetickou technikou, ale spíše s ředěním krve díky zvýšení objemu tekutiny v cévách. Samotné snížení aktivity BChE nemá velký klinický význam, ale v kombinaci s genetickými variantami nebo přítomností určitého léčiva může být přispívajícím faktorem k prodloužení apnoe a paralýzy po podání sukcinylcholinu.

Kardiopulmonální bypass slouží jako náhrada poškozených tepen, kdy je krev převzata z jiných oblastí těla, okysličeána, zbavena CO<sub>2</sub> a zahřátá mimo tělo pacienta a poté vedena zpět k opravě poškozených tepen [2].

## **3.2 Butyrylcholinesterázový nedostatek**

Nedostatek BChE je geneticky nebo metabolicky získaná změna metabolismu cholinových esterů, jako je sukcinylcholin, mivakurium (sloučenina snižující napětí kosterní svaloviny blokáci nervosvalového přenosu) a esterová lokální anestetika (například kokain, prokain a tetrakain). Nejznámější důsledek nedostatku BChE je prodloužená paralýza a apnoe po podání sukcinylcholinu nebo mivakuria. Méně časté jsou nepříznivé výsledky spojené s použitím esterových lokálních anestetik, zejména chlorprokainu.

Lidé mohou žít celý život s nedostatkem BChE, aniž by pocítili nežádoucí účinky a přítomnost genetické vady se neprojeví, dokud nebudou vystaveni působení sukcinylcholinu nebo mivakuria [2].

## **4 TERAPIE S VYUŽITÍM BUTYRYLCHOLINESTERÁZY**

### **4.1 Exogenní butyrylcholinesterázová terapie**

Butyrylcholinesteráza se používá namísto acetylcholinesterázy, protože 0,1 % lidské plazmatické bílkoviny je tvořeno BChE (AChE se nachází pouze v membráně erytrocytů). BChE může být ve velkém množství přečištěna z lidské plazmy. BChE má větší aktivní místo než AChE, a proto může navázat více substrátů. Tento enzym má dlouhý poločas *in vivo* (8-12 dní), díky tomu může jednorázová injekce zvýšit plazmatickou hladinu BChE na několik dní a zároveň nemá žádné nepříznivé účinky při zvýšené plazmatické aktivitě BChE a je tepelně stabilní při dlouhodobém skladování [17].

### **4.2 Butyrylcholinesterázová genová terapie**

Umělé zrychlení metabolické clearance snižuje hodnotu odměňování kokainem v mozku. Klíčovým enzymem normálního metabolismu kokainu je BChE, jelikož byla vyvinuta mimo jiné také k ochraně před toxickými rostlinnými estery, mezi které kokain patří. Avšak přirozený lidský enzym hydrolyzuje kokain z 0,1 %, a proto je pro účel blokace činnosti kokainu poměrně neúčinný. Mnohem účinnější (1000krát) je bakteriální esteráza kokainu, ta ale není preferovaná pro dlouhodobé klinické použití tak, jako lék na bázi lidského proteinu. Proto byly zavedeny racionální mutace BChE, které nakonec dosáhly katalytické účinnosti až 1700krát vyšší než přirozená BChE [90].

Mutace BChE využívající se k léčbě závislosti na kokainu byly přetvořeny na vysoce účinnou kokainovou hydrolázu (CocH), která inaktivuje kokain během několika sekund poté, co se objeví v krevním řečišti, čímž blokuje přístup drog do center odměny v mozku. CocH nejen zabraňuje stimulačním a odměňujícím účinkům kokainu, ale také zamezuje záchvatům a úmrtí z letálních dávek při předávkování kokainem. CocH exprimovaná adenovirovým genovým přenosovým vektorem umožňuje trvalé a účinné hladiny exprese enzymu v játrech a plazmě [91].

### **4.3 Vliv léků na butyrylcholinesterázu**

S BChE spojujeme léky související s anestezií, mezi které řadíme anticholinesterázy, což jsou inhibitory cholinesteráz potlačující jejich funkci, a pankuronium (steroidní periferní svalové relaxans). Anticholinesterázy se běžně používají k nápravě svalových relaxantů, avšak

jejich úloha indukovaná succinylcholinem je kontroverzní, jelikož anticholinesterázy inhibují cholinesterázy, čímž zabraňují rozpadu succinylcholinu. Anticholinesterázy souvisejí s prodloužením apnoe a paralýzy, nekompletním antagonizmem a potenciální bloádou spojenou se succinylcholinem. Pankuronium vykazuje také určitou anticholinesterázovou aktivitu, jelikož po dobu až 45 minut po podání injekce pankuronia jsou hodnoty BChE sníženy o 40 %. Léky ani určité genetické varianty nejsou dostatečné k prokázání paralýzy a apnoe po podání succinylcholinu, ale jejich kombinace je v klinické praxi dobrým ukazatelem prognózy terapie [2].

## 5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo detailně popsat a přiblížit jednotlivé funkce a vlastnosti butyrylcholinesterázy jako enzymu štěpícího cholin v lidském organismu. Butyrylcholinesteráza hraje důležitou roli v lidském těle, plní různé enzymatické i neenzymatické funkce a za určitých podmínek dokáže také převzít funkci acetylcholinesterázy. Byla detailně popsána její struktura, umístění v těle, fyziologické, farmakologické a toxikologické funkce, tkáňová exprese, molekulární formy a v neposlední řadě i genetické varianty tohoto enzymu.

V další části byly popsány vybrané metody stanovení butyrylcholinesterázy s využitím v rutinních klinických diagnostických postupech k vyhodnocení klinických stavů pacienta, kde je nejvýznamnější Ellmanova metoda. Měření hodnot sérové butyrylcholinesterázy je důležitou součástí terapie a diagnostiky různých onemocnění, a to hlavně Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby, širokého spektra poruch výživy a také jaterních onemocnění. Tyto onemocnění postihují velkou část populace a je nesmírně důležité je včasné diagnostikovat z důvodu zachycení nemoci v raném stádiu a minimalizace trvalých následků. V neposlední řadě je nutno zmínit, že butyrylcholinesteráza nalézá stále častější uplatnění také v rámci genové a exogenní terapie.

I když se butyrylcholinesteráza může jevit jako nespecifický faktor při závažných onemocněních, má velmi významnou úlohu při otravě organofosfáty, jelikož s nimi dokáže reagovat, a tak poskytuje účinnou ochranu vůči subletálním dávkám drog obsahujících estery. Butyrylcholinesteráza také zastává funkci hlavního detoxikačního enzymu kokainu u lidí, což ji předurčuje k využití v léčbě závislosti na kokainu. Díky genetické mutaci lze butyrylcholinesterázu přetvořit na účinnou kokainovou hydrolázu, která dokáže inaktivovat kokain během několika sekund.

Pochopení funkce a aktivity butyrylcholinesterázy je klíčovým faktorem k dalšímu výzkumu v oblasti diagnostiky a terapie onemocnění. Monitorování aktivity tohoto enzymu může být užitečné nejen pro určení správné fyziologické funkce, ale hlavně jako prognostického markeru s rostoucím významem v oblasti klinické biochemie a farmakologie.

## 6 REFERENCE

- [1] LOCKRIDGE, O. a D. QUINN. Esterases. *Biotransformation* [online]. Elsevier, 2010, 2010(4), 243-273 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/316542056\\_Esterases](https://www.researchgate.net/publication/316542056_Esterases)
- [2] SOLIDAY, F., Y. CONLEY a R. HENLEY. Pseudocholinesterase Deficiency: A Comprehensive Review of Genetic, Acquired, and Drug Influences. *AANA Journal*. 2010, 78(4), 313-320.
- [3] SILMAN, I. a J. SUSSMAN. Acetylcholinesterase. *Current Opinion in Pharmacology* [online]. 2005, 5(3), 293-302 [cit. 2018-04-23]. DOI: 10.1016/j.coph.2005.01.014. ISSN 14714892. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471489205000445>
- [4] SANTARPIA, L., I. GRANDONE, F. CONTALDO a F. PASANISI. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* [online]. 2013, 4(1), 31-39 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1007/s13539-012-0083-5. ISSN 21905991. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1007/s13539-012-0083-5>
- [5] DI GIAMBERARDINO, L. a J. COURAUD. Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase: Similarities in Normal and Denervated Muscles, Differences in Axonal Transport. PEPEU, Giancarlo, ed. a Herbert LADINSKY, ed., G. PEPEU, H. LADINSKY. *Cholinergic Mechanisms* [online]. 1981. Boston, MA: Springer US, 1981, s. 387-392 [cit. 2018-04-23]. Advances in Behavioral Biology. DOI: 10.1007/978-1-4684-8643-8\_39. ISBN 978-1-4684-8645-2. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4684-8643-8\\_39](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4684-8643-8_39)
- [6] PATOČKA, J., K. KUČA a D. JUN. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase--important enzymes of human body. *Acta Medica* [online]. 2004, 47(4), 215-228 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15841900>
- [7] BARTOLUCCI, C., E. PEROLA, C. PILGER, G. FELS a D. LAMBA. Acetylcholinesterase (E.C.3.1.1.7). *Proteins*[online]. 2001, 42, 182-191 [cit. 2018-06-28]. Dostupné z: <http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do?tabtoshow=Current&qrid=BF42BDC5>
- [8] ATACK, J., E. PERRY, J. BONHAM, J. CANDY a R. PERRY. Molecular forms of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the aged human central nervous system. *Journal of Neurochemistry* [online]. 1986, 47(1), 263-277 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3711902>

- [9] CHATONNET, A. a O. LOCKRIDGE. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal* [online]. 1989, 260(3), 625-624 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1138724/pdf/biochemj00205-0010.pdf>
- [10] MASSON, P., E. CARLETTI a F. NACHON. Structure, Activities and Biomedical Applications of Human Butyrylcholinesterase. *Protein and Peptide Letters* [online]. 2009, 16(10), 1215-1224 [cit. 2018-04-23]. DOI: 10.2174/092986609789071207. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/26277789\\_Structure\\_Activities\\_and\\_Biomedical\\_Applications\\_of\\_Human\\_Butyrylcholinesterase](https://www.researchgate.net/publication/26277789_Structure_Activities_and_Biomedical_Applications_of_Human_Butyrylcholinesterase)
- [11] NICOLET, Y., O. LOCKRIDGE, P. MASSON, J. C. FONTECILLA-CAMPS a F. NACHON. Crystal structure of human butyryl cholinesterase. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2003, 278, 41141-41147 [cit. 2018-06-28]. Dostupné z: <http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do?tabtoshow=Current&qrid=9BD2BDB2>
- [12] ÇOKUĞRAŞ, A. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance. *Turkish Journal of Biochemistry* [online]. 2003, 28(2), 54-61 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: [http://turkjbiochem.com/2003/054\\_061.pdf](http://turkjbiochem.com/2003/054_061.pdf)
- [13] BLONDET, B., G. CARPENTIER, A. FERRY, A. CHATONNET a C. JOSÉ. Localization of Butyrylcholinesterase at the Neuromuscular Junction of Normal and Acetylcholinesterase Knockout Mice. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* [online]. 2010, 58(12), 1075-1082 [cit. 2018-05-22]. DOI: 10.1369/jhc.2010.956623. ISSN 0022-1554. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1369/jhc.2010.956623>
- [14] CHECLER, F., J GRASSI a J. VINCENT. Cholinesterases Display Genuine Arylacylamidase Activity but Are Totally Devoid of Intrinsic Peptidase Activities. *Journal of Neurochemistry* [online]. 1994, 62(2), 756-763 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1994.62020756.x. ISSN 00223042. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1471-4159.1994.62020756.x>
- [15] MASSON, P., M. FROMENT, E. GILLON, F. NACHON, O. LOCKRIDGE a L. SCHOPFER. Kinetic analysis of effector modulation of butyrylcholinesterase-catalysed hydrolysis of acetanilides and homologous esters. *FEBS Journal* [online]. 2008, 275(10), 2617-2631 [cit. 2018-05-22]. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2008.06409.x. ISSN 1742464X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1742-4658.2008.06409.x>
- [16] SICINSKA, P., B. BUKOWSKA, A. PAJAK, A. KOCEVA-CHYLA, T. PIETRAS, P. NIZINKOWSKI, P. GORSKI a M. KOTER-MICHALAK. Decreased activity of

- butyrylcholinesterase in blood plasma of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Archives of Medical Science* [online]. 2017, 3, 645-651 [cit. 2018-06-05]. DOI: 10.5114/aoms.2016.60760. ISSN 1734-1922. Dostupné z: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/aoms.2016.60760>
- [17] LIGHTNING, L. Butyrylcholinesterase Overview: Substrates Inhibitors Structure Mechanism Therapeutic Indications. *Slide Share* [online]. 2012 [cit. 2018-05-27]. Dostupné z: <https://www.slideshare.net/lukelightning/butyrylcholinesterase-overview-substrates-inhibitors-structure-mechanism-therapeutic-indications>
- [18] ROSENMAN, K. a P. GUSS. Prevalence of Congenital Deficiency in Serum Cholinesterase. *Archives of Environmental Health: An International Journal* [online]. 1997, 52(1), 42-44 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1080/00039899709603798. ISSN 0003-9896. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00039899709603798>
- [19] DARVESH, S., D. HOPKINS a Ch. GEULA. Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nature reviews Neuroscience* [online]. 2003, 4(2), 131-138 [cit. 2018-04-23]. DOI: 10.1038/nrn1035. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrn1035>
- [20] BONO, G., D. SIMÃO-SILVA, M. BATISTELA a kol. Butyrylcholinesterase: K variant, plasma activity, molecular forms and rivastigmine treatment in Alzheimer's disease in a Southern Brazilian population. *Neurochemistry International* [online]. 2015, 81(2), 57-62 [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/0c5b/c56d7661d495e6ae083dfc9e137c5186f37a.pdf>
- [21] SOUZA, R., L. MIKAMI, R. MAEGAWA a E. CHAUTARD-FREIRE-MAIA. Four new mutations in the BCHE gene of human butyrylcholinesterase in a Brazilian blood donor sample. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2005, 84(4), 349-353 [cit. 2018-04-23]. DOI: 10.1016/j.ymgme.2004.12.005. ISSN 10967192. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1096719204003257>
- [22] DINGOVÁ, D. a A. HRABOVSKÁ. Methods for determination of cholinesterase activity. *Ceskoslovenska fysiologie* [online]. 2015, 64(2), 79-83 [cit. 2018-06-18]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26852525>
- [23] ŽĎÁROVÁ KARASOVÁ, J., K. KUČA, D. JUN a J. BAJGAR. Užití Ellmanovy pro stanovení aktivit cholinesteras při in vivo hodnocení účinků reaktivátorů. *Chemické listy*. 2010, 104(1), 46-50.



- [24] ŠINKO, G., M. ČALIĆ, A. BOSAK a Z. KOVARIK. Limitation of the Ellman method. *Analytical Biochemistry* [online]. 2007, 370(2), 223-227 [cit. 2018-06-18]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326970700471X>
- [25] HENDERSON, A. R. a J. F. KACHMAR. Enzymes. TIETZ, N. W. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1987, s. 346-421. ISBN 0721688624.
- [26] CHO, Y., H. LEE, G. CHA a Y. LEE. Fabrication of butyrylcholinesterase sensor using polyurethane-based ion-selective membranes. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 1999, 14(4), 435-438 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1016/S0956-5663(99)00016-0. ISSN 09565663. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566399000160>
- [27] MITSUBAYASHI, K., K. NAKAYAMA, M. TANIGUCHI, H. SAITO, K. OTSUKA a H. KUDO. Bioelectronic sniffer for nicotine using enzyme inhibition. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2006, 573-574, 69-74 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1016/j.aca.2006.01.091. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267006002601>
- [28] KORPAN, Y., F. RAUSHEL, E. NAZARENKO, A. SOLDATKIN, N. JAFFREZIC-RENAULT a C. MARTELET. Sensitivity and Specificity Improvement of an Ion Sensitive Field Effect Transistors-Based Biosensor for Potato Glycoalkaloids Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, 54(3), 707-712 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1021/jf0529316. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0529316>
- [29] KUTTY, K. a R. PAYNE. Serum pseudocholinesterase and very-low-density lipoprotein metabolism. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. 1994, 8(4), 247-250 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1002/jcla.1860080411. ISSN 08878013. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcla.1860080411>
- [30] MCILROY, S., V. CRAWFORD, K. CRAWFORD, B. MCGLEENON, M. VAHIDASSR, J. LAWSON a A. PASSMORE. Butyrylcholinesterase K variant is genetically associated with late onset Alzheimer's disease in Northern Ireland. *J Med Genet* [online]. 2000, 37, 182-185 [cit. 2018-06-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1734550/pdf/v037p00182.pdf>
- [31] NORDBERG, A., C. BALLARD, R. BULLOCK, T. DARREH-SHORI a M. SOMOGYI. A Review of Butyrylcholinesterase as a Therapeutic Target in the Treatment of Alzheimer's Disease. *The Primary Care Companion For CNS Disorders* [online]. 2013, 15(2), - [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.4088/PCC.12r01412. ISSN 2155-7780. Dostupné z: <http://www.psychiatrist.com/pcc/article/Pages/2013/v15n02/12r01412.aspx>

- [32] DARVESH, S. Butyrylcholinesterase as a Diagnostic and Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research* [online]. 2016, 13(10), 1173-1177 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.2174/1567205013666160404120542. ISSN 15672050. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1567-2050&volume=13&issue=10&spage=1173>
- [33] MESULAM, M. - M. Butyrylcholinesterase in Alzheimer's Disease. GIACOBINI, Ezio, ed. a Robert E. BECKER, ed., Ezio GIACOBINI, Robert BECKER. *Alzheimer Disease* [online]. Boston, MA: Birkhäuser Boston, 1994, s. 79-83 [cit. 2018-06-10]. DOI: 10.1007/978-1-4615-8149-9\_13. ISBN 978-1-4615-8151-2. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8149-9\\_13](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8149-9_13)
- [34] WRIGHT, C., C. GUELA a M. MESULAM. Protease inhibitors and indoleamines selectively inhibit cholinesterases in the histopathologic structures of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1993, 90(2), 683-686 [cit. 2018-06-10]. DOI: 10.1073/pnas.90.2.683. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.90.2.683>
- [35] GIACOBINI, E. a G. GOLD. Alzheimer disease therapy—moving from amyloid- $\beta$  to tau. *Nature Reviews Neurology* [online]. 2013, 9(12), 677-686 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.223. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrneurol.2013.223>
- [36] KOVÁCS, T. Therapy of Alzheimer disease. *Neuropsychopharmacologia Hungarica* [online]. 2009, 11(1), 27-33 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <https://scihub.tw/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19731816>
- [37] JESSE, S., S. LEHNERT, O. JAHN a kol. Differential Sialylation of Serpin A1 in the Early Diagnosis of Parkinson's Disease Dementia. *PLoS ONE* [online]. 2012, 7(11), 48783- [cit. 2018-06-01]. DOI: 10.1371/journal.pone.0048783. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0048783>
- [38] KALIA, L. a A. LANG. Parkinson's disease. *The Lancet* [online]. 2015, 386(9996), 896-912 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614613933>
- [39] LITVAN, I., J. GOLDMAN, A. TRÖSTER a kol. Diagnostic criteria for mild cognitive impairment in Parkinson's disease. *Movement Disorders* [online]. 2012, 27(3), 349-356 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1002/mds.24893. ISSN 08853185. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.24893>

- [40] ZHANG, Q., A. LI, S. HE a kol. Serum Total Cholinesterase Activity on Admission Is Associated with Disease Severity and Outcome in Patients with Traumatic Brain Injury. *PLOS ONE* [online]. 2015, 10(6), 0129082- [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1371/journal.pone.0129082. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0129082>
- [41] BENMOYAL-SEGAL, L., T. VANDER, S. SHIFMAN a kol. Acetylcholinesterase/paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease. *The FASEB Journal* [online]. 2005, 19(3), 452-454 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1096/fj.04-2106fje. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <http://www.fasebj.org/doi/10.1096/fj.04-2106fje>
- [42] NOYCE, A., J. BESTWICK, L. SILVEIRA-MORIYAMA, Ch. HAWKES, G. GIOVANNONI, A. LEES a A. SCHRAG. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Annals of Neurology* [online]. 2012, 72(6), 893-901 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1002/ana.23687. ISSN 03645134. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.23687>
- [43] RASCOL, O., P. PAYOUX, F. ORY, J. FERREIRA, Ch. BREFEL-COURBON a J. MONTASTRUC. Limitations of current Parkinson's disease therapy. *Annals of Neurology* [online]. 2003, 53(3), 3-15 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1002/ana.10513. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.10513>
- [44] OLANOW, C., M. STERN a K. SETHI. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). *Neurology* [online]. 2009, 72(21), 1-136 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181a1d44c. Dostupné z: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.0b013e3181a1d44c>
- [45] JOSVIK, N., M. BATISTELA, R. SOUZA a kol. Plasma butyrylcholinesterase activity. *International Journal of Neuroscience* [online]. 2017, 127(12), 1082-1086 [cit. 2018-06-02]. DOI: 10.1080/00207454.2017.1329203. ISSN 0020-7454. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00207454.2017.1329203>
- [46] MCKEITH, I., E. PERRY a R. PERRY. Report of the second dementia with Lewy body international workshop. *Neurology* [online]. 1999, 53(5), 902-902 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.53.5.902>
- [47] DAVIS, L., J. BRITTEN a M. MORGAN. Cholinesterase Its significance in anaesthetic practice. *Anaesthesia* [online]. 1997, 52(3), 244-260 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1111/j.1365-2044.1997.084-az0080.x. ISSN 0003-2409. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2044.1997.084-az0080.x>

- [48] HUBBARD, R., M. O'MAHONY, B. CALVER a K. WOODHOUSE. Plasma esterases and inflammation in ageing and frailty. *European Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2008, 64(9), 895-900 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1007/s00228-008-0499-1. ISSN 0031-6970. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00228-008-0499-1>
- [49] DABKE, A., J. POHOWALLA, S. INAMDAR, S. SINGH a P. MATHUR. Serum cholinesterase and histopathology of the liver in severe protein calorie malnutrition. *The Indian Journal of Pediatrics* [online]. 1972, 39(5), 151-157 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1007/BF02750872. ISSN 0019-5456. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02750872>
- [50] CAMARERO GONZÁLEZ, E., V. MUÑOZ LEIRA, M. IGLESIAS GUERRERO, J. FERNÁNDEZ ALVAREZ a J. CABEZAS-CERRATO. Protein-energy malnutrition: its effects on 4 metabolic parameters. *Nutricion hospitalaria* [online]. 1995, 10(3), 158-160 [cit. 2018-05-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7612711>
- [51] ABOU-HATAB, K. Relationship between age and plasma esterases. *Age and Ageing* [online]. 2001, 30(1), 41-45 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1093/ageing/30.1.41. ISSN 14682834. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ageing/article-lookup/doi/10.1093/ageing/30.1.41>
- [52] AKNER, G. a T. CEDERHOLM. Treatment of protein-energy malnutrition in chronic nonmalignant disorders. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2001, 74(1), 6-24 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1093/ajcn/74.1.6. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcn/article/74/1/6/4739551>
- [53] OGUNKEYE, O. a A. ROLUGA. Serum cholinesterase activity helps to distinguish between liver disease and non-liver disease aberration in liver function tests. *Pathophysiology* [online]. 2006, 13(2), 91-93 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/j.pathophys.2006.01.002. ISSN 09284680. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928468006000228>
- [54] SANTARPIA, L., L. ALFONSI, F. PASANISI, C. DE CAPRIO, L. SCALFI a F. CONTALDO. Predictive factors of survival in patients with peritoneal carcinomatosis on home parenteral nutrition. *Nutrition* [online]. 2006, 22(4), 355-360 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/j.nut.2005.06.011. ISSN 08999007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0899900705003205>
- [55] RAVERA, E., F. BOZZETTI a G. RADAELLI. Predictability of deterioration in marginally malnourished cancer patients during hospitalisation. *Clinical Nutrition* [online]. 1989, 8(4), 203-206 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/0261-5614(89)90075-7.

- [56] CHOUGULE, A., S. HUSSAIN a D. AGARWAL. Prognostic and diagnostic value of serum pseudocholinesterase, serum aspartate transaminase, and serum alinine transaminase in malignancies treated by radiotherapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* [online]. 2008, 4(1), 21-25 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.4103/0973-1482.39601. ISSN 0973-1482. Dostupné z: <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2008/4/1/21/39601>
- [57] BOZZETTI, F. Effects of Artificial Nutrition on the Nutritional Status of Cancer Patients. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* [online]. 2016, 13(4), 406-420 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1177/0148607189013004406. ISSN 0148-6071. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1177/0148607189013004406>
- [58] MITSUNAGA, S., T. KINOSHITA, T. HASEBE, T. NAKAGOHRI, M. KONISHI, S. TAKAHASHI, N. GOTOHDA a A. OCHIAI. Low Serum Level of Cholinesterase at Recurrence of Pancreatic Cancer Is a Poor Prognostic Factor and Relates to Systemic Disorder and Nerve Plexus Invasion. *Pancreas* [online]. 2008, 36(3), 241-248 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815b6b2b. ISSN 0885-3177. Dostupné z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006676-200804000-00003>
- [59] GONZÁLEZ, M., J. MIRANDA-MASSARI, E. MORA a kol. Orthomolecular Oncology Review. *Integrative Cancer Therapies* [online]. 2005, 4(1), 32-44 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1177/1534735404273861. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1534735404273861>
- [60] GUARNIERI, G., L. FACCINI, T. LIPARTITI a kol. Simple methods for nutritional assessment in hemodialyzed patients. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 1980, 33(7), 1598-1607 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1093/ajcn/33.7.1598. ISSN 0002-9165. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcn/article/33/7/1598/4693054>
- [61] KHALIL, S., S. DUDRICK, A. MATHIEU, B. RIGOR a E. FODY. Low level of pseudocholinesterase in patient with Crohn's disease. *The Lancet* [online]. 1980, 316(8188), 267-268 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/S0140-6736(80)90160-9. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673680901609>
- [62] VAN HOGEZAND, R., A. WITTE, R. VEENENDAAL, M. WAGTMANS a C. LAMERS. Proximal Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Diseases* [online]. 2001, 7(4), 328-337 [cit. 2018-06-12]. DOI: 10.1097/00054725-200111000-00010. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ibdjournal/article/7/4/328-337/4719443>

- [63] SOLOGUB, V., T. ZAETS, A. TARASOV, M. MORDKOVITCH a A. YU YASHIN. Enteral hyperalimentation of burned patients. *Burns* [online]. 1992, 18(3), 245-249 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/0305-4179(92)90080-E. ISSN 03054179. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030541799290080E>
- [64] KANAI, S., T. HONDA, T. UEHARA a T. MATSUMOTO. Liver function tests in patients with bacteremia. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. 2008, 22(1), 66-69 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1002/jcla.20205. ISSN 08878013. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcla.20205>
- [65] WEISMÜLLER, T., J. PROKEIN, T. BECKER, H. BARG-HOCK, J. KLEMPNAUER, M. MANNS a Ch. STRASSBURG. Prediction of survival after liver transplantation by pre-transplant parameters. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [online]. 2009, 43(6), 736-746 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1080/00365520801932944. ISSN 0036-5521. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365520801932944>
- [66] DI PASCOLI, L., A. LION, D. MILAZZO a L. CAREGARO. Acute liver damage in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders* [online]. 2004, 36(1), 114-117 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1002/eat.20002. ISSN 0276-3478. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/eat.20002>
- [67] DE CAPRIO, C., A. ALFANO, I. SENATORE, L. ZARRELLA, F. PASANISI a F. CONTALDO. Severe acute liver damage in anorexia nervosa: two case reports. *Nutrition* [online]. 2006, 22(5), 572-575 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1016/j.nut.2006.01.003. ISSN 08999007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0899900706000840>
- [68] MONTAGNESE, C., L. SCALFI, A. SIGNORINI, E. DE FILIPPO, F. PASANISI a F. CONTALDO. Cholinesterase and other serum liver enzymes in underweight outpatients with eating disorders. *International Journal of Eating Disorders* [online]. 2007, 40(8), 746-750 [cit. 2018-05-30]. DOI: 10.1002/eat.20432. ISSN 02763478. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/eat.20432>
- [69] HALMI, K. Anorexia Nervosa. *Archives of General Psychiatry* [online]. 1986, 43(2), 177-181 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpsyc.1986.01800020087011>
- [70] DONINI, L., C. SAVINA, L. RICCIARDI a kol. Predicting the outcome of artificial nutrition by clinical and functional indices. *Nutrition* [online]. 2009, 25(1), 11-19 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1016/j.nut.2008.07.001. ISSN 08999007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0899900708003079>

- [71] GRANDONE, I., L. SANTARPIA, L. ALFONSI, M. PAGANO, F. PASANISI a F. CONTALDO. Serum cholinesterase as indicator of parenteral nutrition efficacy in protein energy malnutrition: Four case reports. *SPEN, the European Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* [online]. 2010, 5(1), 6-9 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1016/j.eclnm.2009.10.006. ISSN 17514991. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751499109000924>
- [72] HAMAMOTO, S., Y. UCHIDA, T. WADA a kol. Changes in serum lipid concentrations in patients with chronic hepatitis C virus positive hepatitis responsive or non-responsive to interferon therapy. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* [online]. 2005, 20(2), 204-208 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03526.x. ISSN 0815-9319. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1440-1746.2004.03526.x>
- [73] PREISS, D. a N. SATTAR. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Science* [online]. 2008, 115(5), 141-150 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://clinsci.org/lookup/doi/10.1042/CS20070402>
- [74] OTT, M., A. WEGNER, W. CASPARY a B. LEMBCKE. Intestinal absorption and malnutrition in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Zeitschrift für Gastroenterologie* [online]. 1993, 31(11), 661-665 [cit. 2018-05-29]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8291278>
- [75] MAGUIRE, S., C. HARDY a T. LAWRENCE. Institutional Entrepreneurship in Emerging Fields. *Academy of Management Journal* [online]. 2004, 47(5), 657-679 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://journals.aom.org/doi/10.5465/20159610>
- [76] LURIE, S., O. SADAN, G. ORON, A. FUX, M. BOAZ, T. EZRI, A. GOLAN a J. BAR. Reduced Pseudocholinesterase Activity in Patients With HELLP Syndrome. *Reproductive Sciences* [online]. 2016, 14(2), 192-196 [cit. 2018-05-29]. DOI: 10.1177/1933719107299871. ISSN 1933-7191. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1933719107299871>
- [77] SIBAI, B. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets). *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 1990, 162(2), 311-316 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000293789090376I>
- [78] RANDELL, E., M. MATHEWS, H. ZHANG, J. SERAJ a G. SUN. Relationship between serum butyrylcholinesterase and the metabolic syndrome. *Clinical Biochemistry* [online]. 2005, 38(9), 799-805 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.04.008. ISSN 00099120. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912005001207>

- [79] CALDERON-MARGALIT, R. Butyrylcholinesterase Activity, Cardiovascular Risk Factors, and Mortality in Middle-Aged and Elderly Men and Women in Jerusalem. *Clinical Chemistry* [online]. 2006, 52(5), 845-852 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1373/clinchem.2005.059857. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2005.059857>
- [80] KEAN, K., K. KUTTY, S. HUANG a R. JAIN. A study of pseudocholinesterase induction in experimental obesity. *Journal of the American College of Nutrition* [online]. 1986, 5(3), 253-261 [cit. 2018-05-31]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3734272>
- [81] RUSTEMEIJER, C., J. SCHOUTEN, H. VOERMAN, A. BEYNEN, A. DONKER a R. HEINE. Is pseudocholinesterase activity related to markers of triacylglycerol synthesis in Type II diabetes mellitus?. *Clinical Science* [online]. 2001, 101(1), 29-35 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1042/CS20000280. ISSN 01435221. Dostupné z: <http://cs.portlandpress.com/cs/101/cs1010029.htm>
- [82] IWASAKI, T., M. YONEDA, A. NAKAJIMA a Y. TERAUCHI. Serum Butyrylcholinesterase is Strongly Associated with Adiposity, the Serum Lipid Profile and Insulin Resistance. *Internal Medicine* [online]. 2007, 46(19), 1633-1639 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.2169/internalmedicine.46.0049. ISSN 0918-2918. Dostupné z: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/internalmedicine/46.0049?from=CrossRef>
- [83] CUCUIANU, M., T. NISTOR, N. HÂNCU, P. ORBAI, C. MUSCUREL a I. STOIAN. Serum cholinesterase activity correlates with serum insulin, C-peptide and free fatty acids levels in patients with type 2 diabetes. *Romanian journal of internal medicine* [online]. 2002, 40(1-4), 43-51 [cit. 2018-05-31]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15526539>
- [84] NOMURA, F., K. OHNISHI, H. KOEN a kol. Serum Cholinesterase in Patients with Fatty Liver. *Journal of Clinical Gastroenterology* [online]. 1986, 8(5), 599-602 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1097/00004836-198610000-00025. ISSN 0192-0790. Dostupné z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00004836-198610000-00025>
- [85] CUCUIANU, M., A. OPINCARU a D. TAPALAGA. Similar behaviour of lecithin: cholesterol acyltransferase and pseudocholinesterase in liver disease and hyperlipoproteinemia. *Clinica Chimica Acta* [online]. 1978, 85(1), 73-79 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1016/0009-8981(78)90103-1. ISSN 00098981. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0009898178901031>
- [86] VALLE, A., Z. RADIĆ, B. RANA, J. WHITFIELD, D. O'CONNOR, N. MARTIN a P. TAYLOR. The cholinesterases: Analysis by pharmacogenomics in man. *Chemico-*



- Biological Interactions* [online]. 2008, 175(1-3), 343-345 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1016/j.cbi.2008.04.042. ISSN 00092797. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279708002524>
- [87] VALLE, A. Butyrylcholinesterase. *Clinical Chemistry* [online]. 2006, 52(6), 1014-1020 [cit. 2018-05-31]. DOI: 10.1373/clinchem.2005.065052. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2005.065052>
- [88] SHAW, J., A. VAUGHAN, A. DENT, P. O'HARE, F. GOH, R. BOWMAN, K. FONG a I. YANG. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Journal of thoracic disease* [online]. 2014, 6(11), 1532-1547 [cit. 2018-06-06]. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.11.33. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25478195>
- [89] GILLISSEN, A. a W. SEEGER. Chronisch obstruktive Lungenerkrankung - Therapie. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* [online]. 2002, 127(10), 510-513 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2002-20930>
- [90] BRIMIJOIN, S. a Y. GAO. Cocaine hydrolase gene therapy for cocaine abuse. *Future Medicinal Chemistry* [online]. 2012, 4(2), 151-162 [cit. 2018-06-19]. Dostupné z: <http://www.future-science.com/doi/10.4155/fmc.11.183>
- [91] MURTHY, V. a S. BRIMIJOIN. Cocaine and Butyrylcholinesterase Gene Therapy. *The Neuroscience of Cocaine* [online]. Elsevier, 2017, s. 673-678 [cit. 2018-06-18]. DOI: 10.1016/B978-0-12-803750-8.00068-3. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128037508000683>