

Dr. Máté László mérnök alezredes, a hadtudományok kandidátusa

Kolineszteráz aktivitásának meghatározása, az aktivitás diagnosztikai értéke

A vérben levő kolineszteráz enzimek közül az AChE aktivitás csökkenés összefüggést mutat OF mérgezésben a szöveti AChE aktivitással, ezért diagnosztikai értéke jobb mint a plazma BuChE-nak. Az Ellman reakción alapuló módosított aktivitás meghatározás jól alkalmazható teljes vér, mosott vörösvérsejt és plazma meghatározására.

Az organofoszfát (OF) mérgezésekben más mérgezéstől eltérően biológiai mintákból (vér, vizelet, stb.) rendkívül nehéz a mérgező anyag kimutatása, főleg azért, mert az erősen toxikus anyagoknak már igen kis mennyisége elegendő súlyos mérgezés kiváltásához. A biológiai mintákban így csak nyomnyi mennyiségek találhatók, melyeknek kimutathatósága alatta van a legtöbb analitikai módszer érzékenységének.

A mérgezés tünete alapján nagy valószínűséggel lehet következtetni a mérgező anyagra, de legjobb diagnosztikai értékkel a kolineszteráz aktivitása bír.

Mint ismert, az OF-ek elsődleges támadáspontja a kolineszteráz enzim, amely a neurotransmisszióban szerepet játszó acetilkolin elbontását végzi. Az OF-ek az enzim észterikus helyéhez irreverzibilisen kötődve bénítják azt, gátolva így az acetilkolin elbontását. A felhalmozódó acetilkolin váltja ki az OF mérgezés elsődleges tüneteit és vezethet letális kimenetelhez.

A vegetatív idegrendszer kolinerg beidegzésű részén (paraszimpatikus), a neurómuszkuláris kapcsolatokban, valamint a központi idegrendszer egyes területein az acetilkolin a transzmitter. Ezekben az átkapcsolási helyeken a postsynaptikus membránon levő acetilkolineszteráz (AChE) végzi a transzmitter elbontását. Ezen kívül a vörös vérsejtek membránján is található acetilkolineszteráz.

A plazmában ugyancsak előfordul kolinészteráz, melyet szubsztrátja után butirilkolineszteráznak neveznek (BuChE).

OF mérgezésben a szöveti, agyi, AChE mellett a vérben levő AChE és BuChE is bénul. Több esetben tapasztalták azonban azt, hogy az eritrocita AChE és plazma BuChE aktivitása nem egyformán csökken. Egyes OF-ek jobban bénítják az AChE-t mint a BuChE-t, míg más OF-ok fordítottan bénítanak. Tapasztalat szerint sok esetben súlyos klinikai kórkép mellett nem volt kimutatható jelentős enzimaktivitás csökkenés. Ezek a tapasztalatok vezettek olyan meg-

állapításhoz, hogy nem lehet a vér kolineszteráz aktivitását az OF mérgezés egyértelmű bizonyítékának tekinteni.

Természetesen itt különbséget kell tenni a vérben levő AChE és BuChE aktivitása között. A legtöbb laboratóriumban a plazma enzim aktivitását mérik, tehát a BuChE-ét, míg az idegrendszerben az AChE található, így a plazma aktivitásából következtetni az idegrendszer állapotára nem korrekt. Ezért tűztük ki célul kidolgozni, illetve adaptálni olyan aktivitás, meghatározási módszert, amellyel a teljes vér, mosott vörös vérsejtek a plazma ChE aktivitása mérhető. E lapban korábban közölt enzim aktivitás mérési módszerek egyike csak plazmára van kidolgozva (1.), míg a másik viszonylag hosszadalmas (20 perc inkubálás) és munkai igényes (2.).

1. A kolineszteráz aktivitását befolyásoló tényezők

Az enzim aktivitását az általa elbontott szubsztrát mennyiségével mérik. Az új Egységes Nemzetközi Rendszer (SI) definíciója szerint (22) az enzim aktivitás egysége a catal (cat), amely az 1 másodperc alatt 25 °C-on átalakított szubsztrát mennyisége mol-ban.

dimenziója: [cat] = mol/l

Ezt az aktivitást ugyancsak az SI szerint 1 liter vére vagy plazmára vonatkoztatjuk.

Az enzim aktivitása akkor bír diagnosztikai értékkel, ha ismert az egészséges átlag populáció aktivitási szintje, melyhez viszonyítható a mért aktivitás. Ezt nagyszámú vizsgálattal fel lehet mérni. Az enzim aktivitásának meghatározására viszonylag sok módszert dolgoztak ki, amelyeknél a vizsgálati hőmérséklet, a szubsztrát, valamint a szubsztrát koncentráció, pH eltérő (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Ebből következően a kapott aktivitási értékek is eltérőek, így egymással nem vehetőek össze. Az alkalmazott módszerrel kell tehát elvégezni a populáció felmérését, a normál szint megállapítását.

A normál érték „látszólag” egészséges populáció esetén is viszonylag széles határok között mozog.

A kor, nem (sex) számottevően befolyásolja a BuChE aktivitását, de alig a AChE-t. Csecsemőknél, 6 hónap alatt, a fiatal érték 40—45%-a mérhető, de nincs különbség a nemekben (10). A fiatal felnőtt férfiak BuChE aktivitása szignifikánsan nagyobb, mint a hasonló korú nőké (11). Idős férfiak aktivitási értéke alacsonyabb, a fiatalkorú nők értékéhez közel áll, amely azonos a nőknél öreg korban is. Egy-két éves periódus alatt $\pm 6\%$ változás mérhető, de szignifikáns különbség van a déli és éjszakai értékek között is (12). Az eritrocita AChE aktivitásában nincs különbség a különböző korú és nemű csoportok között (13).

Számos patológiás állapotban jelentősen csökken a plazma BuChE aktivitása, míg az eritrocita AChE aktivitása csupán terminális állapotban csökken szignifikánsan.

A máj kóros állapotában csökken a BuChE szintézise és mivel az enzim fél életideje kb. 8—10 nap, inkább subakut és krónikus állapotban van nagyobb diagnosztikai értéke a máj állapotával kapcsolatban. Szívelégtelenség és krónikus vese elégtelenségben is jelentős BuChE aktivitás csökkenés tapasztalható, míg nefrozisban normális vagy kissé emelkedett az aktivitás (14), de terminális állapotban már csökken, ami prognosztikus jel.

Alultápláltság, felszívódási anomáliák, súlyos anémia, leromlás ugyancsak csökkenti a BuChE aktivitását.

Hipertireozisban nő, hipotireozisban csökken az aktivitás, gliómában extrém magas.

Egyes gyógyszerek mint reverzibilis inhibitorok ugyancsak csökkentik a BuChE aktivitását.

A fentiekből következik, hogy a BuChE aktivitás normál értéke sokkal nagyobb szórást mutat, mint a AChE-é, már ebből adódóan is kevésbé alkalmas az OF mérgezés tényének megállapítására.

Az OF-ok reaktivitása a szöveti (agyi) AChE-val nagyobb, mint az eritrocita AChE-val (15), ennek ellenére OF mérgezésben szorosabb korreláció van a szöveti és eritrocita AChE bénulás között, mint a szöveti AChE és plazma BuChE bénulás között (16).

A fentiekből következik, hogy az OF mérgezés diagnosztizálására, illetve annak súlyosságának megítélésére az eritrocita AChE aktivitási értéke a legalkalmasabb (23).

A normál érték felvételére a később leírt módszerrel meghatározásokat végeztünk az „egészséges” populáció körében. Az eddigi, viszonylag kis számú mérés (198 férfi, 105 nő) alapján számított középértéket, szórást (standard deviáció, SD) és a normál intervallumot (középérték \pm 2 standard deviáció) (24). az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

	férfi μ cat/l			nő μ cat/l		
	közép	\pm SD	normál interv.	közép	\pm SD	normál interv.
teljes vér	64,09	10,22	44—84	56,17	9,46	36—76
mosott vvs	56,48	10,27	36—76	47,42	9,71	27—67
plazma	14,69	5,30	5—25	13,64	4,66	4—24

A felmérést tovább folytatva, nagyszámú egyedre kiterjesztve ezek az értékek módosulni fognak, az értékek megbízhatóbbá válnak. Ennek ellenére az általunk elévzett viszonylag kevés mérésben kapott értékek is alkalmasak a mérgezés tényének megállapításához.

A további kérdés: milyen az adott enzimaktivitás prognosztikai értéke? Tapasztalataink szerint a kezdetben mért rendkívül alacsony érték (0,1—0,5 NE) egyértelműen kolinészteráz bénítóval történt mérgezésre utal. Ebből az értékből azonban nem lehet következtetni a túlélésre, sőt az aktivitás további alakulásából sem. Igen súlyos állapotból is kihozható és életben tartható a mérgezett kellő atropinizálással akiknél fokozatosan nő úgy az AChE mint a BuChE, de 2—3 hét után felléphetnek elsősorban cardiális szövödmények, ami letális kiemethez vezethet. Ezen időpontban pedig mindkét enzim aktivitása eléri az életbenmaradáshoz szükséges szintet, és kialakul bizonyos adaptáció, vagy tolerancia is a folyamatos acetilkolin stimulációval szemben (17). Ebből arra lehet következtetni, hogy a mérgezés után néhány héttel bekövetkező hal már nem az OF enzim bénító hatására, hanem más okokra vezethető vissza.

2. A kolinészteráz meghatározás módszere

A kolinészteráz meghatározására számos módszert dolgoztak ki, melyek különböző mérési elveken alapulnak. Ismertek manometriás, titrimetriás, elektrometriás és kolorimetriás módszerek (18).

Ezen módszereken belül is találkozunk különböző eljárásokkal. A legelterjedtebb használt azonban Ellman módszere (19), amely számos apró módosításon ment keresztül. Viszonylagos egyszerűsége és gyorsasága miatt mi is ezt a módszert alkalmazzuk, némi módosítással. A módszer lényege: az enzim aktivitásának meghatározásához nem a természetes szubsztrátot, hanem tioanalógiát az acetiltiokolint használjuk.

Az enzim elbontva az acetiltiokolint, a felszabaduló tiokolin az Ellman reagens, az 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoésav (DTNB) diszulfid hidját elhasítja és azzal egy diszulfidot képez, míg a másik fele sárga színű terméké alakul.

Ellmann eredeti módszere kinetikus módszer, azaz, a keletkező sárga színű vegyület abszorpcióját, illetve annak változását folyamatosan méri. Ehhez vagy regisztrálós fotométer, vagy olyan kijelzésű műszer használható, amelyen az extinkció változás időben nyomon követhető (pl. MOM 402).

2.1. A mérés néhány elméleti és gyakorlati kérdése

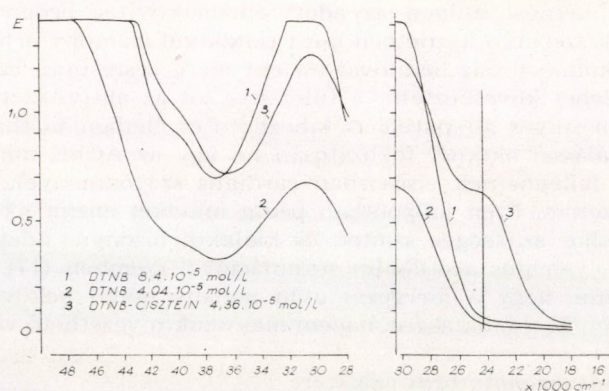
Az Ellman reagens (DTNB) enzimkinetikai célra való használhatósága függ egyrészt fotometriás tulajdonságaitól, másrészt a rendszer enzimkinetikai tulajdonságaitól.

Fotometriás célra alkalmas, ha:

- a reagens (DTNB) nem ad fényelnyelést a keletkezett termék elnyelési maximumánál (410 nm);
- a keletkezett színes termék követi a Lambert—Beer törvényt.

Ha a reagens fényelnyelést ad a mérési hullámhossznál, ez additíve hozzáadódik a színes termék abszorpciójához. A reakció előrehaladtával viszont a reagens koncentrációja, így abszorpciója is csökken, tehát egyre kisebb ez az additív mennyiség.

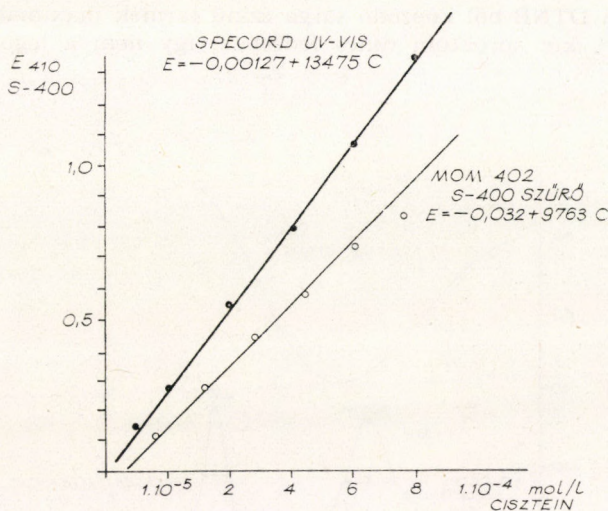
Kétsugaras regisztráló spektrofotométernél, ha kompenzáló oldatként (vak) reagenst (DTNB) használunk, a vak oldat változatlan koncentrációja mellett a mérőoldatban a reagens koncentrációja a színes termék keletkezése miatt kisebb, így túlkompenzálás lép fel, azaz kisebb abszorpciót ad a minta, mint elméletileg adnia kellene. Ennek igazolására szolgáljon az 1. ábra. Az 1 görbe mutatja a reakcióelegy (DTNB) abszorpciós spektrumát desztillált vízzel (vak) szemben. A mérés hullámhosszán ez 0,06 extinkciós értéket ad.



1. ábra. A DTNB reagens (1), a kialakult DTNB-cisztein reakciótermék (3) és a feleslegben maradt reagens (2) abszorpciós spektruma.

A 3. görbe a színes termék és DTNB, míg a 2. görbe a színes termék kialakulása után megmaradó DTNB abszorpciós spektrumát mutatja. Ez azt jelenti, hogy a kalibrációs görbe felvételénél és az enzím reakció során a magasabb koncentrációk felé haladva a görbe meredeksége kismértékben csökken. Gyakorlati szempontból ez nem jelent számottevő hibát.

A kalibrációs görbét a mérési adatokból regresszió analízissel határozzuk meg. Ciszteinnel, illetve merkapto-propionilglicinnel (MPG) készített kalibrációs sorok adataiból számított függvény paramétereiket az I. táblázatban tüntettük fel.



2. ábra: Ciszteinnel felvett kalibrációs görbék.

Lambert — Beer törvénye szerint

$$E = \epsilon \cdot l \cdot c.$$

E = extinkció

ahol ϵ = mól extinkciós koefficiens (13 600) (20)

l = kuvetta hosszúság (: 1 cm.)

c = a koncentráció (mol/l).

A kalibráló egyenest a Lambert—Beer összefüggésre alkalmazva:

$$E = \epsilon \cdot c + b.$$

Nagyon pontos mérésénél:

$$\epsilon = 13\,600, b + 0$$

Súlymérési pontatlanság vagy tisztátatlanság a b értékét megváltoztatja. A hígítási és pipettázási pontatlanság a szórást növeli, ami a korrelációs együttható (r) értékét csökkenti, illetve a konfidencia határokat növeli.

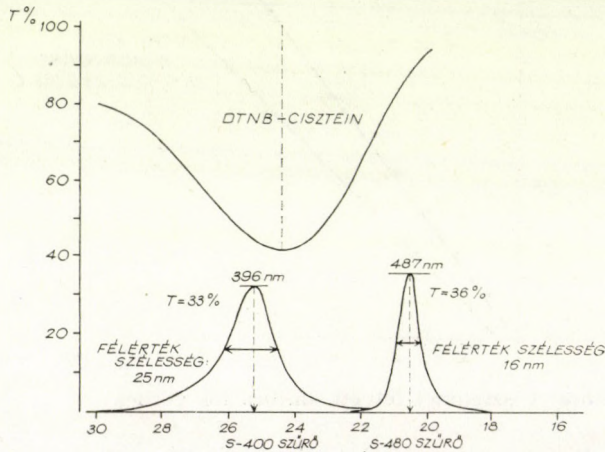
I. táblázat

F. sz.:	Kalibráló anyag:	ϵ	b (E)	r	99% konf. sáv $c = 5 \cdot 10^{-5}$ -nél
1.	Cisztein	13 475	0,00127	0,9999	0,185
2.	Cisztein	14 024	-0,0563	0,9999	0,364
3.	Cisztein	13 201	-0,0379	0,9987	0,711
4.	MPG	12 946	-0,0247	0,9990	0,397
5.	MPG	13 161	-0,0367	0,9980	0,419

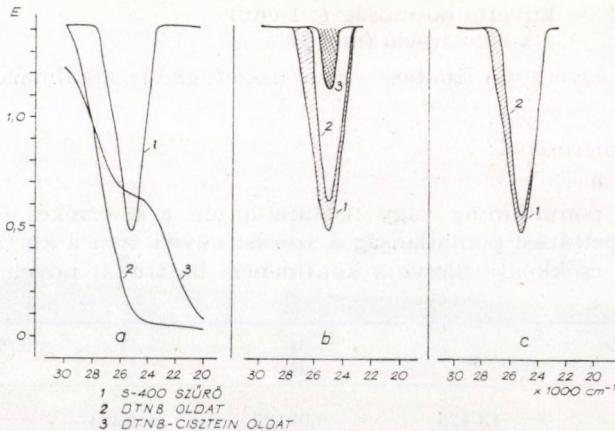
Az adatokból kitűnik, hogy az 1. sz. sor a legpontosabb. A kalibrációs görbe a 2. ábrán látható.

A kisebb laboratóriumokban, ahol nincs regisztráló spektrofotométer, ilyen vizsgálatra felhasználják a folyamatos kijelzésű fotométereket is (ilyen pl. a MOM 402 típ.) amelyben különböző színszűrőkkel biztosítható a megfelelő hullámhosszú fény. A szűrők nem vonalas, hanem sávós színképet adnak, azaz, az átértelt fény nem monokromatikus. Ez akkor jelent hátrányt, ha a felhasznált reagensek a szűrő hullámhossz sávjában fényelnyelést adnak.

A vizsgálatokban a 400-as szűrő kerül alkalmazásra, mivel ez közelíti meg legjobban a DTNB-ből képződő sárga színű termék maximális abszorpciós hullámhosszát. A két spektrum nincs fedésben, így nem a legoptimálisabb a mérés (3. ábra).



3. ábra: A MOM 402 típusú fotométer szűrőinek és a DTNB-cisztein reakciótermék transzmissziós spektruma.



4. ábra: A DTNB reagens (2), a DTNB-cisztein reakciótermék (3) és az S-400 szűrő abszorpciós spektrumai (1). (bővebben a szövegben)

A készülék alkalmasságát vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a DTNB elnyelési spektrumának egyrésze (4 a ábra 2. görbe) a szűrő sávjába esik (4 a ábra 1. görbe).

Az előzőek szerint a nagyobb koncentráció tartományban a kompenzáció miatt az eltérés nagyobb az elméletitől, ezért ϵ értéke kisebb kell legyen mint 13 600.

A műszer kinullázását (vak érték) a reagenssel végezve e miatt a rést jelentősen tágítani kell. A mérés során a DTNB mennyisége csökken, elnyelése a szűrő sávjában ugyancsak csökken, de a résen átbocsátott fényáram változatlan. Így a spektrofotométernél már említett túlkompenzáció miatt a nagyobb koncentráció tartományban a mért extinkció értékek alacsonyabbak lesznek a számítotttnál. Szemléletesen igazolják ezt a 4. ábrán látható b) és c) képek. A 4. b) ábra 1. görbéje a szűrő fényáteresztési sávját (a görbe *felett* levő terület) mutatja. A reagens vak kompenzálására használt DTNB a fény egy részét elnyeli. Az elnyelt fény az 1. és 2. görbe közötti terület (sávozott) nagyságával arányos, a 2. görbe feletti rész adja az áteresztett fényt. A szín kialakulásának előrehaladtával csökken a DTNB által elnyelt fény (4. c) ábra, (1—2 görbe közötti sávozott terület), tehát a színes anyag által elnyelt fény (extinkció) alacsonyabbnak adódik a számítotttnál. A 3. görbe a DTNB cisztein színes termék fényelnyelését mutatja 4. a) ábra, a b) ábrán pedig a 400-as szűrőn keresztül. Ezt alátámasztják a kalibrációra felvett mérési adatok is. Nagyobb koncentrációtartományban a mérőgörbe elhajlik az egyenestől (2. ábra). Ezek alapján $E > 0,7$ tartományban a kalibrációs egyenes nem használható; vagy korrekció szükséges, vagy tapasztalati görbe használandó.

A kalibrációs sorra elvégezve a regresszió analízist a mól extinkciós koeficiens értéke jóval alacsonyabbnak adódik, mint az elméleti, ami főleg a szűrő és reakció termék transzmissziós, illetve abszorpciós spektrumainak nem teljes fedéséből származik.

A kinetikus módszerek mellett alkalmaznak statikus módszereket is, melyeknél a reakcióelegy — enzim — szubsztrát, bizonyos ideig történő inkubálása után az enzimet bénítják, majd az elbontott szubsztrát valamelyik fragmentjének koncentrációját alkalmas módszerrel mérik (21).

Enzimkinetikai szempontból fontos tényező a reakcióközeg hőmérséklete, pH-ja, a szubsztrát milyensége és koncentrációja. A hőmérséklet vagy termosztalással oldható meg (20, 25 vagy 37 °C) vagy szobahőn végezve figyelembe vesszük a környezeti hőmérsékletet, annak ingadozását. Kevés eltérés számottevően nem befolyásolja az eredményt.

Az optimális pH pufferral biztosítható. A szubsztrát milyensége számot-

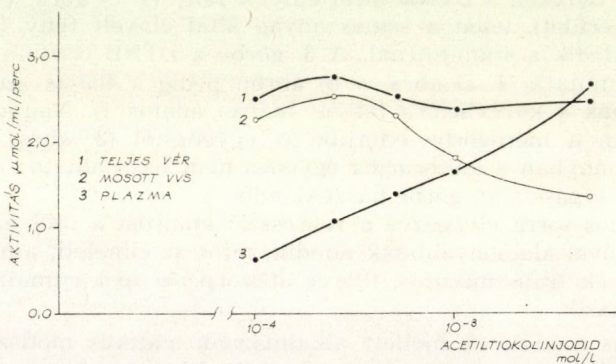
II. táblázat

Szubsztrát	AChE	BuChE
Acetilkolín	100	100
Acetiltiokolín	149	430
Acetil- β -metilkolín	18	0
Propionilkolín	80	170
Butirilkolín	2	250
Benzoilkolín	<0	67

tevően befolyásolja a reakció sebességét, a mért aktivitást. A II. táblázat tartalmazza a különböző szubsztrátok relatív bontási sebességét az acetilkolinhoz, mint szubsztráthoz viszonyítva.

Acetiltiokolint alkalmazva szubsztrátként mosott vörösvérsejtre, plazmára és teljes vére megvizsgáltuk az aktivitást a szubsztrát koncentráció függvényében. A kapott eredményeket az 5. ábrán tüntettük fel. Az ábrából kitűnik, hogy a szubsztrát koncentrációjának adott intervallumon belüli növelésével a plazmára kapott aktivitás nő. Az eritrocitáknál egy bizonyos koncentrációig nő, majd onnan csökken. A teljes vére kapott érték nagyjából követi az eritrocitákra kapott értéket.

Tekintettel arra, hogy az eritrocita AChE aktivitását tekintjük inkább diagnosztikai értéknek, olyan szubsztrát koncentráció értéket kell választani, amely a teljes vére, illetve az eritrocitákra ad maximumot, továbbá amelynél a szubsztrát koncentráció kismértékű megváltozása nem befolyásolja a mért értéket. Ezt $2,5 \cdot 10^{-4}$ mól/l koncentrációban határoztuk meg.



5. ábra: A teljes vér, mosott vörösvérsejtek és a plazma ChE aktivitásának változása a szubsztrát koncentráció függvényében.

2.2. A vizsgálati módszer leírása:

A teljes vér, mosott vörösvérsejtek és plazma ChE aktivitás meghatározásához heparinnal alvadásban gátolt vért használunk (1 ml vérhez 1 csepp heparin).

2.2.1. Reagensok:

- | | |
|-----------------------|---|
| 1. DTNB törzsoldat | 0,5 mg DTNB/ml deszt. víz |
| 2. Foszfát puffer | 0,2 mólos, pH 7,2 |
| 3. Reagens DTNB oldat | 1 rész puffer, 2 rész DTNB törzsoldat, 7 rész desztillált víz |
| 4. Szubsztrát oldat | 9 mg/ml acetiltiokolinjodid |

Az 1. 2. 3. oldatok hűtőszekrényben több hónapig, 4. oldat két hétig eltartható.

2.2.2. Eszközök:

1. Regisztráló spektrofotométer (410 nm/24 390 hullámszám), 1 cm-es üvegkuvetta.
2. 2, 20, 50 és 1000 μ l-s MLA-pipetták,
3. 3. sz. oldathoz pipettor (Oxford) 4,95 ml-re állítva (súlyméréssel kalibrálva).
4. Pipettázóballon (Bergmann) kifolyós kipetta 2,50 ml-re kalibrálva.
5. Centrifuga, vékony centrifugacsővel.

2.2.3. A minta előkészítése:

A heparinos vért óvatosan felrázzuk, majd a homogenizált alvadékmentes vérből 1,0 ml-t 12,5 ml-re hígítunk desztillált vízzel. Néhány perc múlva az eritrociták hemolizálnak, az oldat kitisztul. Újabb 1,0 ml vért 3000 rpm-mel 3 percig centrifugálunk, majd a plazmát óvatosan leszívjuk egy kémcsőbe. Az üledéket fiziológiás sóoldattal háromszor bőségesen kimossuk, majd mosás után egy kémcsőbe átmosuk desztillált vízzel, és 12,5 ml-re töltjük fel.

2.2.4. Mérés:

A 3. sz. reagens oldatból kémcsőbe mérünk szobahőn 4,95 ml-t, majd hozzámérjük a vizsgálandó előkészített minta 50 μ l-jét (hígított teljes vér, mosott VVS. ill. plazma) és jól elkeverjük. Az oldatból ezután 2,50 ml-t leszívópipettával kiemelünk, a maradékot a „vak” küvettába töltjük. A mérőküvettába mérünk 20 μ l szubsztrátot (4. oldat) és rámérjük a leszívópipettából a 2,50 ml reagens-minta oldatot, majd levegő átbuborékoltatásával elkeverjük. Behelyezve a spektrofotométer mérő sugár útjába, a regisztrálást indítjuk és legalább 2 percig mérünk. A regisztráló által rajzolt egyenes legfeljebb csak a nagyobb extinkció értékeknél hajlik el.

2.2.5. Értékelés:

A regisztráló papírról a görbe egyenes szakaszán meghatározzuk az 1 percre eső extinkcióváltozást (ΔE). (A leolvasási hiba csökken, ha hosszabb időből határozzuk meg a ΔE értékét.)

A minta bemért mennyiségéből, a hígításból, a reakció elegy térfogatából a molaris extinkciós koefficiens ismeretében a ΔE érték alapján számítjuk a vizsgált minta aktivitását catal-ban.

Lambert—Beer törvénye szerint az 1,0 extinkció értékhez tartozó koncentráció

$$E = c \cdot l \cdot \epsilon \quad c = \frac{E}{\epsilon \cdot l} = \frac{1}{13600} = 7,3529 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$$
$$\text{Az aktivitás} = \frac{\Delta E \cdot 7,3529 \cdot 10^{-5} \cdot V \cdot 10^6}{60 \cdot A} \quad \mu\text{cat/l}$$

ΔE = az 1 percre eső extinkció érték

V = a vizsgált reakcióelegy térfogata ($2,5 \cdot 10^{-3}$ l)

A = a vizsgált reakcióelegyben levő vér vagy plazma térfogata
(vér $2 \cdot 10^{-6}$ l, plazma $15 \cdot 10^{-6}$ l)

A képletben szereplő értékek ΔE kivételével konstansok, illetve A-nak vizsgálatunkban kétféle értéke lehet, ezeket összevonva egy faktorba: plazmára:

$$F = 123$$

teljes vére és mosott vörösvérsejtekre:

$$F = 1532$$

így az enzim aktivitás értéke: $\Delta E \cdot F \mu\text{cat/l}$

A műszeren történő leolvasás pontossága miatt az aktivitást 0,01 pontossággal elegendő megadni. Ennél nagyobb pontossággal megadott eredmények nem tekinthetők reálisnak.

1. Gyarmati L., Dávid G.: Honvédorvos 21, 344., (1969)
2. Dávid G., Laczik J.: Honvédorvos 23, 197., (1974.)
3. Mourik, I., de Jong, L. D. A.: Arch. Toxicol. 41, 43., (1978.)
4. Coutselinis, A., Boukis, D.: Arch. Toxicol. 40., 155., (1978.)
5. Bradway, D. E. et. al.: J. Agric. Food. Chem. 25, 1353, (1977.)
- 6 Kurtz, P. J.: Toxicol. Appl. Pharmacol. 42., 589., (1977.)
7. Kalow, W., Lindsay, H. A.: Can. J. Biochem. Physiol. 33., 568., (1955.)
8. Okabe, et. al.: Clin. Chim. Acta 80., 87., (1977.)
9. Verjee, Z. H. et. al.: Clin. Chim. Acta. 81., 41., (1977.)
10. Zsigmond, E. K., Downs, J. R.: Can. Anaesth. Soc. J. 18., 278., (1971.)
11. Shanor, S. P. et al.: Am. J. Med. Sci. 24., 357. (1961.)
- 12 Dixon, E. M.: Diss. Abstr. 17., 2567., (1957.)
13. Augustinsson, K. B.: Acta. Physiol. Scand. 35., 40., (1955.)
- 14 Zardai, Z., et. al.: Clin. Res. 19., 554., (1971.)
15. Reiff B.: Medical Protection Against Chemical Warfare Agents 82. O. Sipri Stocholm (1976.)
16. Erdmann W. D.: ibid. 46. o.
17. Natoff I. L. ibid. 53. o.
18. Witter R. F.: Arch. Environ. Health. 6, 537. (1963.)
19. Ellman, G. L. et. al.: Biochem Pharmacol 7., 88., (1961.)
- 20 Ellman, G. L. et. al.: Arch. Biochem. Biophys. 82., 70, (1959.)
21. Hestrin, S.: J. Biol. Chem. 180., 249., (1949.)
22. Klinikai-laboratórium i leletek értékelése. Szerk. Szentgáli Gy. Eü. M. kiadványa IV. kiad.
23. Dési I.: Peszticidek higiénés-toxikológiai értékelése. Doktori értekezés. Budapest, 1979. 153. o.
24. Abbey, H. in The laboratory in cilinical medicine. Ed. J. A. Halsted, W. B. Saunders Co. Philadelphia 1976. 6. o.

Mate L., подполковник-инж. :

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ АКТИВНОСТИ

Obstl. Dr. ing. László Máté:

BESTIMMUNG DER CHOLINESTERASEAKTIVITÄT, DER DIAGNOSTISCHE WERT DER AKTIVITÄT