

Article original

ACTIVITE DE LA PSEUDOCHOLINESTERASE PLASMATIQUE ET ERYTHROCYTAIRE EN SITUATION DE DYSLIPIDEMIE ET DE DESEQUILIBRE GLYCEMIQUE.**ACTIVITY OF PLASMATIC AND ERYTHROCYTATIC PSEUDOCHOLINESTERASE IN SITUATION OF DYSLIPIDEMIA AND GLYCEMIC IMBALANCE.**

Hichem Benghezal, Mourad Sadelaoud, Wided Toumi.

*Laboratoire de M. Sadelaoud, Batna***Résumé**

Introduction: De nombreuses recherches indiquent que l'activité de la pseudocholinestérase (BChE) est augmentée dans certains troubles métaboliques. Il existe une controverse sur le taux de BChE plasmatique (PChE) et érythrocytaire (EChE) qui peuvent augmenter ou non chez les patients diabétiques et/ou avec une dyslipidémie. L'objectif de cette étude vise à déterminer si le diabète sucré et / ou la dyslipidémie affectent l'activité de la PChE et/ou de la EChE.

Matériel et méthodes: 80 patients sont sélectionnés au niveau de notre laboratoire de façon aléatoire. L'automate Cobas Integra 400 roche diagnostics ® est utilisé pour le dosage du cholestérol, des triglycérides, du HDL, du LDL et PChE. Nous avons mesuré l'hématocrite et l'hémoglobine glyquée sur l'analyseur Sysmex XN-3000 et Tosoh G8 HPLC. L'activité totale de cholinestérase (TChE) correspond à l'activité mesurée dans l'hémolysat, l'activité l' EChE est obtenue par calcul à partir de PchE et TChE. Les données recueillies ont été saisies et analysées par le logiciel SPSS statistique 20 IBM ®.

Résultats et discussion: Les résultats indiquent qu'il existe une relation entre le PChE et la dyslipidémie, mais aucune relation de ce type n'a pas pu être observée avec l'EChE.

L'association d'un diabète insuffisamment contrôlé et d'une dyslipidémie semble entraîner une élévation de l'activité de la PChE d'une façon beaucoup plus accentuée que les sujets dyslipidémiques équilibrés sur le plan glycémique.

Conclusion L'estimation du CRF (Rapport PChE/HDL) peut être un outil supplémentaire précieux pour prédire le risque athérogène.

Mots clés: *PChE, EChE, dyslipidémies, diabète sucré, CRF.*

Abstract

Introduction: Much research indicates that pseudocholinesterase (BChE) activity is increased in certain metabolic disorders. There is controversy over the level of BChE in plasma (PChE) and in erythrocyte (EChE) which may or may not increase in patients with diabetes and / or with dyslipidemia.

The objective of this study is to determine whether diabetes mellitus and / or dyslipidemia affects PChE activity and / or EChE activity.

Population and methods: 80 patients are randomly selected in our laboratory. The Cobas Integra 400 roche diagnostics ® is used for cholesterol, triglycerides, HDL, LDL and PchE. We measured hematocrit and glycated hemoglobin on the Sysmex XN-3000 analyzer and Tosoh G8 HPLC analyzer. The total cholinesterase activity (TChE) corresponds to the activity measured in the hemolysate, the EChE activity is obtained by calculation from PchE and TChE. The data collected was entered and analyzed by IBM® SPSS statistic 20 software.

The results indicate that there is a relationship between PChE and dyslipidemia, but no such relationship could be observed with EChE.

Conclusion The association of insufficiently controlled diabetes and dyslipidemia appears to increase PChE activity much more markedly than dyslipidemic subjects with glycemic-balanced. Estimating CRF (ratio PChE / HDL) can be a valuable additional tool for predicting atherogenic risk.

Keywords: *PChE, EChE, dyslipidemias, diabetes mellitus, CRF.*

Auteur principal : Hichem Benghezal :

Hichem.benghezal@gmail.com

Co-auteur :

Mourad Sadelaoud : m.sadela@yahoo.fr

Toumi Wided : Toumi.lamsadelaoud05@yahoo.fr

Introduction

Découverte en 1932, la butyrylcholinestérase (BChE, EC 3.1.1.8) également appelée pseudocholinestérase, cholinestérase type 2 ou cholinestérase non neuronale est une sérine hydrolase appartenant à la famille des estérases (1.2.3).

Elle présente un poids moléculaire de 340000 où les glucides représentent 23,9 % de ce poids. Cette enzyme est formée de quatre sous-unités et chaque unité est composée de 572 acides aminés, elle contient également huit demi-cystines dans chaque sous-unité où six d'entre elles forment trois ponts disulfure interne. Il existe également un groupement sulfhydryle libre. Le résidu sérine du site actif est en position 198 (Figure 1) (4).

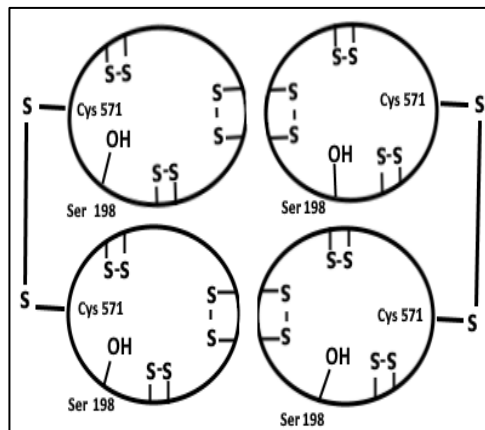


Figure 1 : Schéma représentatif d'organisation quaternaire et des sous-unités de la PChE: Quatre sous-unités identiques reliées par des liaisons non covalentes. Chaque sous unité comprend 3 ponts disulfures internes. Les sous-unités sont disposées en dimère et chaque dimère comprend 2 sous-unités reliées par un pont disulfure en position 571. le site actif de l'enzyme comprend un résidu Serine en position 198 (4)

Le gène codant pour cette protéine est situé au niveau du chromosome 3q26.1, il mesure au moins 73 kb de long, comprend 1722 paires de bases et la protéine qui circule contient quatre exons et au moins 11 isoenzymes ont été identifiées (5.6). Cette enzyme est largement distribuée dans différents tissus du corps humain, tels que le sérum, les hématies, les cellules du foie, des poumons, du cœur, les cellules gliales et les synapses cholinergiques du système nerveux central (7).

Malgré cette répartition abondante, la fonction physiologique de cette enzyme reste une énigme. La BChE est très similaire dans sa composition et sa structure à l'acétylcholinestérase (AChE, EC 3.1.1.7) et comme cette dernière elle peut hydrolyser des esters de choline, y compris l'acétylcholine (8).

Plusieurs hypothèses ont été formulées sur le rôle potentiel propre à cette enzyme, parmi lesquelles son rôle dans le métabolisme des acides gras et l'élimination de la butyrylcholine qui est le produit de la bêta oxydation du butyryl CoA et qui pourrait avoir

une action nicotinique toxique. Cependant, premièrement il n'y a aucune preuve de l'existence d'une enzyme synthétisant la butyrylcholine et deuxièmement l'oxydation des acides gras a lieu essentiellement dans les mitochondries sachant que ni la butyrylcholine ni le butyryl-CoA ne traversent la membrane mitochondriale interne avec une BChE de localisation cytosolique.

Une autre hypothèse stipule que le BChE pourrait jouer un rôle dans l'homéostasie de la choline. Néanmoins, il a été bien démontré que la fonction biologique de cette enzyme est indépendante de sa propriété d'hydrolyse de l'ester de choline (9).

Le dosage de la BChE plasmatique (PChE) est indiqué en première intention dans le diagnostic des intoxications aiguës ou chroniques aux inhibiteurs des cholinestérases. Alors que l'enzyme BChE intra-érythrocytaire (EchE) est plus pertinente dans les intoxications chroniques.

Indépendamment de l'intoxication aux anticholinestérases, plusieurs études prouvent que les patients obèses présentent une activité de la PChE élevée, il a été également prouvé qu'en dehors du poids corporel, l'activité de la PChE sérique corrélée positivement avec les niveaux sériques des triglycérides (TG) et des lipoprotéines de faible densité (LDL)

Toutes ces observations suggèrent une relation entre l'activité PChE et le métabolisme des lipoprotéines, mais le mécanisme de cette connexion n'est pas encore élucidé (10.11.12.13.14).

Chez le diabétique il est connu que les dyslipidémies sont fréquentes car la résistance et/ou le déficit en insuline affectent les enzymes clés du métabolisme lipidique et certaines études observationnelles mettent en évidence une élévation du PChE chez le diabétique type 2 (15). Néanmoins, une controverse persiste sur le taux des PChE mais également des EchE qui peuvent rester normal ou diminué chez les patients dyslipidémiques et/ou diabétiques (16).

Nous avons réalisé une étude prospective descriptive dont le but est de vérifier l'existence d'une relation entre la dyslipidémie, le déséquilibre glycémique avec les niveaux sériques des deux types de cholinestérase, mais également de voir si la combinaison d'un mauvais contrôle glycémique et de la dyslipidémie peut entraîner une élévation des deux types d'enzymes.

Matériels et méthodes

La sélection des échantillons est réalisée au niveau de notre laboratoire de façon aléatoire, les antécédents, la prise de traitements non pas étaient pris en considération. Néanmoins, nous avons exclu les femmes enceintes et bien sûr les prélèvements hémolysés. L'automate Cobas Integra 400 roche diagnostics ® est utilisé pour le dosage du cholestérol, des triglycérides (TG), du HDL (méthode enzymatique colorimétrique) et de la cholinestérase plasmatique PChE (méthode avec la butyrylthiocholine) (17). Nous avons mesuré l'hématocrite (Ht) et l'hémoglobine glyquée (HbA1C) respectivement sur l'analyseur Sysmex XN-3000 et Tosoh G8 HPLC. Pour l'estimation du LDL; nous avons utilisé la formule de

Friedewald (18). Cependant lorsque les taux des triglycérides étaient supérieurs à 4 g/l nous avons eu recours au dosage direct sur cobas integra 400.

L'activité totale de cholinestérase (TChE) correspond à l'activité mesurée dans l'hémolysat (HChE) multipliée par un facteur 20 (correspondant à la dilution du sang total dans l'eau distillée) : $TChE = 20 \times HChE$, l'activité intra-érythrocytaire (EChE) est obtenue par calcul à partir des deux activités précédentes, en tenant compte du résultat de l'hématocrite (Ht) exprimée en valeurs décimales : $EChE = [TChE - (PChEx(1 - Ht)) / Ht]$ (19). Les indices d'athérogénicité: Cholestérol /HDL (ERF (20), et AIP ($\log_{10} TG / HDL$) (21), CRF ($[PChE/HDL]/10000$) (22) sont calculés. Les données recueillies ont été saisies et analysées par le logiciel SPSS statistic 20 IBM ®. Les valeurs de p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

Résultats

80 patients ont été sélectionnés, le sex-ratio (mâle/femelle) de notre population est de 0.66 ; l'âge moyen était de 58.6 ± 15.29 ans (tableau 1).

Tableau 1 : Tableau descriptive de la population

	Min	Max	Moyenne	SD
Age	26.00	88.00	58.6750	15.29687
Ht	0.34	0.51	0.4227	0.03610
HbA1c	4.70	16.60	7.3225	2.30838
Ch	0.93	3.01	1.8201	0.43680
TG	0.36	7.23	1.5539	1.06797
HDL	0.24	0.95	0.4529	0.11909
LDL	0.34	2.24	1.0769	0.39422
PChE	4542.00	12679.00	8170.8750	1729.88553
TChE	6380.00	17980.00	9181.7500	1821.10328
EChE	6788.91	24726.73	10661.5010	2760.27379
CRF	0.55	3.39	1.92	0.62

Min : minimum, Max : maximum, Ht : hématocrite, Ch : cholestérol, TG : triglycérides.

52.5 % des patients ont présenté une HbA1c > 6,5% (23), le test indépendant kruskalwallis indique que seule la PChE est significativement élevée chez les patients présentant un déséquilibre glycémique. (tableau 2).

Tableau 2 : Association HbA1c e avec respectivement la PChE et l'EChE

Association HbA1c avec	Valeur du p (Kruskalwallis test)
PChE	0.044**
EChE	0.335

Nous constatons également une corrélation positive entre la PChE versus cholestérol total, triglycérides et LDL alors que l'EChE ne présente aucune association avec les paramètres de l'exploration du métabolisme lipidique (tableau 3).

Tableau 3 : Corrélation de Pearson : PChE et EChE avec respectivement le cholestérol total (Ch T), les triglycérides (TG), l'HDL et les LDL.

		Ch T	TG	HDL	LDL
PChE	r	0.381**	0.339**	-0.175	0.339**
	Valeur P	0.000	0.002	0.120	0.002
EChE	r	0.021	0.037	0.096	-0.047
	Valeur P	0.850	0.742	0.395	0.678

42% des patients présentent une $ERF > 4$ (risque athérogène modéré et élevé). En réalisant le test indépendant kruskalwallis, Nous observons une association statistiquement significative entre l'ERF et la PChE ($p=0.001$) et la CRF ($p=0.0001$) mais pas avec l'EChE ($p=0.357$). La PChE est significativement plus élevée chez les patients avec une $ERF > 4$ (20) (figure2). 52.5 % des patients présentent une $AIP > 0.11$ (risque athérogène modéré et élevé), nous constatons également une association statistiquement significative entre l'AIP et la PChE ($p=0.001$) et entre l'AIP et la CRF ($p=0.0001$) mais pas avec l'EChE ($p=0.81$). En effet, la PChE est significativement plus élevée chez les patients avec une $AIP > 0.11$ (21) (figure 2).

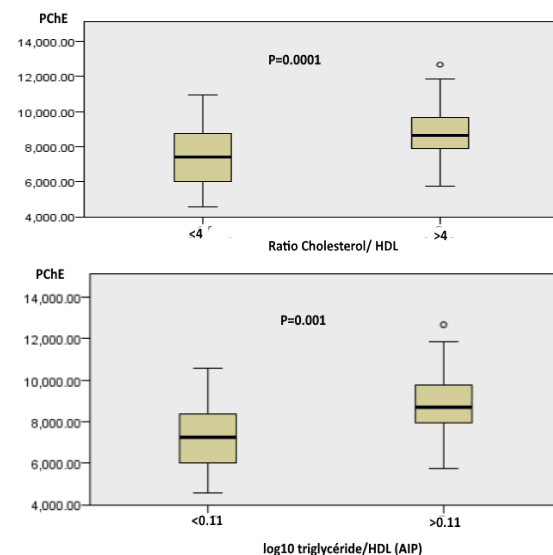


Figure 2 : Schéma représentatif de la comparaison de l'activité de la PChE chez les patients présentant un ERF (Ratio cholestérol/HDL) <4 versus > 4 et chez les patients présentant un AIP (Log10 triglycérides/HDL) <0.11 versus >0.11.

En écartant les patients avec $AIP > 0.11$, 36.8% des patients présentent une HbA1c > 6.5% et aucune association n'est constatée entre PChE et HbA1c ($p < 0.05$).

En éliminant les patients avec un déséquilibre glycémique ($HbA1c \leq 6.5\%$), 40 patients sont sélectionnés; la corrélation PChE avec le cholestérol, le LDL et les triglycérides persiste avec des coefficients de corrélations respectivement de (0.53, 0.46 et 0.45) $P < 0.05$.

L'association l'AIP, ERF versus PChE, CRF se maintient également ($P < 0.05$).

Il semble que les niveaux de l'activité sérique de la PChE chez les patients combinant une AIP élevée et une HbA1c > 6.5 % (Groupe 1) soit supérieure à l'ensemble

de la population mais également par rapport à ceux qui présentent une HbA1c seule (Groupe 2) ou à celle qui présente une AIP élevée seule (Groupe 3) (tableau 4).

Tableau 4: Activité de la PChE : Tableau comparative entre le Groupe 1, 2, 3 et l'ensemble de la population.

PChE		Nombre	Moyenne	IC 95%	Médiane	SD
Groupe 1*	AIP>0.11+HbA1c>6.5	28	9059.3*	8419.8-9698.9	8876*	1649.4
Groupe 2	HbA1c>6.5	40	8532	7952-9111.9	8602.5	1861.1
Groupe3	AIP>0.11	40	8938.8	8482.8-9394.7	8693.5	1463.0
Total		80	8170.8	7785.9-8555.8	8198	1729.8

Discussion

La pertinence physiologique de l'augmentation de l'activité BChE associée à l'hyperlipidémie reste à élucider et plusieurs hypothèses ont été formulées dans ce sens parmi lesquelles on pourrait citer l'effet de l'hyperlipidémie sur le changement de la structure tertiaire et quaternaire de l'enzyme. En effet, il a été démontré in vitro et en milieu hydrophobe une élévation de l'activité de l'Acétylcholinestérase (AChE) sachant que cette dernière présente une structure très similaire à la PChE (3). Cependant, la concentration des lipides dans le sérum ne pourrait jamais égaler celle produite in vitro. Une autre explication possible est que l'expression du gène PChE est régulée à la hausse par l'hyperlipidémie. Malheureusement, aucune donnée n'est disponible quant à la manière dont les taux des lipides contrôlèrent l'expression et la traduction du gène PChE (24).

Il a été supposé également que les cholinestérases pourraient avoir une fonction dans le métabolisme des lipoprotéines. Une association entre l'activité pseudocholinestérase et le métabolisme des lipoprotéines a été observée chez les patients diabétiques de type II (25).

Comme l'indique la littérature l'hypertriglycéridémie, l'hypercholestérolémie et l'élévation du LDL sont associées à une activité élevée de la PChE et une forte relation est mise en évidence entre la PChE et l'AIP mais également entre la PChE et l'ERF.

Ces résultats renforcent les suggestions de la relation entre l'activité PChE et le métabolisme des lipoprotéines, principalement les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) (10.11.12.26) et des LDL (27).

Une augmentation de l'activité des PChE a été suggérée par certains auteurs comme un facteur de risque de maladies cardio-vasculaires et le Ratio CRF (PChE / HDL) a été proposé comme un indice du risque athérogène au même titre que le rapport Cholestérol / HDL (22.28). Conformément à nos attentes nos résultats indiquent que le ratio CRF est non seulement associée au ratio cholestérol/HDL mais également avec l'AIP qui présente une valeur prédictive du risque cardiovasculaire plus forte au-delà du ratio cholestérol/HDL (29).

Conformément aux données de rares publications, l'activité l'EChE est restée inchangée chez les sujets avec une dyslipidémie. Nos résultats indiquent que les dyslipidémies sont associées différemment à l'activité des deux cholinestérases. L'explication de ces

différences pourrait être due au fait que les cholinestérases libres et associées à la membrane érythrocytaire réagiraient différemment aux changements lipidiques dans le sang (24).

Comme l'indique certaines études une corrélation significative est constatée entre l'HbA1c et l'activité de la PChE. En effet, une corrélation positive entre les taux sériques de l'insuline, du peptide C et des acides gras avec la PChE a été déjà indiquée où l'explication formulée stipule que la résistance à l'insuline et une élévation du flux d'acides gras libres du tissu adipeux vers le foie stimulerait la synthèse hépatique de la cholinestérase sérique (30). Néanmoins, selon nos résultats le déséquilibre glycémique n'affecte pas de façon indépendante l'activité de la PChE, mais il semble agir plutôt comme un cofacteur aggravant l'élévation de l'activité de la PChE en présence de dyslipidémie.

Conclusion

Dans l'ensemble, nos résultats indiquent que l'hyperlipidémie est associée à une augmentation uniquement de l'activité de la BChE sérique (PChE) et la mesure du CRF peut être un outil supplémentaire précieux pour prédire le risque de maladie cardiovasculaire. La combinaison d'un mauvais contrôle glycémique et de la dyslipidémie semble booster l'activité de la PChE.

Référence:

- 1-E Stedman E, Easson LH .Choline-esterase. An enzyme present in the blood-serum of the horse. *Biochem J.* 1932;26(6):2056-66. doi: 10.1042/bj0262056.
- 2-Aldridge WN Serum esterases. 1. Two types of esterase (A and B) hydrolysing *p*-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem J.* 1953 Jan; 53(1): 110–117. doi: 10.1042/bj0530110
- 3-Frenkel EJ, Roelofsen B, Brodbeck U, van Deenen LL, Ott P. Lipid-Protein Interactions in Human Erythrocyte-Membrane Acetylcholinesterase. *European Journal of Biochemistry* 1980. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb04804.x>
- 4- Lockridge O. Structure of human serum cholinesterase. *Bioessays.* 1988 Oct;9(4):125-8. doi: 10.1002/bies.950090406
- 5- Massoulie J, Sussman J, Bon S, Silman I. Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase *Prog Brain Res.* 1993;98:139-46.

- doi: 10.1016/s0079-6123(08)62391-2
- 6- Patocka J, Kuca K, Jun D. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase--important enzymes of human body. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2004; 47(4):215-28.
- 7- Giacobini E. Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease. *Neurochem Res*. 2003 Apr;28(3-4):515-22. doi: 10.1023/a:1022869222652
- 8- Taylor P, Radić Z. The cholinesterases: from genes to proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1994;34:281-320. doi: 10.1146/annurev.pa.34.040194.001433.
- 9- Kutty M, Payne RH. Serum Pseudocholinesterase and Very-Low-Density Lipoprotein Metabolism *J Clin Lab Anal*. 1994;8(4):247-50. doi: 10.1002/jcla.1860080411.
- 10- Cucuianu M, Popescu TA, Opincaru A, Haragus S: Serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin various types of hyperlipoproteinemia; *Clin Chim Acta*. 1975 Feb 22;59(1):19-27. doi: 10.1016/0009-8981(75)90213-2.
- 11- Chu MI, Fontaine P, Kutty KM, Murphy D, Redheendran R: Cholinesterase in serum and low density lipoprotein of hyperlipidemic patients; *Clin Chim Acta*. 1978 Apr 3;85(1):55-9. doi: 10.1016/0009-8981(78)90100-6
- 12- Jain R, Kutty KM, Huang SN, Kean K: Pseudocholinesterase/high density lipoprotein cholesterol ratio in serum of normal persons and of hyperlipoproteinemias; *Clin Chem*. 1983 Jun;29(6):1031-3.
- 13- Randell EW, Rogers B, Smith E: Production of butyrylcholinesterase by Caco-2 cells: lack of relationship with triglyceride production. September 2001. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58(9):1327-32. doi:10.1007/PL00000943
- 14- Edward W Randell, Maria S Mathews, Hongwei Zhang, Jim S Seraj, Guang Sun. Relationship between serum butyrylcholinesterase and the metabolic syndrome. *Clin Biochem*. 2005 Sep;38(9):799-805. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.04.008.
- 15- Rustemeijer C, Schouten JA, Voerman HJ, Beynen AC, Donker AJ, Heine RJ. Is pseudocholinesterase activity related to markers of triacylglycerol synthesis in Type II diabetes mellitus? *Clin Sci (Lond)*. 2001 Jul;101(1):29-35.
- 16- Ahmed A.J. M, Musab M K, Adnan AZ. Cholinesterases activities in diabetic and hyperlipidemic patient October 2019. *Indian Journal of Public Health Research and Development*. 10(10). doi:10.5958/0976-5506.2019.03297.2
- 17- Schmidt E, Gerhardt W, Henkel E. Proposal of Standard Methods for the Determination of Enzyme Catalytic Concentrations in Serum and Plasma at 37 °C. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992;30:163-170.
- 18- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499-502.
- 19- Chianéa D, Adam F, Capron JL, Corbé H. Adaptation of a colorimetric method for automated measurement of cholinesterase activity in plasma and whole blood hemolysate. *Ann Toxicol Anal*. 2001; 13(1): 41-48.
- 20- Castelli WP, Abbott RD, McNamara PM. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* 1983 Apr;67(4):730-4. doi: 0.1161/01.cir.67.4.730.
- 21- Dobíásová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem*. 2001 Oct;34(7):583-8. doi: 10.1016/s0009-9120(01)00263-6.
- 22- Kutty KM, Jain R, Huang S, Kean K. Serum pseudocholinesterase: high density lipoprotein cholesterol ratio as an index of risk for cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 1981;115(1):55-61. doi: 10.1016/0009-8981(81)90106-6.
- 23- Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus. World Health Organization 2011. *WHO/NMH/CHP/CPM/11.1*
- 24- Kálmán J, Juhász A, Rakonczay Z, Abrahám G, Zana M, Boda K, Farkas T, Penke B, Janka Z. Increased serum butyrylcholinesterase activity in type IIb hyperlipidaemic patients. *Life Sci*. 2004 Jul 23;75(10):1195-204. doi: 10.1016/j.lfs.2004.02.019.
- 25- Rustemeijer C, Schouten JA, Voerman HJ, Beynen AC, Donker AJ, Heine RJ. Is pseudocholinesterase activity related to markers of triacylglycerol synthesis in Type II diabetes mellitus? *Clin Sci (Lond)* (2001) 101 (1): 29–35. <https://doi.org/10.1042/cs1010029>.
- 26- Magarian EO, Dietz AJ. Correlation of cholinesterase with serum lipids and lipoproteins. *J Clin Pharmacol* 1987; 27: 819 ± 20.
- 27- Kutty KM, Rowden G, Cox AR. Interrelation ship between serum b-lipoprotein and cholinesterase. *Can J Biochem* 1973; 51: 883 ± 7.
- 28- Alcântara VM, Chautard-Freire-Maia EA, Scartezini M, Cerci MSJ, Braun-Prado K, Picheth G. Butyrylcholinesterase activity and risk factors for coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2002; 62: 399 - 404. doi: 10.1080/00365510260296564
- 29- Dobíásová M. [AIP--atherogenic index of plasma as a significant predictor of cardiovascular risk: from research to practice]. *Vnitr Lek*. 2006 Jan;52(1):64-71.
- 30- Cucuianu M, T. Nistor T, N. Hancu N. Serum cholinesterase activity correlates with serum insulin, C-peptide and free fatty acids levels in patients with type 2 diabetes, *Rom. J. Intern. Med*. 40 (2002) 43–5.