APNÉE A LA SUCCINYLDICHOLINE: ETUDE D'UNE POPULATION CANADIENNE-FRANÇAISE*

B. HAZEL, M.D., D. MONIER, M.D., L. TREMPÉ,
M. BEAUCHEMIN, M.D., ET Y. RONDEAU, M.D.†

LES TECHNIQUES ENZYMATIQUES à cause de leur précision et de leur spécificité ont permis et permettent encore à la médecine de poser le diagnostic de certaines entités pathologiques résultant d'anomalies de la structure parfois d'une seule protéine. Les exemples de cette possibilité diagnostique sont de plus en plus nombreux pour ne citer que les hémoglobinopathies, les anémies hémolytiques par déficiences d'un système enzymatique.

Dès les premières années d'emploi de la succinylcholine, Bourne, Collier, Somers (1952),¹ et Evans, Gray, Lehmann, Silk (1952)² se rendirent compte que certains individus répondaient de façon anormale par une apnée prolongée, à l'injection d'une dose normale de ce médicament. Liddell et Forbat, en 1953, furent les premiers à suggérer un mode génétique de transmission³ ce qui fut confirmé par Lehmann et Ryan dès 1956, qui étudièrent deux familles et constatèrent que deux des cinq frères dans l'une et que quatre des six frères dans l'autre présentaient des taux de pseudocholinestérases fortement inférieurs à la normale.⁴

La succinylcholine comme tous les esters de la choline est hydrolysée dans l'organisme par un système enzymatique: "les cholinestérases." La mise au point de techniques enzymatiques a justement permis de constater qu'il s'agissait d'un assemblage hétérogène de deux systèmes d'estérases différents quant à leur localisation tissulaire, le substrat qu'elles hydrolysent et possiblement le rôle physiologique qu'elles ont à remplir dans l'organisme⁴ (Tableau I). Il est maintenant bien établi que ce sont les cholinestérases sériques aussi connues sous l'appellation "pseudocholinestérases" qui sont responsables de l'hydrolyse de la succinylcholine.

En 1955, Kalow et collaborateurs^{5,6} mettaient au point une technique de mesure de la pseudocholinestérase qui fournissait en même temps des renseignements sur la structure moléculaire de l'enzyme. Etudiant les sérums de patients ayant présenté une apnée prolongée secondaire à l'injection de succinylcholine ainsi que ceux des membres de leur famille, ils vérifièrent l'hypothèse de Lehmann quant à une transmission génétique de l'anomalie pseudocholinestérase.

*Ce travail fut accompli grâce à la subvention MA 3690 du Conseil des recherches médicales du Canada, ainsi qu'à la subvention d'établissement du Ministère de la Santé, Conseil de la recherche médicale du Québec. Les demandes de tiré-à-part doivent être adressées au docteur Hazel, Hôpital Maisonneuve, 5415, boulevard de l'Assomption, Montréal 410, P.Q.

†Dr Hazel est Chargé du laboratoire d'enzymologie, département des laboratoires cliniques, et assistant-professeur de clinique, département de médecine, Hôpital Maisonneuve. Dr Monier est résident en médecine en stage au laboratoire. M. Trempe est étudiant en médecine de troisième année, Dr Beauchemin et Dr Rondeau sont du département d'anesthésie, Hôpital Maisonneuve.

TABLEAU I
PROPRIÉTÉS DES CHOLINESTÉRASES VRAIE ET SÉRIQUE

Propriétés	Cholinestérase vraie	Cholinestérase sérique
Substrats	quelques esters de la choline	un plus grand nombre d'esters de la choline, autres esters dont les dérivés de l'acide benzoïque
Substrat optimum	acétylcholine	esters de la choline et d'acides aliphatiques à chaîne plus longue; ex: butyrylcholine
Substrat spécifique	acétyl β -méthyl choline	benzoylcholine
Distribution chez l'homme	tissu musculaire et nerveux; globules rouges	foie; peau; cœur, pancréas, tube digestif - substance blanche
Fonction	destruction de l'acétylcholine aux jonctions myo-neurales	inconnue

Adapté de Lehmann et Liddell, *Prog. Med. Genet.* 3: 75 (1964).

sique.^{7,8} Les techniques d'études de la structure moléculaire furent encore améliorées par l'emploi d'inhibiteurs comme le fluorure de sodium^{9,10} et tout récemment le chlorure de sodium.¹¹

L'emploi de la succinylcholine par des anesthésistes avertis de cette pathologie, fait qu'un nombre de plus en plus grand de cas sont dépistés soit cliniquement lorsque l'intervention est de courte durée, soit par l'emploi d'appareils de stimulation électrique au cours d'interventions prolongées. Il devient alors relativement facile de confirmer le diagnostic par l'étude biochimique des pseudo-cholinestérases sériques et le malade peut recevoir son congé sans délai inutile et l'étude des autres membres de sa famille est alors commencée dans le plus bref délai possible. D'autre part, dans bien des endroits de la province de Québec, il y a eu croissance de la population aux dépens d'un petit nombre de familles et ceci a conduit à une explosion d'anomalies génétiques comme on a pu le démontrer pour la maladie de Steinert, la tyrosinémie, la dystrophie oculopharyngienne, pour n'en citer que quelques-unes et nous avons des raisons de croire que ceci va se vérifier pour l'anomalie pseudocholinestérasique.

C'est dans cette optique que le laboratoire d'enzymologie de l'Hôpital Maisonneuve a mis au point cette technique enzymatique et a entrepris l'étude des cholinestérases sériques des patients ayant présenté une apnée prolongée durant l'année 1968 en comparaison d'une population normale.

LABORATOIRE

La méthode utilisée aux cours de nos déterminations est celle de Kalow:^{5,6,7} méthode optique de spectrophotométrie en ultra-violet, utilisant la benzoylcholine comme substrat à cause de sa grande vitesse d'hydrolyse, légèrement modifiée dans le but de l'adapter à un spectrophotomètre Unicam sp-800 à changement automatique de cellules, programmation répétée. La longueur d'onde employée fut de 240 nm de préférence à 235 nm, ce qui diminue sensiblement l'absorption du faisceau lumineux par le sérum étudié.⁵ Tous les enregistrements furent faits à une température constante de $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ en reliant le chariot mobile à un bain à température constante Héthotherme.

Nous avons utilisé durant nos essais le tampon phosphate de Sorensen M/15, pH 7.4. La benzoylcholine (Sigma) fut préparée dans ce tampon à une concentration finale de 5×10^{-5} M. La dibucaine et le fluorure de sodium, obtenus commercialement, furent employés à une concentration finale respectivement de 1×10^{-5} M et 5×10^{-5} M. L'estérase est fournie par le sérum humain dilué 1/200 à 1/50 dans le tampon phosphate.

Le pourcentage d'inhibition de la benzoylcholine par la dibucaine est couramment appelé le *dibucaine number*, ou DN; celui obtenu par le fluorure de sodium le *fluoride number*, ou FN; celui obtenu en présence de chlorure de sodium le *chloride number*, ou CN; chaque unité correspond à l'hydrolyse de 1 micromole de benzoylcholine/millilitre de sérum/heure.

Pour chaque valeur anormale, les déterminations ont été reprises trois fois. Les valeurs inscrites représentent la moyenne $\pm$ erreur-type de chaque groupe étudié.

RÉSULTATS

Le Tableau II résume les données cliniques et de laboratoire de cinq patients ayant présenté une apnée prolongée à la suite de l'injection d'une quantité de 30 à 60 milligrammes de succinylcholine. L'âge de nos malades varie de 8 à 68 ans et les interventions chirurgicales pour lesquelles ils ont reçu de la succinylcholine sont relativement bénignes (une amygdalectomie, une extraction dentaire, une cholécystectomie, etc). Quant aux périodes d'apnée, elles vont de 40 à 300 minutes en comparaison des 2-4 normalement rencontrées lors de l'utilisation de cette drogue.

Du point de vue laboratoire, tous ces malades présentent des caractéristiques communes: leurs activités pseudocholinestérasiques sériques sont toutes fortement inférieures aux valeurs normales et la structure de leur molécule de pseudocholinestérase est nettement anormale comme en témoignent leur *dibucaine number* et leur *fluoride number*.

La population canadienne-française n'ayant pas été étudiée, nous avons jugé à propos d'obtenir nos propres valeurs de base afin de mieux séparer les hétérozygotes des homozygotes normaux et anormaux. Une courbe de distribution des valeurs de DN obtenues chez 288 personnes étudiées (Fig. 1) montre que nos valeurs varient de 74 à 91, avec la valeur 75 comme notre limite inférieure puisqu'elle correspond à 2 écart-type.

Une étude similaire du FN chez 383 personnes (Fig. 2) démontre que les valeurs obtenues varient de 54 à 74 mais avec une démarcation inférieure assez tranchée ce qui facilite grandement le partage entre les normaux et les intermédiaires. Ici notre moyenne étant de 59.6 ± 2.6 , nous acceptons 54 comme notre ligne de démarcation avec les intermédiaires.

Sur la Tableau III sont groupées les valeurs obtenues chez 375 individus étudiés au hasard alors qu'ils se sont présentés aux cliniques externes ainsi que les données de 35 parents et de nos cinq cas ayant présenté une apnée prolongée à la succinylcholine. On note d'abord que dans la population canadienne-française de notre milieu hospitalier, les homozygotes normaux (UU) sont en proportion de 96 pour cent, les hétérozygotes (UA) de 2.4 pour cent, ce qui est

TABLEAU II
APNÉE PROLONGÉE SECONDAIRE À L'INJECTION DE SUCCINYLDICHOLINE

	Intervention	Anectine (mg)	Apnée (min.)	Activité totale*	DN†	FN‡
1. A.M. (52 ans)	extraction dentaire	60	60-90	43.8	38.4	23.0
2. L.L. (8 ans)	amygdaléctomie	20	40	47.2	15.7	36.8
3. S.P. (67 ans)	épiploplastie	60	90-120	23.0	5.0	—
S.P. (68 ans)	cystoscopie, tentative d'extraction	60	300	—	—	—
4. M.L. (10 ans)	amygdaléctomie	?	240	44.9	31.2	37.5
5. G.L. (20 ans)	cholécystectomie, appendicectomie	?	±240	22.4	25.0	25.0
Normaux (53)		20-60	2-4	108.17 ± 25.98§	82.43 ± 3.05	59.0 ± 2.56

*Micromoles de benzoylcholine hydrolysées/ml/heure.

†Pourcentage d'inhibition par la dibucaine.

‡Pourcentage d'inhibition par le NaF.

§Moyenne ± 1 erreur-type.

FIGURE 1. Courbe de distribution du pourcentage d'inhibition obtenu en présence de dibucaine chez 373 personnes.

FIGURE 2. Courbe de distribution des valeurs du *fluoride number* (FN) chez 288 individus.

TABLEAU III
DISTRIBUTION DANS UNE POPULATION CANADIENNE-FRANÇAISE

	Nb	UU	UF	UA	US	AS	AA
Population au hasard	375	360	6	9	—	—	—
(%)	(100)	(96)	(1.6)	(2.4)			
Familles particulières	40	13	1	16	2	5	3
(%)	(100)	(32.5)	(2.5)	(40)	(5.0)	(12.5)	(7.5)
Littérature: incidence		96%		3%	1/150	1/8000	1/3000

identique aux proportions de 96 et 3 pour cent rapportées pour les autres populations étudiées. Par contre à l'intérieur des familles étudiées, on note que seulement 13/40 (22.5 pour cent) sont de configuration moléculaire UU, et 16/40 (40 pour cent) sont UA. Le hasard fit en sorte que nous dépistions 5 AS forme extrêmement rare (1/8000). Selon les normes établies, il en revient à dire que 8/40 ou 20 pour cent de ces personnes vont sûrement présenter une apnée prolongée s'ils reçoivent de la succinylcholine et que 16 autres sont aussi susceptibles de présenter cette complication.

La Figure 3 illustre comment il est possible en connaissant les pourcentages d'inhibition par le fluorure de sodium et la dibucaine de séparer les individus en homozygotes normaux (à peu près jamais sensibles à la succinylcholine), hétérozygotes ou intermédiaires (parfois sensibles) et finalement en homozygotes

FIGURE 3. Classification des individus par rang du rapport entre le DN et le FN.

anormaux (toujours répondant au suxamethonium par une apnée prolongée). D'autre part, cette étude enzymatique permet de déceler et les porteurs et les individus sensibles avant même qu'ils entrent en contact avec la succinylcholine.

Le Tableau IV illustre les différences existant entre les différents phénotypes. Il y a d'abord diminution modérée d'activité totale chez les intermédiaires de type UF (68.8 micromoles/hre/ml de sérum) et chez les UA (79.2); et diminution très importante chez les AS (38.0) et chez les AA (38.7). Quant aux différentes valeurs obtenues lors de l'inhibition par la dibucaine, le fluorure et le chlorure de sodium, on voit qu'elles sont suffisamment tranchées pour permettre une classification adéquate.

TABLEAU IV
COMPARAISON DES VALEURS DES DIFFERENTS PHENOTYPES

	Nb	CN	FN	DN	BCH
Normaux	53	14.65 ± 4.07	59.0 ± 2.56	82.43 ± 3.05	108.17 ± 25.98
UF	7	—	49.9 ± 3.2	79.8 ± 5.1	68.8 ± 39.7
UA	25	22.7 ± 4.2	45.9 ± 2.7	68.7 ± 3.7	79.2 ± 32.4
AS	5	41.2 ± 3.9	26.5 ± 4.6	36.0 ± 3.2	38.0 ± 11.7
AA	4	58.7 ± 2.62	25.7 ± 7.4	25.1 ± 9.59	38.7 ± 6.05

DISCUSSION

Les données présentées montrent que sur 375 personnes étudiées au hasard alors qu'elles se présentaient aux cliniques externes, 15 d'entre elles (4.0 pour cent) étaient hétérozygotes quant à la structure de leur molécule de pseudochoolinestérase, ce chiffre est identique à la valeur de 3.6 pour cent retrouvée par Kalow^{1,2} pour une autre population canadienne, de même qu'aux 3.8, 3.6, 3.4 pour cent rapportés par Kattamis pour des populations anglaise, grecque et portugaise.^{1,3}

Whittaker¹¹ a suggéré, il y a quelques mois, que l'inhibition par le chlorure de sodium pouvait faire ressortir certaines anomalies de structure chez des individus dont le DN et le FN étaient normaux mais qui avaient quand même présenté une apnée prolongée à la suite de l'injection de succinylcholine. Nous avons appliqué cette technique à plusieurs des personnes étudiées surtout celles dont la structure se révélait anormale par la dibucaine ou le fluorure. Nous avons eu la surprise de trouver un CN de 41.2 ± 3.9 pour les phénotypes AS et de 58.7 ± 2.62 pour les homozygotes AA.

L'on explique actuellement l'allèle s soit par une absence d'allèle soit par une allèle responsable de la synthèse d'une protéine inactive. Le fait de retrouver chez nos cas étudiés un *chloride number* différent pour les AA et les AS ne semble pas en faveur de la théorie d'une absence d'allèle car la seule protéine synthétisée, à ce moment, serait de structure A dans les deux phénotypes et normalement les valeurs des DN, FN, CN devraient toutes être identiques. La rareté de ces anomalies fait que nous n'avons actuellement qu'une petite série et cette différence pourrait bien être un artéfact. Nous sommes actuellement à rechercher les membres des différentes familles et espérons d'ici quelques mois avoir un échantillonnage adéquat mais permettant de confirmer cette différence.

RÉSUMÉ

Cinq patients ayant présenté une apnée prolongée secondairement à l'injection de succinylcholine, et quelques membres de leurs familles ont été étudiés du point de vue pseudocholinestérases sériques en comparaison d'un échantillonnage de la population canadienne-française. Cette population est en tout point identique aux autres populations déjà étudiées. En utilisant la technique récemment décrite par Whittaker, de l'inhibition par le chlorure de sodium, nous avons retrouvé des valeurs différentes pour les individus de phénotype AS et AA, ce qui est interprété comme infirmant la théorie de l'absence d'une allèle pour expliquer le S malgré le nombre restreint de nos observations.

ENZYMATIC TECHNIQUES, being very precise and specific, are useful to the clinician in the diagnosis of new diseases that are due to the structural abnormality of a single protein. Haemoglobinopathies and haemolytic anaemias are pertinent examples of such disorders. The ability of normal doses of the short-acting muscle relaxant succinylcholine to induce prolonged apnoea was recognized in the first few years of its use by Bourne, Collier, and Somers (1952)¹ and Evans, Gray, Lehmann, and Silk.² Forbat and Lehmann were the first to suggest that this abnormality could be genetically determined,³ and in 1956 Lehmann and Ryan⁴ in their study of two families were able to demonstrate low pseudocholinesterase levels in six of these individuals, thus confirming the genetic mode of transmission.

Succinylcholine, like all other choline esters, is hydrolysed by an enzymatic system, the "cholinesterases." The development of enzymatic techniques has led to a better knowledge of this system, which is an heterogenous assembly of two esterase families completely different in their tissue localization, in the substrate they hydrolyse, and in the physiological role they have to fulfil in the human body (Table I). It is now well established that serum cholinesterases, also known as pseudocholinesterases, are responsible for the hydrolysis of succinylcholine.

TABLE I
COMPARISON OF THE PROPERTIES OF TRUE CHOLINESTERASE AND PSEUDOCOLINESTERASE

Property	True cholinesterase	Pseudocholinesterase
Substrate range	relatively small number of cholinesters	large number of cholinesters and other esters such as benzoic acid derivatives
Optimum substrate	acetylcholine	longer chain, aliphatic acid esters of choline, e.g., butyrylcholine
Specific substrate	acetyl β -methylcholine	benzoylcholine
Distribution in man	nerve and muscle tissue; red cells	liver, skin, white matter of brain, heart and pancreas; serum
Function	destruction of the neuromuscular transmitter, acetylcholine	not known; may protect true enzyme against inhibitory cholinesters

From Lehmann et Liddell. *Prog. Med. Genet.* 3: 75 (1964).

In 1955, Kalow, *et al.*^{5,6} described the first technique that clarified the molecular structure of this specific enzyme. Studying the serum of patients who suffered from prolonged apnoea after administration of succinylcholine, they confirmed Lehmann's findings^{7,8} by demonstrating a definite structural abnormality in their pseudocholinesterase molecule. The integrity of molecular structure can also be tested by the addition of other inhibitors such as sodium fluoride^{9,10} and sodium chloride.¹¹

Since succinylcholine is widely used now, it is not surprising that cases of prolonged apnoea are more frequently encountered in our hospitals. Also, one should bear in mind that in some regions of the province of Quebec many families were isolated for long periods and intermarriage was common. This fact is responsible for the large number of genetic abnormalities such as Steinert's disease, tyrosinaemia, and oculopharyngeal dystrophy, which have been demonstrated in some areas of the province.

For these reasons, in 1968 the Enzymology Laboratory of Maisonneuve Hospital decided to set up a technique for studying the serum of patients suffering from prolonged apnoea.

METHODS

The serum pseudocholinesterase activity and the molecular structure were measured according to the technique of Kalow *et al.*,⁵⁻⁷ using benzoylcholine as substrate, slightly modified to be recorded on a Unicam spectrophotometer model sp-800 equipped with an automatic cell changer. Readings were taken at 240 nm instead of 235 to minimize serum interferences.⁵ A constant temperature of $25 \pm 0.2^\circ \text{C}$ was maintained by coupling the spectrophotometer to an Hetho-therm water bath.

In our assays we utilized the Sorensen phosphate buffer M/15, pH 7.4. The benzoylcholine (Sigma) was prepared in the phosphate buffer at a final concentration of $5 \times 10^{-5}\text{M}$. Dibucaine and sodium fluoride, commercially purchased, were added in a final concentration of $1 \times 10^{-5}\text{M}$ and $5 \times 10^{-5}\text{M}$ respectively. The human serum diluted 1/200 to 1/50 in the phosphate buffer provided the esterase for our studies.

The percentage of inhibition of benzoylcholine in the presence of dibucaine is called the dibucaine number, or DN; percentage inhibition with sodium fluoride is called the fluoride number or FN; and with sodium chloride, the chloride number or CN. Enzyme activity is expressed in terms of micromoles of benzoylcholine hydrolysed/ml of serum/hour.

Each abnormal value was verified on three different occasions. Mean $\pm$ standard errors were determined for each group.

RESULTS

Table II summarizes the clinical and laboratory data of five persons who responded to the injection of 30-60 mg of succinylcholine by periods of apnoea of 40-300 minutes as compared to 2-4 minutes in normal individuals. Their ages vary from 8 to 68 years. It can be seen that this complication is diagnosed

TABLE II
PROLONGED APNOEA CAUSED BY SUCCINYLBCHOLINE

	Intervention	Anectine (mg)	Apnoea (min.)	Total activity*	DN†	FN‡
1. A.M. (52 yrs)	tooth extraction	60	60-90	43.8	38.4	23.0
2. L.L. (8 yrs)	tonsillectomy	20	40	47.2	15.7	36.8
3. S.P. (67 yrs)	epiplooplasty	60	90-120	23.0	5.0	—
S.P. (68 yrs)	cystoscopy	60	300	—	—	—
4. M.L. (10 yrs)	tonsillectomy	?	240	44.9	31.2	37.5
5. G.L. (20 yrs)	cholecystectomy, appendicectomy	?	±240	22.4	25.0	25.0
Normals (53)		20-60	2-4	108.17 ± 25.98§	82.43 ± 3.05	59.0 ± 2.56

*Micromoles of benzoylcholine hydrolysed/ml/hour.

†Percentage of inhibition by dibucaine.

‡Percentage of inhibition by sodium fluoride.

§Mean ± standard error.

more easily during minor surgery. It should be stated that electrical stimulation will provide the anaesthetist with a useful tool in diagnosing this chemical abnormality.

From a laboratory standpoint, all these patients have certain common findings: their pseudocholinesterase activities are well below the normal range, and the molecular structure of their protein is definitely abnormal as proven by their dibucaine and fluoride numbers.

Since the French-Canadian population has never been studied, we decided to obtain our own baseline in order to separate the heterozygotes from the normal and abnormal homozygotes. A distribution curve of the DN of 383 individuals shows values ranging from 74 to 91, with a normal lower limit of 75 corresponding to two standard deviations of the mean.

In a similar study of the FN values (fluoride number) in 288 persons, we obtained results varying from 54 to 74, with a mean of 59.6 ± 2.6 , setting the acceptable lower limit at 54.

Data in Table III summarize the data of 375 French-Canadian persons randomly chosen when they came to the out-patient clinic, as well as five patients with prolonged apnoea and 35 of their relatives. The first consideration is that in an urban French-Canadian population the normal homozygotes (UU) are in a proportion of 96 per cent, and the heterozygotes (UA) 2.4 per cent, values similar to those already published (96 and 3 per cent) for other populations. But within chosen families, these data show that only 13/40 persons (22.5 per cent) have a normal molecular structure UU, while 16/40 (40 per cent) are UA. Five very rare cases of AS configuration (1/8000) were studied among this small number of individuals. These values mean that 8/40 or 20 per cent of these persons, will suffer from prolonged apnoea when injected with a normal dose of succinylcholine, and that 16 others are susceptible to this complication.

TABLE III
DISTRIBUTION OF THE VARIOUS PHENOTYPES IN A FRENCH-CANADIAN POPULATION

	N	UU	UF	UA	US	AS	AA
Urban population	375	360	6	9	—	—	—
(%)	(100)	(96)	(1.6)	(2.4)			
Affected families	40	13	1	16	2	5	3
(%)	(100)	(32.5)	(2.5)	(40)	(5.0)	(12.5)	(7.5)
Literature (incidence)		96%		3%	1/150	1/8000	1/3000

Figure 3 illustrates how it is possible, when determining the DN and FN values, to classify these individuals as normal homozygotes (more or less never susceptible to succinylcholine), as heterozygotes or intermediate (sometimes susceptible), and as abnormal homozygotes (prolonged apnoea always present after succinylcholine injection). By such a study, abnormal persons with structural abnormalities were detected long before they came in contact with this specific drug and were warned of their susceptibility.

The biochemical data of the different phenotypes are collected in Table IV. The total pseudocholinesterase activity is slightly reduced in the intermediate,

TABLE IV
A COMPARISON OF THE DIBUCAINE, FLUORIDE, AND CHLORIDE NUMBERS IN THE VARIOUS PHENOTYPES

	N	CN	FN	DN	BCH
Normals	53	14.65±4.07	59.0±2.56	82.43±3.05	108.17±25.93
UF	7	—	49.9±3.2	79.8 ±5.1	68.8 ±39.7
UA	25	22.7 ±4.2	45.9±2.7	68.7 ±3.7	79.2 ±32.4
AS	5	41.2 ±3.9	26.5±4.6	36.0 ±3.2	38.0 ±11.7
AA	4	58.7 ±2.62	25.7±7.4	25.1 ±9.59	38.7 ±6.05

UF (68.8 micromoles/hour/ml of serum), and in the UA (79.2); the diminution is more marked in the AS (38.0) and the AA (38.7). A percentage of inhibition in the presence of dibucaine, sodium fluoride, and sodium chloride are sufficiently different to permit an adequate classification of each phenotype.

DISCUSSION

The data collected in the present study (375 individuals) indicate that 15 of them (4 per cent) are heterozygotes as far as the molecular structure of their pseudocholinesterase molecule is concerned, as compared to 3.6 per cent published by Kalow¹² for another Canadian population and to 3.8 and 3.6 per cent reported by Kattamis for English, Greek, and Portuguese populations.¹³

Whittaker¹¹ recently suggested that sodium chloride inhibition was a useful tool to demonstrate abnormalities of the molecular structure in individuals with normal DN and FN values but who responded to the injection of succinylcholine by a prolonged period of apnoea. This new technique was utilized in all the persons studied, and we were surprised to find mean values of 41.2 ± 3.9 in the phenotypes AS and 58.7 ± 2.62 for the homozygotes AA.

According to some authors the allele s is not responsible for any protein synthesis, while others propose that it causes the synthesis of an inactive protein. The fact that AS and AA phenotypes have different chloride numbers is interpreted against the absence of protein synthesis, since in that case one would expect the only protein synthesized at that time to be of A structure in both groups, and normally the DN, FN, and CN should be identical. It cannot be excluded that this difference is an artefact due to the small number of persons examined in our study; we hope to gather enough families to complete the present observation.

SUMMARY

The present observation correlates the data of five cases of apnoea following the injection of succinylcholine, as well as data on some of the patients' available siblings and a large sampling of a French-Canadian population. The number of heterozygotes in that population is 15/375 or 4.0 per cent, which is comparable to data published by other investigators.

By using the newest technique of benzoylcholine inhibition by sodium chloride proposed by Whittaker, we find mean values of 58.7 among the AA phenotypes

and 41.2 among the AS. These values are interpreted against the theory explaining the s by an allelic absence. However since the number of heterozygotes available to us is rather small, we may be dealing with an artefact.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOURNE, J. G.; COLLIER, H. O. J.; & SOMERS, G. F. Succinylcholine: Muscle-relaxant of Short Duration. *Lancet*. 1: 1225 (1952).
2. EVANS, F. T.; GRAY, P. W. S.; LEHMANN, H.; & SILK, E. Sensitivity to Succinylcholine in Relation to Serum Cholinesterase. *Lancet*. 1: 1229 (1952).
3. FORBAT, A.; LEHMANN, H.; & SILK, E. Prolonged Apnoea Following Injection of Succinylcholine. *Lancet*. 2: 1067 (1953).
4. LEHMANN, H. & LIDDELL, J. Genetical Variants of Human Serum Pseudocholinesterase. *Prog. Med. Genet.* 3: 75 (1964).
5. KALOW, W. & LINDSAY, H. A. A Comparison of Optical and Manometric Methods for the Assay of Human Serum Cholinesterase. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33: 568 (1955).
6. KALOW, W. & GENEST, K. A Method for the Detection of Atypical Forms of Human Serum Cholinesterase: Determination of Dibucaine Numbers. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 35: 339 (1957).
7. KALOW, W.; GENEST, K.; & STARON, N. Qualitative Variations of Serum Cholinesterase Activity in Man as Defined by Dibucaine Numbers. *Fed. Proc.* 15: 444 (1956).
8. KALOW, W. & STARON, N. On Distribution and Inheritance of Atypical Forms of Human Serum Cholinesterase as Indicated by Dibucaine Numbers. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 35: 1306 (1957).
9. HARRIS, H. & WHITTAKER, M. Differential Inhibition of Human Serum Cholinesterase with Fluoride: Recognition of Two New Phenotypes. *Nature*. 191: 496 (1961).
10. HARRIS, H. & WHITTAKER, M. The Serum Cholinesterase Variants: A Study of Twenty-two Families Selected via the Intermediate Phenotype. *Ann. Hum. Genet. Lond.* 26: 59 (1962).
11. WHITTAKER, M. An additional Pseudocholinesterase Phenotype Occurring in Suxamethonium Apnoea. *Brit. J. Anaesth.* 40: 579 (1968).
12. KALOW, W. & GUNN, D. R. Some Statistical Data on Atypical Cholinesterase of Human Serum. *Ann. Hum. Genet.* 23: 239 (1958).
13. KATTAMIS, C.; ZANNOS-MARIOLEA, L.; FRANCO, A. P.; LIDDELL, S.; LEHMANN, H.; & DAVIES, D. Frequency of Atypical Pseudocholinesterase in British and Mediterranean Populations. *Nature*. 196: 549 (1962).