

นิพนธ์ต้นฉบับ**รูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเลือดประชากรไทยภาคเหนือ**

วารณี จิตอารี*, ทิพวรรณ ประภามณฑล*, ศักดิ์ระพี อินชื้ออาจ*

บทคัดย่อ

ความเป็นมา เอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรสนิยมนำมาใช้ตรวจการได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และมีระดับการทำงานที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยของแต่ละบุคคล เช่น เพศ อายุ การได้รับสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และรูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการทำงานของเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรสกับรูปแบบทางพันธุกรรม

วิธีการ ศึกษาแบบภาคตัดขวาง โดยเลือกศึกษาในกลุ่มประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเลือดและรูปแบบโดยวิธีของ Ellman และ Genest and Kalow ตามลำดับ วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิติเพื่อหาความถดถอยโดยพิจารณาความสัมพันธ์สหสัมพันธ์

ผลการศึกษา กลุ่มตัวอย่างมีจำนวน 133 คน (ชาย = 76, หญิง = 57) มีค่าเฉลี่ยระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสเฉลี่ยเท่ากับ 5.08 ± 2.15 U/ml พบรูปแบบทางพันธุกรรม 4 แบบ คือ UU (ร้อยละ 67.6) UA (ร้อยละ 17.3) AF (ร้อยละ 14.3) และ UF (ร้อยละ 0.75) พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างรูปแบบและระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ที่ $p < 0.05$

สรุป การประเมินผู้ที่ได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ควรจะคำนึงถึงรูปแบบทางพันธุกรรมร่วมด้วย วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2549; 39: 42-51.

คำสำคัญ: เอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

* สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : Genetic Variants of Plasma Cholinesterase Enzyme in the Northern Thai Population

Warunee Jitaree*, Tipawan Prapamontol*, Sukrapee Inzeearj*

Background Cholinesterase enzyme activities are mostly used for pesticide exposure monitoring and they are influenced to individual health, age, sex, anti-cholinesterase inhibitors and genetic variants of cholinesterase enzyme.

Objective This study assessed the relationship between BChE level and in Chiang Mai strawberry farmers.

Method A cross-sectional study was conducted Chiang Mai population. Collected blood samples were determined for BChE activities and BChE genetic variants by using Ellman's and Genest&Kalow spectrophotometric method, respectively. Correlation between BChE level and BChE genetic variants were analyzed by regression analysis.

Results In all 133 farmers (male = 76, female = 57), the mean ($\pm$ SD) level of BChE were 5.201 $\pm$ 2.226 U/ml. Four genetic variants were found as UU (67.6%), UA (17.3%), AF (14.3%) and UF (0.75%) and found statistic significant between enzyme activity and genetic variants at $p < 0.05$.

Conclusion Therefore, the evaluation of pesticide intoxication cases by using cholinesterase level should be also concerned with BChE genetic variants. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2006; 39: 42-51.

Key words: Cholinesterase enzyme, pesticide

* Research Institute of Health Sciences

บทนำ

เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase enzyme: ChE; E.C. 3.1.1) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาท และการสื่อสารประสาท มีหลายปัจจัยหลายประการที่มีผลเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ เช่น เพศ อายุ ภาวะ หรือ โรคบางชนิด รวมทั้งการได้รับสารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงาน เช่น สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต

ดังนั้นการวินิจฉัยผู้ที่ได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในทางพิษวิทยาและนิติเวชศาสตร์ จึงนิยมตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเลือด หรือที่เรียกว่าบิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (Butyryl cholinesterase: BuChE; E.C. 3.1.1.8) เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ระดับการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช¹

จากค่าปกติของเอนไซม์ BuChE ที่กำหนดในกลุ่มต่างๆ นั้น พบว่าค่าปกติของเอนไซม์มีช่วงค่อนข้างกว้าง

และแตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม เช่น ในต่างประเทศกำหนดค่าปกติอยู่ระหว่าง 4,000 ถึง 12,000 U/L² โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่กำหนดให้มีค่าตั้งแต่ 4,300 U/L ขึ้นไป³ ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อระดับการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม คือ รูปแปรทางพันธุกรรม ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำหนดการสร้างเอนไซม์ให้มีระดับที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล รูปแปรของยีน BuChE ที่พบได้แพร่หลายมี 4 ลักษณะคือ U (Usual), A (Atypical), S (Silent) และ F (Fluoride resistant) gene บางรูปแปรจะกำหนดให้เอนไซม์มีระดับต่ำ เมื่อบุคคลเหล่านี้ได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพียงเล็กน้อย ก็จะตอบสนองและเกิดอาการแพ้พิษอย่างชัดเจน ในขณะที่รูปแปรอื่นๆ ของยีนกำหนดการสร้างเอนไซม์ที่มีค่าสูง ก็จะไม่แสดงอาการแพ้พิษให้เห็นแม้ว่าจะได้รับในปริมาณสูง

การตรวจหา ยีน BuChE นั้นสามารถตรวจหาได้โดยวิธีทางอนุชีววิทยาและทางเคมีคลินิก ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธีการทางเคมีคลินิกในการตรวจ เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมที่จะไปใช้งานในภาคสนามและใช้เวลาตรวจน้อย การตรวจด้วยวิธีนี้จะอาศัยหลักการของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BuChE โดยใช้สาร inhibitor 2 ชนิด ได้แก่ Dibucaine และ Sodium Fluoride ซึ่งจะให้ค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานจาก Dibucaine หรือเรียกว่า Dibucaine Number (DN) และ Fluoride เรียกว่า Fluoride Number (FN) ซึ่งค่า DN และ FN จะมีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับรูปแปรทางพันธุกรรม เช่น ถ้ามี UU phenotype จะมีค่า DN อยู่ระหว่าง 71-90 ส่วน UA, AA จะมีค่า DN น้อยกว่า 20 และ 40-70 ตามลำดับ ส่วน AF จะใช้ค่า FN ซึ่งจะมีค่า FN น้อยกว่า 44^{4,5}

ดังนั้นการแปรผลการสัมผัสสารเคมีในผู้ที่มี BuChE ต่ำกว่าปกติควรจะวินิจฉัยควบคู่กับรูปแปรทางพันธุกรรม ซึ่งพบว่ารูปแปรที่มีระดับเอนไซม์สูงสุดได้แก่รูปแปรแบบ UU และน้อยที่สุดสำหรับรูปแปรแบบ SS และ FF นอกจากนี้ยังมีรูปแปรอื่นๆ อีก ซึ่งมีความถี่ที่จะตรวจพบได้น้อย เช่น รูปแปรแบบ J และ K เป็นต้น⁵

การศึกษานี้จึงได้ ออกแบบการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Cross sectional Study) เก็บข้อมูลการใช้การสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและพฤติกรรมที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับพิษ รวมทั้งเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไป

ตรวจหาระดับการทำงานของเอนไซม์ BuChE และรูปแปรทางพันธุกรรมด้วยวิธีทางเคมีคลินิก

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสกับรูปแปรทางพันธุกรรมด้วยวิธีทางเคมีคลินิก

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ Cross sectional study ได้เลือกศึกษาในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยมีเกณฑ์คัดเลือกหลักมีอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป หากอายุต่ำกว่า 18 ปีต้องการเข้าร่วมโครงการจะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ปกครองเป็นลายลักษณ์อักษร อาสาสมัครทุกคนมีสุขภาพดี มีความยินดีเข้าร่วมกิจกรรมได้ตลอดโครงการ ยินดีให้ข้อมูลการทำเกษตร การใช้สารเคมี และยินดีให้เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ระดับการทำงานของ BuChE และรูปแปรทางพันธุกรรม โดยอาสาสมัครทุกคนจะได้รับทราบผลการตรวจและคำปรึกษา โดยอาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์จะถูกร้องขอให้ส่งลายมือชื่อในใบยินยอมให้ทำวิจัยได้อาสาสมัครที่มีคุณสมบัติครบตามเกณฑ์จำนวน 133 คน ประกอบด้วยเพศชาย 76 ราย เพศหญิง 57 ราย

วัสดุและวิธีการ

(1) การเก็บข้อมูลด้วยแบบสัมภาษณ์

การวิจัยนี้ได้เก็บรวบรวมข้อมูลในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง ธันวาคม 2547 โดยข้อมูลที่เก็บด้วยแบบสัมภาษณ์จะแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ 1) ข้อมูลทั่วไป 2) ข้อมูลการประกอบอาชีพและการสัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

(2) การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดในสารกันการแข็งตัวของเลือดชนิด Sodium Heparine ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตรเก็บรักษาในกระติกน้ำแข็งและนำส่งเพื่อวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ต่อไป เมื่อถึงห้องปฏิบัติการจึงนำตัวอย่างเลือดที่เก็บจากอาสาสมัครมาปั่นแยกน้ำเลือด ด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 1,300 rpm นาน 15 นาที แยกส่วนของ

น้ำเลือดเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์

(3) การวิเคราะห์ระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ในตัวอย่างเลือด

การวัดระดับการทำงานของ BuChE จะใช้วิธีของ Ellman⁶ ซึ่งจะนำตัวอย่างน้ำเลือดเจือจางในน้ำกลั่น อัตราส่วน 1:50 ตูมา 100 ไมโครลิตรเติมลงในสารละลาย 0.5 mM DTNB (5, '5'-dinitro (2-nitrobenzoic acid))

ปริมาตร 3 มิลลิลิตร pH 7.4 ซึ่งเตรียมใน phosphate buffer ความเข้มข้น 5.0 mM แล้วจึงเติม 156 mM Butyrylthiocholine Iodide ในหลอดทดลอง ซึ่งอุ่นที่ 25 องศาเซลเซียส และจับเวลานาน 15 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย 12 mM Eserine และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร เทียบกับหลอด Blank แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณหาระดับการทำงานของเอนไซม์ดังนี้

$$\text{Enzyme Activity} = \frac{Abs_{test} - Abs_{blank}}{\epsilon} \times \frac{TV}{dilution} \times \frac{1}{t}$$

Abs_{test} = Absorbance in test tube

Abs_{blank} = Absorbance in blank tube

ϵ = Extinction Coefficient

TV = Total Volume

$Dilution$ = dilution factor

t = incubation time

(4) การตรวจหารูปแปรทางพันธุกรรม ของ เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในตัวอย่างเลือด

วิธี Kalow and Genest⁷ เตรียมการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธี Ellman ข้างต้น แต่ให้เพิ่มหลอดสำหรับ หาค่า DN และ FN อย่างละ 2 หลอด โดยก่อนนำไปแช่ใน อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิให้เต็ม 0.3mM dibucaine และ 20mM sodium fluoride ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใน

หลอด DN และ FN ตามลำดับ แล้วจึงนำไปอุ่นในอ่างน้ำ เพื่อวิเคราะห์ตามขั้นตอนข้างต้นต่อไป วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร นำมาคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จะได้ค่า DN และค่า FN แล้วจึงนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับตารางต่อไปนี้เพื่อระบุ รูปแปรทางพันธุกรรมของเอนไซม์

ตารางที่ 1 แสดงค่า Dibucaine and Fluoride number ของรูปแปรทางพันธุกรรม

BuChE phenotype	Dibucaine Number (DN)	Fluoride Number (FN)
UU	≥ 77	≥ 55
UF	72-76	≥ 53
UA	48-72	≥ 44
AF	45-59	<44
FF	64-69	<44
AA	>35	-

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร การใช้สารเคมีและพฤติกรรมเสี่ยงจะทำการวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนาเป็นค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ข้อมูลระดับการทำงานของ BuChE จะวิเคราะห์ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง เช่น กลุ่มอายุ กลุ่มเพศชายและหญิง กลุ่มเกษตรกรที่ฉีดพ่นด้วยตัวเอง รูปแปรทางพันธุกรรม โดยใช้ independent paired t-test และ Anova นอกจากนี้ยังหาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแปรกับระดับการทำงานของ BuChE โดยทดสอบหาค่าความสัมพันธ์และหาสมการเพื่อพยากรณ์ระดับเอนไซม์จาก Regression ตามลำดับ

ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้รับคำยินยอมจากอาสาสมัครทุกรายโดยสมัครใจ และมีหนังสือยินยอมลงลายมือชื่อ

พร้อมพยานเพื่อเป็นหลักฐานก่อนการดำเนินการวิจัยเรียบร้อยแล้ว

ผลการศึกษา

ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลการสัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

เกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการมีจำนวนทั้งหมด 133 คน เป็นเพศชายร้อยละ 57.1 เพศหญิงร้อยละ 42.9 มีอายุระหว่าง 16 ถึง 75 ปี ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกร จึงสัมภาษณ์เพิ่มเติมเพื่อเก็บข้อมูลการสัมผัสต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พบว่ากลุ่มตัวอย่างร้อยละ 77.4 ทำหน้าที่ผสมสารเคมี และร้อยละ 78.2 ทำหน้าที่ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรจะสวมหน้ากาก ถุงมือ รองเท้าบูท หมวก กางเกงขายาว ชะโลมและฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช มีเพียงร้อยละ 6.0 เท่านั้นที่จะสวมเสื้อกันฝนและแว่นตา

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มประชากร

ข้อมูลทั่วไป	ร้อยละของประชากร (จำนวนตัวอย่าง)		
	เพศชาย (n=76)	เพศหญิง (n=57)	รวม (n=133)
1. อายุ (ปี)			
น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 ปี	2.2 (3)	0 (0)	2.2 (3)
ตั้งแต่ 21 ถึง 60 ปี	49.2 (66)	41.3 (55)	90.9 (121)
มากกว่าหรือเท่ากับ 60 ปี	5.2 (7)	1.5 (2)	6.7 (9)
2. จำนวนปีที่ทำการเกษตร			
น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 ปี	39.5 (30)	38.6 (22)	39.1 (52)
ตั้งแต่ 11-20 ปี	46.1 (35)	47.4 (27)	46.6 (62)
ตั้งแต่ 21-30 ปี	11.8 (9)	12.3 (7)	12.0 (16)
ตั้งแต่ 31 ปีขึ้นไป	2.6 (2)	1.8 (1)	2.3 (3)
3. ทำหน้าที่เป็นผู้ฉีดพ่นสารเคมี			
ใช่	86.8 (66)	50.9 (29)	71.4 (95)
ไม่เป็น/ไม่ใช่	13.2 (10)	49.1 (28)	28.6 (38)

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มประชากร (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	ร้อยละของประชากร (จำนวนตัวอย่าง)		
	เพศชาย (n=76)	เพศหญิง (n=57)	รวม (n=133)
4. ชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้			
สารเคมีกำจัดแมลง	96.1 (73)	94.7 (54)	95.3 (127)
สารเคมีกำจัดวัชพืช	92.1 (70)	86.0 (49)	89.5 (119)
สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา	94.7 (72)	94.7 (54)	94.7 (126)
5. การใช้อุปกรณ์ป้องกันสารเคมี			
หน้ากาก	38.2 (29)	29.8 (17)	34.5 (46)
ถุงมือ	59.2 (45)	54.4 (31)	53.4 (71)
รองเท้าบูท	63.2 (48)	54.4 (31)	59.4 (79)
แว่นตา	6.6 (5)	5.3 (3)	6.0 (8)
หมวก	57.9 (44)	50.9 (29)	54.8 (73)
กางเกงขายาว	61.8 (47)	50.9 (29)	57.1 (76)
เสื้อกันฝน	6.6 (5)	5.3 (3)	6.0 (8)

ระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสและ
รูปแบบทางพันธุกรรมในเกษตรกร

ระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสใน
น้ำเลือดของเกษตรกร พบว่ามีค่าเฉลี่ยโดยรวมเท่ากับ
5.08 ± 2.15 U/ml เมื่อจำแนกกลุ่มของเกษตรกรตามเพศ
อายุ ระยะเวลาทำการเกษตรและหน้าที่ฉีดพ่นสารเคมี
พบว่ามีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ทำการเกษตรน้อยกว่า
หรือเท่ากับ 10 ปี กับกลุ่มที่ทำการเกษตรระหว่าง 11-20
ปี ที่ p<0.05 ส่วนกลุ่มอื่นๆ นั้น ไม่พบว่ามี ความแตกต่าง
ตามตารางที่ 3 รูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์
บิวทิลโคลีนเอสเตอเรสพบว่ามี 4 รูปแบบ คือ UU, UA,

UF และ AF จำนวน 90, 23, 1 และ 19 รายตามลำดับ
โดยรูปแบบที่มีระดับเอนไซม์สูงสุดได้แก่ UF (7.060 U/
ml) ถัดมาเป็น UU (6.389 ± 1.350 U/ml) และ UA (3.465
± 1.443 U/ml) รูปแบบที่มีระดับเอนไซม์ต่ำที่สุดได้แก่ AF
มีระดับการทำงานของเอนไซม์เท่ากับ 1.60 ± 0.409
U/ml

เมื่อเปรียบเทียบระดับเอนไซม์บิวทิลโคลีน
เอสเตอเรสในน้ำเลือดกับรูปแบบทางพันธุกรรมของกลุ่ม
ตัวอย่างทั้งหมด กลุ่มที่ฉีดพ่นและไม่ได้ฉีดพ่นสารเคมี
ด้วยตัวเอง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ที่ p<0.01 ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ทางสถิติของปัจจัยต่างๆ กับระดับการทำงานของเอนไซม์

ปัจจัย	จำนวน (n=133)	BChE Level (U/ml)		
		ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าสถิติ
1. เพศ				0.719 ^{NS}
- ชาย	76	5.320	2.270	
- หญิง	57	5.040	2.177	
2. อายุ				1.968 ^{NS}
- น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 ปี	3	4.655	3.220	
- ตั้งแต่ 21 ถึง 60 ปี	121	5.327	2.176	
- มากกว่าหรือเท่ากับ 60 ปีขึ้นไป	9	3.679	2.280	
3. ปีเพาะปลูก				3.632*
- น้อยกว่า 10 ปี	52	4.465	2.369	
- ตั้งแต่ 11 ถึง 20 ปี	62	5.641	2.066	
- ตั้งแต่ 21 ถึง 30 ปี	16	5.988	1.645	
- ตั้งแต่ 31 ปี ขึ้นไป	3	4.658	2.809	
4. หน้าที่ฉีดพ่นสารเคมี				1.577 ^{NS}
- ใช่	95	5.679	2.235	
- ไม่ใช่/ไม่ใช่คนฉีดพ่นสารเคมี	38	5.009	2.205	

หมายเหตุ NS = Non significant * p value < 0.05

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบการปนเปื้อนทางพันธุกรรมกับระดับการทำงานของเอนไซม์

รูปแปรทางพันธุกรรม	จำนวน (n=133)	BChE Level (U/ml)				
		ค่าสูงสุด-ค่าต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานฐาน	ค่าสถิติ	r
1. ประชากรทั้งหมด					93.419**	0.754
UU	90	3.219-11.33	6.389	1.350		
UA	23	1.289-5.579	3.443	1.363		
UF	1	7.060	7.060	-		
AF	19	0.939-2.408	1.600	0.409		
2. ทำหน้าที่ฉีดพ่นสารเคมี					69.710**	0.751
UU	62	3.219-9.680	6.244	1.310		
UA	16	1.460-5.579	3.465	1.443		
UF	1	7.060	7.060	-		
AF	16	0.939-2.408	1.640	0.420		
3. ไม่ใช่วิธี/ไม่ได้ทำหน้าที่ฉีดพ่นสารเคมี					33.680**	0.748
UU	28	3.617-11.33	6.711	1.405		
UA	7	1.289-4.503	3.394	1.268		
UF	-	-	-	-		
AF	3	1.057-1.700	1.386	0.321		

หมายเหตุ ** p value < 0.01

อภิปรายและสรุปผล

ลักษณะของเกษตรกรอาสาสมัครในโครงการพบว่ามีความคล้ายคลึงกัน เมื่อทดสอบทางสถิติด้วย Unpaired t-test ไม่พบความแตกต่างของ อายุ ระยะเวลาการทำงาน เกษตร พื้นที่และปริมาณของสารเคมีที่ใช้ ระหว่างกลุ่มเพศชายและหญิง ซึ่งมีอยู่ร้อยละ 57.1 และ 42.9 ตามลำดับ

สำหรับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง เพศ อายุ และหน้าที่ในการฉีดพ่นสารเคมี แต่พบว่าเกษตรกรที่ทำการเกษตรมาแล้ว 11-20 ปี มีระดับเอนไซม์สูงกว่ากลุ่มที่ทำการเกษตรน้อยกว่า 10 ปี อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เพราะเกษตรกรที่ทำมานานเกินกว่า 10 ปีนั้นมักจะขยายพื้นที่ทำการเกษตรเพิ่มขึ้น มีแรงงานในไร่เพิ่มขึ้น จึงไม่ได้ทำหน้าที่ฉีดพ่นสารเคมีหรือดูแลด้วยตนเอง โอกาสที่จะเสี่ยงต่อการสัมผัสสารเคมีจะน้อยลงกว่ากลุ่มที่เริ่มทำการเกษตรใหม่ ระดับเอนไซม์ที่ตรวจได้เมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบทางพันธุกรรม ซึ่งพบว่ามี 4 รูปแบบในกลุ่มประชากรนี้คือ UU, UA, UF และ AF โดยพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.01$ เมื่อจำแนกตามกลุ่มที่ฉีดพ่นสารเคมี ก็พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.01$ โดยจะสังเกตเห็นว่ารูปแบบที่พบมากที่สุดคือ UU มีถึงร้อยละ 67.6 ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีระดับเอนไซม์อยู่ในช่วง 3.22-11.33 U/ml มีค่ามัธยฐานเท่ากับ 6.414 U/ml หากเกษตรกรกลุ่มดังกล่าวสัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชแล้ว อาจจะพบว่าระดับที่ลดลงนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ ในขณะที่กลุ่มที่มีรูปแบบ AF จะมีระดับเอนไซม์ต่ำมากคืออยู่ในช่วง 0.939-2.408 U/ml มีค่ามัธยฐาน 1.568 U/ml จัดว่าอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับพิษ เมื่อพิจารณาในกลุ่มฉีดพ่นสารเคมีจะมีระดับเอนไซม์จะพบว่ารูปแบบ AF (0.939-2.408 U/ml) มีระดับเอนไซม์ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้ฉีดพ่นสารเคมี (1.057-1.700 U/ml) ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากรณีวินิจฉัยเพียงการวัดระดับเอนไซม์นั้นอาจจะไม่เพียงพอที่จะระบุระดับการได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช หากมีการวัดรูปแบบทางพันธุกรรมร่วมด้วยจะเป็นประโยชน์ยิ่งขึ้น

วิจารณ์ผล

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับการทำงานของเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส มีหลายประการ เช่น ปัจจัยของเพศและอายุ โดยเพศชายจะมีระดับเอนไซม์สูงกว่าเพศหญิง แต่เมื่ออายุเกินกว่า 60 ปีแล้วจะไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศ^{8,9} และหญิงที่รับประทานยาคุมกำเนิดจะมีระดับเอนไซม์ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ทานยา^{8,9} ในผู้สูงอายุและเด็กเล็กจะมีระดับเอนไซม์ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ⁹ นอกจากนี้ยังพบว่าโรคและภาวะบางอย่างมีผลรบกวนต่อระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส เช่น ภาวะขาดสารอาหาร โรคทูปโภชนาการ โลหิตจาง ซึ่งจะมีระดับต่ำลง^{10,11} ผู้ป่วยโรคตับก็จะมีระดับเอนไซม์ต่ำเช่นกัน^{11,12} มีการศึกษาอื่นๆ ที่หาความสัมพันธ์ของรูปแบบทางพันธุกรรม โดยเฉพาะ Silent gene (S genotype) ซึ่งมักพบร่วมกับโรคอื่น เช่น โรคไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) และ Nephrotic Syndrome¹³ แต่ปัจจุบันพบว่ามีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่สัมพันธ์ต่อระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสและภาวะโรคต่างๆ คือ เอนไซม์พารออกซอนเนส¹⁴

อย่างไรก็ตามการติดตามระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในอาสาสมัคร ควรจะมีการเก็บข้อมูลการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ เช่น โรคประจำตัว ยาที่รับประทานเป็นประจำ และปัจจัยต่างๆ ร่วมด้วย เพื่อช่วยในการแปลผล การศึกษานี้ได้เก็บข้อมูลการเจ็บป่วย และอาการที่อาจจะเกิดจากการแพ้พิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชร่วมด้วย แต่พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของกลุ่มประชากรมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันทั้งกลุ่ม แต่ปัจจัยที่พบว่าทำให้กลุ่มประชากรมีความแตกต่างกันของระดับเอนไซม์คือปัจจัยทางพันธุกรรม โดยพบว่าความถี่ของยีนแต่ละรูปแบบพบได้มากน้อยต่างกันตามเชื้อชาติ เช่น Fluoride variant มี frequency เท่ากับ 0.0021 ในชาวอะลาสกา Atypical gene พบได้น้อยในชาวตะวันออกบางเชื้อชาติ อาจพบเพียง 1 ใน 25 ล้านคน ความถี่เท่ากับ 0.0002⁵ การศึกษาใน Trinidad พบว่าประชากรมีรูปแบบ UU ร้อยละ 98.5 รูปแบบ UA ร้อยละ 1.5¹⁵ เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่ประชากรส่วนใหญ่มีรูปแบบ UU มากกว่าแบบอื่นๆ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างยีนและระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส อย่างไรก็ตามการตรวจหาการแปรของเอนไซม์ควรจะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular Biology) เพราะการวัดระดับเอนไซม์ด้วยวิธีทางเคมีคลินิกด้วยการหาค่า DN และ FN นั้นมีข้อเสียหากเอนไซม์ของบุคคลนั้นถูกยับยั้งด้วยสารอื่นๆ เช่น Sarin¹⁶, Soman¹⁷, Tabun¹⁸ และสารอื่นๆ ที่เป็น Irreversible inhibitor มาก่อนแล้วจะไม่สามารถทราบได้ว่าค่า DN หรือ FN ที่แท้จริงเท่ากับเท่าใด ทำให้การระบุชนิดของรูปแบบทางพันธุกรรมอาจจะผิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนไปได้ สำหรับการตรวจหาการแปรของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสด้วยเทคนิคอณูชีววิทยามีกระบวนการที่ซับซ้อนกว่าวิธีทางเคมีคลินิก อาจจะไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในภาคสนาม อย่างไรก็ตามการตรวจหาระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสก็เป็นวิธีการที่ทำได้อย่างสะดวกรวดเร็ว แต่การแปลผลต้องคำนึงถึงภาวะและโรคต่างๆ ของอาสาสมัคร รวมทั้งรูปแบบทางพันธุกรรมด้วย ซึ่งจะช่วยลดความผิดพลาดในการวินิจฉัยระดับการแพ้พิษได้มากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. World Health Organization Metabolism and mode of action. Organophosphorus Insecticides: a General Introduction. WHO. Geneva; 1986. p. 39-48.
2. Moss DW and Henderson AR. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry. 2 nd ed. New York: Burtis CA, & Ashwood ER(eds); 1994. p. 735-896.
3. Pongraveevongsa P. and Ruangyuttikarn W. Measurement of Serum Cholinesterase level in Normal Thai People. Chiang Mai Medical Bull 2000; 39 (1-2): 21-29.
4. Davis L., Britten J.J. and Morgan M. Cholinesterase: Its significance in anaesthetic practice. Anaesthesia 1997; 52: 244-60.
5. Kalow W. Genetic Variants of Human Serum Cholinesterase Influence Metabolism of the Muscle Relaxant Succinylcholine. Paramac Ther 1990; 47: 35-60.
6. Ellman G.L., Courtacy D., Andres V. Jr. and Featherstone R.M. A new and rapid colormetric determination of Acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961; 7: 88-95.
7. Kalow W. and Genest K. A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers. Can J. Biochem Physiol 1957; 35: 339-46.
8. Nielson J.B. and Anderson H.R. Cholinesterase Activity in Female Greenhouse Workers Influence of Work Practise and Use of Oral Contraceptives 2002; 44: 234-39.
9. Sidell F. R. and Kaminskis A. Influence of Age, Sex and Oral Contraceptives on Human Blood Cholinesterase Activity. Clin Chem 1975; 21(10): 1393-395.
10. Mittrache J., Passweg J.R., Libura J. and et.al. Anemia: an Indicator for Malnutrition in the Elderly. Ann Hematol 2001; 80: 295-98.
11. Goodal R. Cholinesterase heterogeneity: pharmacogenetic models and clinical implications. Curr Anesth&Critical Care 2004; 15: 29-35.
12. Wilson A., Calvert R.J. and Geoghegan H. Plasma Cholinesterase Activity in Liver Disease: Its value as a Diagnostic Test of Liver Function Compared with Flocculation Test and Plasma Protein Determinations. 1952. J Clin Invest 1952; September 31(9): 815-23.
13. Honda K., Yumura W., Arai J. and et.al. Hereditary Serum Cholinesterase Deficiency

- Associated with Severe Lipid Deposition in the Kidney. Intern Med 1993; February 32(2): 145-51.
14. Sogorb M. A. and Vilanova E. Enzymes Involved in the Detoxification of Organophosphate, Carbamate and Pyrethroid Insecticides Through Hydrolysis 2002; 128: 215-28.
15. Pinto Pereira L.M., Clement Y. and Telang B.V. Distribution of Cholinesterase Activity in the Population of Trinidad. Can J. Physiol Pharmacol 1996; 74: 286-89.
16. United States Senate, 103d Congress, 2d Session.1994. "Material Safety Data Sheet : Lethal Nerve Agents Sarin". (online). 25 May. Available [http://www.gulfweb.org/bigdoc/report / appgd.html/](http://www.gulfweb.org/bigdoc/report/appgd.html/) (November 6, 2004)
17. United States Senate, 103d Congress, 2d Session.1994. "Material Safety Data Sheet : Lethal Nerve Agents Somain". (online). 25 May. Available [http://www.gulfweb.org/bigdoc/ report /appgd.html/](http://www.gulfweb.org/bigdoc/report/appgd.html/) (November 6, 2004)
18. United States Senate, 103d Congress, 2d Session.1994. "Material Safety Data Sheet : Lethal Nerve Agents Tabun". (online). 25 May. Available [http://www.gulfweb.org/bigdoc/report / appgd.html/](http://www.gulfweb.org/bigdoc/report/appgd.html/) (November 6, 2004)