جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان
سال نهم، شمارهٔ ۲ (مسلسل ۳۴) زمستان ۱۳۸۳

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کولین استراز در مغز ماهی کپور در انواع دریائی و پرورشی به عنوان شاخصی از میزان سلامتی این ماهی‌ها

دکتر محمد کرمی[1*]، دکتر محمدعلی ابراهیم‌زاده[2]، یاسر مسرور[3]

چکیده

- **مقدمه:** استفاده از سموم ارگانوفسفره بعنوان حشره‌کش یا علف کش از دیر باز در استانهایی مانند مازندران بعلت وفور مزارع کشاورزی رواج داشته است. این سموم در چرخه طبیعی حیات وارد می‌شوند و در نهایت در بدن حیواناتی مانند ماهی تجمع یافته و از این طریق به بدن انسان می‌رسند، این فرایند در پساب و فاضلابهای شیمیائی نیز به وقوع می‌پیوندد. این کار تحقیقی به منظور بررسی میزان جذب این سموم در ماهی کپور انجام شده است.
- **مواد و روشها:** نمونه‌های ماهی کپور از سه منبع دریائی، پرورشی با آب چاه و پرورشی با آب رودخانه هر یک به تعداد ۸ نمونه، در آبان و آذر۸۲ از سه منطقه در اطراف شهر ساری تهیه شدند. از روش رنگ سنجی المن برای سنجش فعالیت آنزیم کولین استراز استفاده شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و متعاقب آن آزمون Student Newman Kelus مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. فعالیت آنزیم بصورت میکرو مول استیل تیوکولین یداید هیدرولیز شده در دقیقه در هرگرم مغز ماهی محاسبه شد.
- **یافته‌ها:** با محاسبه میانگین جذب قرائت شده از مغز ماهی‌های دریائی، پرورشی با آب چاه و پرورشی با آب رودخانه، فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز بر اساس فرمول المن به ترتیب ۵/۵۴، ۱/۶۳ و ۰/۴۴ میکرو مول استیل تیوکولین استراز هیدرولیز شده در دقیقه در هر گرم مغز ماهی محاسبه شد. تفاوت بین میزان فعالیت آنزیم در این ماهی‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/001$).
- **نتیجه‌گیری:** میزان آلودگی در ماهی‌های کپور پرورشی مشروب شده از آب رودخانه نسبت به آب چاه بسیار بالاست. به نظر می‌رسد نظارت جدی در خصوص پرورش این ماهی‌ها در مناطقی که در محدوده مزارع کشاورزی هستند، ضروری می‌باشد.
- **واژه‌های کلیدی:** کولین استراز مغزی، روش رنگ سنجی المن، ماهی کپور.

تاریخ وصول مقاله ۸۳/۵/۱۷ ـ تاریخ پذیرش مقاله ۸۴/۶/۲

۱- استادیار سم شناسی، فارماکولوژی، دانشکده داروسازی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، (مؤلف مسؤول)
۲ - استادیار شیمی داروئی، دانشکده داروسازی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳ - دانشجوی داروسازی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره بطور گسترده‌ای بعنوان حشره‌کش یا دافع حشرات مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات در جاندارانی که در معرض تماس با آنها قرار دارند، خطرات و مشکلاتی را ایجاد می‌کنند. مهار برگشت‌ناپذیر آنزیم کولین استراز مکانیسم اصلی سمیت با ارگانوفسفره‌ها بوده که موجب اختلال در عملکرد اعضای متعددی در بدن جانداران می‌گردد که از آن جمله می‌توان به نارسائی تنفسی، هیپو یا هیپرفلکسی، و ایجاد آریتمی اشاره نمود (۲ و ۱). استفاده از سموم حشره‌کش و علف‌کش‌های کشاورزی از دیر باز در استانهایی مانند مازندران بعلت وفور مزارع کشاورزی رواج داشته است. این ترکیبات در آب حل شده و پساب حاصله مورد مصرف آبیاری و یا سمپاشی مزارع دیگر قرار می‌گیرد. بسیاری از این سموم پس از مصرف به طرق مختلف به منابع آبهای سطحی راه پیدا می‌کنند و از این طریق به موجودات آبزی از جمله ماهی‌ها دسترسی پیدا می‌کنند. عمده سموم کشاورزی مصرفی بر آنزیم کولین استراز تأثیر گذاشته و موجب کاهش فعالیت آن می‌شوند (۳). در همین راستا قصد داریم که با اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در مغز ماهی کپور از انواع پرورشی و دریائی، کاهش فعالیت این آنزیم را در آنها با یکدیگر مقایسه کنیم. اندازه‌گیری کولین استراز مغزی در ماهی یک شاخص حساس و قابل قبول از آلودگی رودخانه با سموم حشره‌کش مانند ارگانوفسفره و کارباماته می‌باشد (۵ و ٤). فعالیت آنزیم کولین استراز مغزی ٢٤ ساعت پس از تماس ماهی با سموم، کاهش می‌یابد (٦ و ٥). کاهش این آنزیم بطور اولیه و عمده در مغز رخ می‌دهد (۸ و ۷). دوره ریکاوری این آنزیم در مغز پس از یک تماس کوتاه مدت و زیر حد کشنده با حشره‌کش‌های ارگانو فسفره حدود یک ماه خواهد بود (۹).

سطح فعالیت این آنزیم یک شاخص مهم بیوشیمیائی و یک پارامتر حساس ناشی از تماس با سموم و یا حضور مواد سمی در بدن می‌باشد (۱۰) و به همین دلیل روشهای حساس و اختصاصی متعددی برای تعیین فعالیت آنزیم کولین استراز گزارش شده است. از جمله این روشها الکترومتری، تینتومتری، رادیومتری و رنگ سنجی می‌باشد (۱۱). اما استفاده روتین از آنها بعلت وجود مشکلاتی در تهیه نمونه، زمان طولانی اندازه‌گیری، عدم اختصاصی بودن سوبسترا و ناهمگونی محیط نمونه، امکان‌پذیر نمی‌باشد. روش رنگ‌سنجی المن (۱۳ و۱۲) به طور کلی روش ارجح در ارزیابی فعالیت این آنزیم می‌باشد (١٤). در این پروژه نیز از متد المن استفاده شده است. این روش سریع، ساده و ارزان می‌باشد با این حال از مشکلات انجام این روش در خون، تداخل جذب هموگلوبین با جذب TNB^- (آنیون ۳- کربوکسی-٤- نیترو بنزن تیولات)، معرف رنگی اندازه‌گیری AChE، می‌باشد. برای حل این مشکل از موادی مانند هیامین استفاده می‌شود که جذب معرف رنگی را به طول موج بالاتر انتقال می‌دهد ولی موجب افزایش طول موج جذبی هموگلوبین نمی‌شود (۵). در بررسی فعالیت این آنزیم در مغز، چنین مشکلی وجود ندارد. لذا از نظر سهولت و سرعت انجام سنجش، استفاده از نمونه مغز ماهی مناسب‌تر از خون می‌باشد. کار مشابهی در سال قبل در چهارمین کنگره سم‌شناسی در ترکیه ارائه شد که بیومارکرهای تماس با عوامل آلوده‌کننده در بعضی از انواع ماهی‌ها در دریاچه وان ترکیه اندازه‌گیری شده است (۱۵). در تعدادی از مقالات نیز تأثیر فلزات سنگین بر فعالیت این آنزیم در انواع آبزیان مانند قورباغه و مارماهی گزارش شده است (١٦ و ١٠). اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به شکل invitro در گلبول قرمز انسان نیز قبلاً توسط نویسندگان این مقاله به عنوان شاخص تماس با فلزات سنگین به چاپ رسیده است (۱۷). جذب پوستی سموم

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

علف‌کش و کاهش فعالیت آنزیم کولین استراز در کارگران مزارع برنج شمال کشور نیز بتازگی در آزمایشگاه ما به اثبات رسیده است (۱۸). از آنجا که ردیابی تمامی سموم علف‌کش و حشره‌کش، فلزات سنگین و سایر آلاینده‌های محیطی به تفکیک بسیار دشوار و پر هزینه می‌باشد، هدف از انجام این تحقیق ارائه شاخصی مناسب، سریع و کم هزینه در بررسی سلامت ماهی‌ها به عنوان یک منبع غذائی در زیستگاه آبی می‌باشد. اندازه‌گیری فعالیت کولین استراز مغزی نه تنها برخورد با طیف وسیعی از سموم و آلاینده‌های محیطی را نشان می‌دهد بلکه امکان مقایسه بین سلامت دو گروه از ماهی‌ها را نیز امکان‌پذیر می‌نماید.

مواد و روشها

مواد شیمیائی:

کلیه مواد مصرفی شامل دی سدیم هیدروژن فسفات دو آبه، پتاسیم دی هیدروژن فسفات،اسید دی تیو بیس نیترو بنزوئیک، استیل‌تیوکولین یداید، هیامین ۱۶۲۲ از شرکت فلوکا (سوئیس) خریداری شد. برای قرائت میزان جذب از دستگاه اسپکترو فتومتر Shimadzu UV-mini 1240 استفاده شد. نمونه‌ها نیز به کمک دستگاه Kika Eurostar (آلمان) هموژنیزه و همگن شده‌اند.

واکنشگرها:

بافر فسفات (0.1 mol / L, pH = 7.6)، واکنشگر DTNB (Dithiobis nitrobenzoic acid) و محلول سوبسترا ۶۰ میکرولیتر (محلول استیل تیوکولین یداید) همانند گزارشات قبلی تهیه شد (۱۸ و۱۷).

نمونه‌ها: در این روش تعداد ۸ عدد (۲۰ و۱۹) ماهی کپور از خانواده کپور ماهیان (Cyprinus caprpio) از سه منبع دریا (از سواحل دریای خزر در منطقه فرح‌آباد ساری) پرورشی با آب چاه (از روستای محمدآباد از توابع روستای دودانگه ساری) و پرورشی با آب رودخانه (از روستای قاجار خیل از توابع میاندرود ساری) (در مجموع ۲۴ عدد ماهی) تهیه گردید. این مناطق به ترتیب، منطقه متمرکز در سواحل آزاد ساری برای ماهی‌گیری، منطقه‌ای که فاقد رودخانه بوده و تنها از آب چاه استفاده می‌شود و منطقه‌ای که در محدوده کشاورزی واقع شده و از رودخانه مجاور آن آب زیستگاه پرورش ماهی تأمین می‌شود، می‌باشند. ماهی‌ها بطور تصادفی با محدوده وزنی ۸۰۰-۷۰۰ گرم در ماه‌های آبان و آذر ۸۲ صید و بطور زنده به آزمایشگاه سم‌شناسی و فارماکولوژی دانشکده داروسازی ساری منتقل شد.

روش سنجش فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز:

به ۲/۶ میلی‌لیتر بافر فسفات، ۰/۴ میلی‌لیتر نمونه اضافه شد و جذب نمونه در دستگاه صفر گردید. بعد با اضافه‌کردن ۱۰۰ میکرولیتر واکنشگر DTNB جذب نمونه دوباره در دستگاه صفر شد. در این مرحله ۶۰ میکرولیتر محلول سوبسترا (محلول استیل تیوکولین یداید) اضافه شده و مجموعه نمونه بخوبی به هم زده می‌شود. بعد از گذشت زمانی معادل ۱۰ ثانیه، به فاصله هر ۱۵ ثانیه جذب نهایی نمونه در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده شد (قرائت جذب تا ۷ مرتبه ادامه می‌یابد). آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شده و در نهایت میانگین داده‌ها در بررسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدین ترتیب میزان جذب برای تمامی ۸ نمونه در انواع ماهی‌های دریائی، پرورشی با آب چاه و پرورشی باآب رودخانه انجام شد. سرعت واکنش (تغییر در میزان جذب در واحد زمان بر حسب دقیقه) بر اساس واحد تغییر میزان جذب در دقیقه در مقابل زمان محاسبه شد. با استفاده از سرعت واکنش و به کمک فرمول (فرمول المن) فعالیت آنزیم تعیین گردید: $R = 574 * \Delta A/C$ که در آن R فعالیت آنزیم (سرعت هیدرولیز سوبسترا)، C غلظت اولیه نمونه تهیه شده از بافت مغزی و ΔA سرعت واکنش (تغییر ات میزان جذب در دقیقه)

می‌باشد. با توجه به این که غلظت اولیه ما در روند آزمایش ثابت نگه داشته شده (۲۰ میلی‌گرم بافت مغزی در هر میلی‌لیتر بافر)، لذا رابطه المن به این صورت در می‌آید:

$R = 28.7 * \Delta A$ و واحد R در نهایت به این شکل µM ASCh / hydrolized/ min/g ارائه می‌شود (۲۱).

بخش آماری:

داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و متعاقب آن آزمون Student Newman Kelus مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقادیر (p<۰/۰۵) از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین جذب در ماهیهای کپور دریائی ۰/۱۲±۰/٦٦٣، پرورشی با آب چاه ۰/۰۱٦± ۰/۱۹٦ و پرورشی با آب رودخانه ۰/۰۱۲±۰/۰۵۱ محاسبه گردید. این تفاوتها از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). فعالیت این آنزیم بر اساس فرمول المن به ترتیب ٥/٥٤، ۱/٦۳ و ۰/٤٤ میکرو مول استیل تیو کولین استراز هیدرولیز شده در دقیقه در هر گرم مغز ماهی محاسبه شد. بنابراین فعالیت این آنزیم در مناطق دریائی و پرورشی با آب چاه و پرورشی با آب رودخانه متفاوت بوده به طوری که ماهی دریائی سالم‌ترین ماهی از نظر میزان فعالیت این آنزیم می‌باشد.

بحث

در مطالعه‌ای اثر مهارکنندگی حشره‌کش ارگانوه فسفره دی کلرو وینیل دی متیل فسفات(DDVP) در گونه‌های مختلف از ماهی‌های شیرین مورد مطالعه قرار گرفته و با فعالیت کولین استراز سرمی مقایسه شده است. در این مطالعه نشان داده شده که مهار فعالیت این آنزیم در ماهی، نسبت به پستانداران، توسط سموم ارگانوفسفره حساس‌تر است (۱۹). اثر مهارکنندگی ارگانوفسفره‌ای مانند مالاتیون روی فعالیت کولین استراز مغزی ماهی با افزایش سن کاهش می‌یابد به طوری که با غلظت mg/L 1.2 مالاتیون بعد از ۷۲ ساعت کاهش معنی‌داری مشاهده می‌شود (۲۰). در یک مطالعه که در دو ناحیه از کشور مکزیک که به وفور از سموم آفات نباتی (ارگانو فسفره و کارباماته) بهره می‌جستند، صورت گرفت مشخص گردید که بیومارکر استیل‌کولین استراز به عنوان ارزشمندترین و با صرفه‌ترین و در بسیاری از حالات به عنوان اختصاصی‌ترین شاخص ارزیابی شده است (۲۱). در این مطالعه نیز فعالیت کولین استراز در مغز مورد سنجش قرار گرفته است. این فعالیت به عنوان یک عامل در مونیتورینگ محیط پذیرفته شده است (۲۲). نتایج حاصل از این تحقیق اختلاف زیادی را در میزان فعالیت کولین استراز مغزی در گونه‌های دریائی و پرورشی نشان داد. فعالیت کولین استراز مغزی در ماهی کپور پرورشی با آب رودخانه ۱۲ بار کمتر از نوع دریائی بود. آلودگی آب رودخانه با سموم کشاورزی، پساب صنایع، فاضلابهای خانگی و فلزات سنگین عواملی هستند که همگی توانائی مهار آنزیم کولین استراز را دارا می‌باشند. فعالیت کولین استراز مغزی در ماهی‌های کپور پرورشی با آب چاه بطور تقریبی تنها ۱/۳ بار کمتر از نوع دریائی بود. به نظر می‌رسد میزان آلودگی ناشی از سموم در چاه نسبت به رودخانه بسیار کمتر باشد. با این حال تجمع فلزات سنگین از جمله کادمیوم در آن می‌تواند به عنوان عامل احتمالی کاهش فعالیت این آنزیم در نوع پرورشی چاهی نسبت به دریائی در نظر گرفته شود (۲٤،۲۳). غلظتهایی از فلزات سنگین مانند جیوه و سرب و کلسیم و حتی آهن در محیط invitro به طور عمده روی فعالیت آنزیم کولین استراز یا اتصالات گلیکوپروتئینی اثر منفی دارد (۲۵). یا غلظت بعضی از فلزات سنگین با نفوذپذیری مناسب در

سیستم اعصاب مرکزی، در زمینه‌سازی برای بیماری پارکینسون و سایر اختلالات حرکتی در انسان نقش ایفا می‌کنند (۲۶). توسعه و ادامه مطالعات و بررسی میزان فلزات سنگین از قبیل سرب و کادمیوم در آب چاه و مقایسه آن با آب دریا این فرضیه را اثبات خواهد نمود. این تحقیق همچنین، نشان می‌دهد که انواع ماهی‌های پرورشی با آب چاه نسبت به نوع پرورشی از آب رودخانه از سلامتی بالاتری برخوردار هستند. کاهش معنی‌دار آماری میان فعالیت این آنزیم در ماهی‌های پرورشی با آب رودخانه با نوع دریائی ($p<0/001$) زنگ خطر جدی را برای کنترل و نظارت هر چه بیشتر بر پرورش ماهیها در استخرها به صدا درآورده است.

پیشنهادات

پیشنهاد می‌گردد استخرهای پرورش ماهی بطور ترجیحی از آب چاه مشروب شده یا حداقل از نظر مکانی در موقعیتی احداث شوند که پیش از مشروب شدن مزارع کشاورزی، امکان بهره‌وری از آب رودخانه میسر گردد. به عبارتی استخرهای پرورش ماهی که از آب عبور کرده از مزارع مشروب می‌گردند، به نحو مقتضی اصلاح گردند. امکان بررسی میزان سلامت ماهی‌های پرورشی قبل از توزیع به بازار با این روش امکان‌پذیر است. در صورت تیترکم فعالیت آنزیم بایستی از عرضه آن به بازار جلوگیری نمود. با ادامه کار تحقیقاتی بر روی سنجش فعالیت این آنزیم در سایر جانداران آبزی (واجد و غنی از این آنزیم) نیز شاید بتوان به الگوی مناسب و حساس‌تری نیز رسید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که با حمایتهای مالی خود، انجام این طرح را امکان‌پذیر نموده‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1. Worek F, Mast U, Kiderlen D, Diepold C, et al. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. Clinica Chimica Acta, 1999, 288: 73-90.
2. Sramek J, Cutler N. RBC Cholinesterase inhibition: a useful surrogate marker for cholinesterase inhibitor activity in Alzheimer disease therapy?. Alzheimer Dis. Assoc. Disord, 2000, 14(4): 216-227.
3. Carlton, F, Simpson W. M. Pesticides, the organophosphates and other insecticides In: Haddad, L.M. and Winchester, J.F ed. Clinical management of poioning and drug overdose. 3th ed. Philadelphia: W B. Saunders Company 1998: 836-856.
4. Coppage D L. Organophosphate pesticide: specific level of brain AChE inhibition related to death in sheepshead minnows. Trans Am Fish Soc, 1972, 101(3): 534-536.
5. Coppage DL, Braidech T E. River pollution by anticholine sterase agents. Water Res, 1976, 10(1): 19-24.
6. Solomon SS, Shao L. Invitro inhibition and recovery of brain AChE Tetratopmouth Gudgeon following exposed fenitrothion. Journal of Zhejiang University Science, 2004, 4-17.
7. http://www .Zjupress.Com/journal/2004/4-17.htm
8. Cook GH, James CM. Relationship of malathion and lts metabolites of fish poisoning. Bull Environ Contam Toxicol1976; 16(13): 283-290.
9. http://www.sfu.ca/~msr/papers/bisc/aldicarb

10. Devi M, Fingerman M. Inhibition of AChE activity in the CNS of red swamp crayfish by Mercury, Cadmium and Lead. Bull. Environ. Contam. Toxicol, 1995, 55: 746-750.
11. Omer V, Rottinghaus G. Biomedical determination of AChE activity in biological fluides and tissues. In: Ballantyne, B. Marrs, T.C. ed. Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbamates. Oxfored: Butterworth & Heinemann1992: 15-27.
12. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone R M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol, 1961, 7: 88-95.
13. George PM, Abernethy MH. Improved ellman procedure for erythrocyte cholinesterase. Clin. Chem, 1983, 29(2): 365-368.
14. Wilson BW, Sanborn JR, O'malley MA. Monitoring the pesticide worker. Occup. Med, 1997, 12: 347-63.
15. Ozmen M, Ayas Z, Ekmekci G, Yerli S. Biomarkers of exposure of different fish species to contaminats in Sariyar Dam lake-Turkey, 4th congress of toxicology, Antalya, Turkey,1999, 6-10 Nov.
16. Gill TS, Tewari H, Pande J. Invivo and invitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish Barbus Conchonius Ham. Comp. Biochem. Physiol, 1991, 100C(3): 501-505.
17. Abdollahi M, Biukabadi M, Ebrahimzadeh MA. Invitro inhibition of acetylcholinesterase activity in human red blood cells by cadmium and lead. Acta Medica Iranica, 1998, 36(2): 74-78.
۱۸. ابراهیم‌زاده محمد علی، شکر زاده لموکی محمد و بیوک‌آبادی مهشاد. بررسی تأثیر سموم علف‌کش بر فعالیت کولین استراز اریتروسیت درکارگران مزارع برنج مجله علوم پزشکی شهر کرد (زیر چاپ).
19. Ghuiko GM. Comparative study of acethylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: specific activities and invitro inhibition by DDVP. CBC, 2000, 127: 233-242.
20. Dutta HM, Munshi JSD, Dutta GR, Singh NK, Adhikari S. Age related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity of Heteropneustes fossilis by malathion. Comp. Biochem. Physiol. 1995, 111(2): 331-334.
21. Rodriguez-Fuentes G, Goid-Bouchot G. Environmental monitoring using acetylcholinesrterase inhibition in vitro: Acase study in two mexican lagoons. Marine Environmental Resaerch, 2000, 50: 357-360.
22. Sturm A, Da Silva Da Assis H C, Hansen P D. Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. Marine Environmental Resaerch, 1999, 47: 389-398.
۲۳. دیانتی رمضانعلی و شریعت محمود، بررسی میزان خذف کادمیوم از آب به وسیله توده باکتریائی در فیلتر سیلیسی بیولوژیکی، مجله دانشگاه علوم پژشکی مازندران۱۳۸۲; ٤٠: ٢٦-١٧.
24. Sramek J, Cutler N. RBC Cholinesterase inhibition: a useful surrogate marker for cholinesterase inhibitor activity in Alzheimer disease therapy. Alzheimer Dis. Assoc. Disord,. 2000, 14(4): 216-227.
25. Schmidt GH, Ibrahim MM. Heavy metal content in various body parts: its impact on cholinesterase activity and binding glycoproteins in the grasshopper aiolopus thalassinus adults. Toxicology and Environmental Safety, 1994, 29: 148-164.

26. Montgomery E B. Heavy metals and the etiology of parkinson's disease and other movement disorders. Toxicology, 1995, 97: 3-9.