

ระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรส
ของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในจังหวัดเชียงใหม่

**Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase levels of healthy volunteers
who not exposed to pesticides in Chiang Mai Province**

■ ศุภวัชร สิงห์ทอง*
Supawatchara Singhatong*

แขนงวิชาเคมีคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Division of Clinical Chemistry, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, Thailand

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: supawatchara.s@cmu.ac.th)

* Corresponding author (Email: supawatchara.s@cmu.ac.th)

Received March 2017

Accepted as revised May 2017

Abstract

Background: Food contamination of pesticides, especially organophosphate and carbamate, leads to changes in cholinesterase level. Thus, using of previous reference value of enzymes to predict the severity of pesticides exposure may be misleading.

Objectives: To evaluate the recent reference intervals of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) of healthy volunteers who did not expose to pesticides in Chiang Mai Province.

Materials and methods: Three hundred and forty blood samples were collected from healthy volunteers attended in blood donation at Nakornping Hospital, Chiang Mai. The participants did not exposure to pesticides. Level of red blood cell AChE and serum BChE were determined based on spectrophotometric assay. Reference interval was calculated and presented as arithmetic mean $\pm$ SD.

Results: Levels of red blood cell AChE and serum BChE from male healthy volunteers were not statistically different from those of female. Reference interval of red blood cell AChE and serum BChE are 5,136 $\pm$ 1,452 U/L (3,684-6,588 U/L) and 3,164 $\pm$ 1,264 U/L (1,900-4,428 U/L), respectively.

Conclusion: From this study, reference interval of red blood cell AChE and serum BChE can be used for diagnosis of organophosphate and carbamate intoxication in forensic laboratory.

Journal of Associated Medical Sciences 2017; 50(2): 168-175. Doi: 10.14456/jams.2017.16

Keywords: Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, human red blood cell, serum

บทคัดย่อ

ที่มาและความสำคัญ: การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมทในอาหาร ทำให้ระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่งผลให้การใช้อำนาจอิงเดิมของเอนไซม์เพื่อทำนายความรุนแรงของการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชอาจมีความคลาดเคลื่อนได้

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในจังหวัดเชียงใหม่ สำหรับใช้เป็นค่าอ้างอิงที่เหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการทางพิษวิทยา

วัสดุและวิธีการ: วัดระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 340 ราย จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณช่วงค่าอ้างอิง

ผลการศึกษา: ระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชทั้งเพศชายและเพศหญิงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ช่วงค่าอ้างอิงเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี มีค่าเท่ากับ $5,136 \pm 1,452$ U/L ($3,684$ - $6,588$ U/L) และ $3,164 \pm 1,264$ U/L ($1,900$ - $4,428$ U/L) ตามลำดับ

สรุปผลการศึกษา: ช่วงค่าอ้างอิงของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมจากการศึกษา สามารถนำไปใช้เป็นค่าอ้างอิงสำหรับการตรวจวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในห้องปฏิบัติการพิษวิทยาได้

Journal of Associated Medical Sciences 2560; 50(2): 168-175. Doi: 10.14456/jams.2017.16

คำสำคัญ: อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส เม็ดเลือดแดงมนุษย์ ซีรัม

บทนำ

สารกำจัดศัตรูพืช (pesticides) ถูกนำมาใช้เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรและป้องกันโรคที่มีแมลงเป็นพาหะ ประเทศไทยซึ่งอยู่ในแถบเขตร้อน ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม มีการใช้สารเคมีกลุ่มนี้มาเป็นเวลานานและเพิ่มปริมาณการใช้ขึ้นทุกปี¹ ปัจจุบันพบว่า สารกำจัดแมลง (insecticides) เป็นกลุ่มที่นิยมนำมาใช้อย่างแพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากใช้ได้ง่าย ราคาไม่แพงมาก แต่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม จากสถิติการนำเข้าสารกำจัดแมลงโดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พบว่าในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยนำเข้าสารกำจัดแมลงมากถึง 12,927 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,684 ล้านบาท² สารกำจัดแมลงกลุ่มที่มีการใช้มากที่สุดคือ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) รองลงมาคือ กลุ่มคาร์บาเมต (carbamate) สารทั้งสองกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมสูง มีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกันคือ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (cholinesterase; ChE) แต่แตกต่างกันใน

รูปแบบของการออกฤทธิ์ กล่าวคือ ออร์กาโนฟอสเฟตยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ChE แบบผันกลับไม่ได้ (irreversible process) ส่วนคาร์บาเมตยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ChE แบบผันกลับได้ (reversible process)³

เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสที่สำคัญในร่างกายมี 2 ชนิดคือ ชนิดที่พบในเม็ดเลือดแดงและเนื้อเยื่อระบบประสาทเรียกว่าอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase; AChE) หรือ true cholinesterase มีหน้าที่ในการย่อยอะซิทิลโคลีน (acetylcholine; ACh)⁴ และชนิดที่พบในซีรัมและเนื้อเยื่อนอกกระบบประสาทเรียกว่า บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส (butyrylcholinesterase; BChE) หรือซูโดโคลีนเอสเทอเรส (pseudo-cholinesterase) มีบทบาทในการกำจัดสารพิษและไฮโดรไลซ์ ACh⁵ สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตหรือสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมตส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ยับยั้งทั้งซีรัม BChE และ erythrocyte AChE

ดังนั้น ระดับ ChE activity โดยเฉพาะในเม็ดเลือดแดงจึงเป็นการตรวจวัดภาวะเป็นพิษทางอ้อมที่สะท้อนให้เห็น

การยับยั้ง AChE ที่จุดต่อในระบบประสาท ซึ่งสามารถใช้ช่วยวินิจฉัยแยกโรคหรือใช้ในการเฝ้าระวังการได้รับสารกำจัดแมลงแบบเรื้อรังได้⁶ ส่วนระดับเอนไซม์ BChE ในซีรัมช่วยประกอบการวินิจฉัยภาวะการเป็นพิษแบบเฉียบพลันจากการได้รับสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตหรือคาร์บาเมตได้⁶

ในปัจจุบันค่าอ้างอิง (reference range) ของระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมที่ใช้กันอยู่ในแต่ละห้องปฏิบัติการทางพิษวิทยาเป็นค่าอ้างอิงที่ไม่ทันสมัย เนื่องจากการใช้มาเป็นเวลามากกว่า 10 ปี อาจไม่เหมาะสมกับสมัยปัจจุบันที่เกษตรกรมีวิถีการดำรงชีวิตที่แตกต่างไปจากในอดีต การทำเกษตรกรรมมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มมากขึ้น ประชากรทั่วไปมีโอกาสสัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้น อาจส่งผลให้ระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของคนในยุคปัจจุบันมีค่าลดลง หากระดับของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสลดต่ำลงมากอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรได้

การวิจัยในครั้งนี้ต้องการศึกษาระดับของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ทั้งอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดงและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืช เพื่อใช้คำนวณเป็นค่าอ้างอิงที่เหมาะสมเป็นปัจจุบันสำหรับวิธีการทดสอบและสำหรับเป็นค่าอ้างอิงในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา

วัสดุและวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างเลือดครบส่วน (Whole blood) และซีรัม

เก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในจังหวัดเชียงใหม่ จากผู้บริจาคโลหิตห้องบริจาคเลือด โรงพยาบาลนครพิงค์ จังหวัดเชียงใหม่ โดยระวังไม่ให้เม็ดเลือดแดงแตก เกณฑ์ในการคัดเลือกอาสาสมัครคือ มีประวัติสุขภาพดี ไม่มีโรคประจำตัวทั้งเพศชายและเพศหญิง ไม่มีภาวะโลหิตจางหรือเป็นพาหะโรคธาลัสซีเมีย ไม่มีอาชีพเกษตรกรรมหรืออาชีพที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารกำจัดศัตรูพืช มีอายุระหว่าง 17-60 ปี เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดที่มีเฮปาริน (heparinized blood) เป็นสารกันเลือดแข็งปริมาตร 2 มิลลิลิตร และในหลอดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็ง (clotted blood) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อนการวิเคราะห์ และวิเคราะห์ตัวอย่างที่ได้ในแต่ละวันให้เสร็จภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังการเจาะเก็บเลือด การศึกษาผ่านการรับรองทางจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการ

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (รหัสโครงการ AMSEC 54 EM 001)

2. การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์

ได้รับความอนุเคราะห์วัดควบคุมคุณภาพทั้งชนิดเลือดครบส่วนและซีรัมจากฝ่ายพิษวิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ สำหรับใช้เป็นวัดควบคุมคุณภาพเพื่อหาความแปรปรวนที่ดีที่สุดของการวิเคราะห์ (optimum conditions variance; OCV) โดยวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสภายในวันเดียวกันและเวลาที่ใกล้เคียงกันจำนวน 20 ครั้ง คำนวณค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%CV) นอกจากนี้ ยังหาความแปรปรวนประจำวันของการวิเคราะห์ (routine conditions variance; RCV) โดยวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในวัดควบคุมคุณภาพร่วมกับการวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในตัวอย่าง โดยกำหนดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสของวัดควบคุมคุณภาพทั้งชนิดเลือดครบส่วนและซีรัมที่วัดได้จะต้องไม่เกิน ±3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ OCV

3. การวัดระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง⁷

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดทดสอบ (AE) (Table 1) สำหรับวัด activity ของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส และชุดควบคุม (AC) (Table 2) สำหรับวัดค่ารบกวนปฏิกิริยาต่างๆ

วัดค่าการดูดกลืนแสงทั้งชุดทดสอบ (AE) และชุดควบคุม (AC) ที่ 520 นาโนเมตร ภายในเวลา 10 นาที โดยใช้น้ำกลั่นปรับ "0" จากนั้นคำนวณค่า activity ของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง ตามสมการ

$$\text{Cholinesterase activity} = [4 - (4\text{AE} / \text{AC})] \times 2,000 \text{ U/L}$$

Table 1 Preparation of acetylcholinesterase experimental sample (AE).

Reagent/sample	Volume (μL)	Remark
1. Saponin solution	950	
2. Whole blood	50	mix
3. Acetylcholine solution	1,000	mix, incubate 25 °C, 10 min
4. Alkaline hydroxylamine	4,000	mix
5. HCl solution	2,000	mix
6. FeCl ₃ solution	2,000	mix, filter, measure of O.D

Table 2 Preparation of acetylcholinesterase control sample (AC).

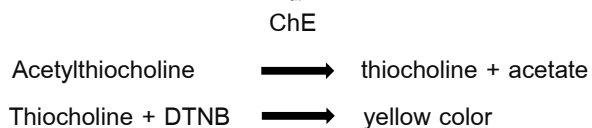
Reagent/sample	Volume (μL)	Remark
1. Acetylcholine solution	1,000	-
2. Alkaline hydroxylamine	4,000	mix
3. Saponin solution	950	mix
4. Whole blood	50	mix
5. HCl solution	2,000	mix
6. FeCl ₃ solution	2,000	mix, filter, measure of O.D

Table 3 Determination of Butyrylcholinesterase.

Reagent/sample	Volume (μL)	Remark
1. 5, 5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)	3,000	-
2. Serum	20	Vortex 3 second
3. 5% acetylthiocholine iodide	100	Vortex 3 second

4. การวัดเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัม⁷

หลักการคือเอนไซม์ ChE ในซีรัมนย่อยสลาย ACh ได้ thiocholine ซึ่งทำปฏิกิริยากับ 5, 5'-dithiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) ได้สารละลายสีเหลือง (Table 3) ความเข้มสีเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับระดับเอนไซม์ ChE ในซีรัม นำไปตรวจวัดหาระดับเอนไซม์ ChE โดยปฏิกิริยาทาง kinetic ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 405 nm ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีดังนี้



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm โดยใช้ DTNB เป็น Blank ที่ 30 s (A1), 60 s (A2), 90 s (A3), 120 s (A4) จากนั้นคำนวณค่า activity ของเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัม ดังสมการ

$$\begin{aligned}
 \text{เมื่อ} \quad & A_2 - A_1 = x_1, \quad A_3 - A_2 = x_2, \quad A_4 - A_3 = x_3 \\
 & \text{Mean} = \left(\frac{X_1 + X_2 + X_3}{3} \right) \\
 \text{สูตร} \quad & \text{ChE} = 23,400 \times \text{Mean U/L}
 \end{aligned}$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 17 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) นำเสนอข้อมูลในรูป mean $\pm$ SD

ผลการศึกษา

1. การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสจากการหาความแปรปรวนในสภาวะที่ดีที่สุด (OCV) และความแปรปรวนประจำวันของการวิเคราะห์ (RCV) ของวัตถุควบคุมคุณภาพชนิดเลือดครบส่วนและซีรัม (Table 4) พบว่าค่าเฉลี่ยความแม่นยำ (OCV และ RCV) ของระดับเอนไซม์ AChE มีค่าเท่ากัน และค่าเฉลี่ยความแม่นยำ (OCV และ RCV) ของระดับเอนไซม์ BChE มีค่าใกล้เคียงกันมาก มีค่าเป็น 2 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ RCV และไม่เกิน 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ OCV แสดงว่า การวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ทั้งสองชนิดของตัวอย่างในแต่ละวันเป็นค่าที่เชื่อถือได้

Table 4 Optimum conditions variance (OCV) and routine conditions variance (RCV) of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase.

Precision	n	AChE (U/L)		BChE (U/L)	
		Mean±SD	%CV	Mean±SD	%CV
OCV	20	4,438±3	0.068	3,248±3	0.092
RCV	20	4,438±2	0.045	3,247±3	0.092

2. การวัดระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง
ระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง
ของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชที่
เป็นผู้บริจาคโลหิตโรงพยาบาลนครพิงค์ จังหวัดเชียงใหม่
จำนวน 340 ราย แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 181 ราย มีอายุ
ตั้งแต่ 17-67 ปี (เฉลี่ย 44.35±11.20 ปี) และเพศหญิง 159 ราย

มีอายุตั้งแต่ 19-65 ปี (เฉลี่ย 42.69±10.78 ปี) พบว่า เพศชาย
มีระดับ AChE ในเม็ดเลือดแดงเท่ากับ 5,107±724
(4,383-5,831 U/L) ส่วนเพศหญิงมีระดับ AChE ในเม็ดเลือดแดง
เท่ากับ 5,170±761 (4,409-5,931 U/L) ส่วนระดับ AChE รวม
ทั้ง 2 เพศ (340 ราย) มีค่าเท่ากับ 5,136±741 (4,395-5,877 U/L)
(Table 5)

Table 5 Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase levels of healthy volunteers.

Number of subject	Total	Male	Female
	340	181	159
Mean age (years)	43.57±11.02 (min=17, max=67)	44.35±11.20 (min=17, max=67)	42.69±10.78 (min=19, max=65)
AChE activity in red blood cell (U/L)	5,136±741 (min=1,768, max=6,493)	5,107±724 (min=1,768, max=6,493)	5,170±761 (min=2,460, max=6,396)
BChE activity in serum (U/L)	3,164±645 (min=564, max=5,189)	3,142±621 (min=564, max=5,054)	3,189±673 (min=1,207, max=5,189)

3. การวัดระดับเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัม
ระดับเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของ
อาสาสมัครที่มีสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชที่
เป็นผู้บริจาคโลหิตโรงพยาบาลนครพิงค์ จังหวัดเชียงใหม่
จำนวน 340 ราย พบว่า เพศชายมีระดับ BChE ในซีรัมเท่ากับ
3,142±621 (2,521-3,763 U/L) ส่วนเพศหญิงมีระดับ BChE

ในซีรัมเท่ากับ 3,189±673 (2,516-3,862 U/L) เมื่อคำนวณ
ระดับ BChE รวมทั้ง 2 เพศ (340 ราย) พบว่ามีค่าเท่ากับ
3,164±645 (2,519-3,809 U/L) (Table 5) เมื่อเปรียบเทียบกัน
ระหว่างเพศชายและเพศหญิงพบว่า ระดับเอนไซม์ทั้งสองชนิด
มีค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

วิจารณ์ผลการศึกษา

การหาความแปรปรวนในสภาวะที่ดีที่สุด (OCV) และความแปรปรวนประจำวันของการวิเคราะห์ (RCV) ของวัตถุควบคุมคุณภาพชนิดเลือดครบส่วนและซีรัม พบว่าข้อมูลมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ สำหรับ OCV และ RCV ของการวัดระดับเอนไซม์ AChE ได้ค่า %CV เท่ากับ 0.068 และ 0.045 ตามลำดับ จากงานวิจัยของ Thomsen และคณะ ในปี 1988⁸ กำหนดให้ %CV ของการทำ OCV และ RCV สำหรับการวัดระดับเอนไซม์ AChE ไม่เกิน 4.5% และ 7.5% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า %CV ของการทำ OCV และ RCV ในการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่าค่าไม่เกินค่า %CV ที่กำหนดไว้ ส่วน OCV และ RCV ของการวัดระดับเอนไซม์ BChE ได้ค่า %CV เท่ากับ 0.092 ซึ่งไม่เกินจากค่ากำหนดจากงานวิจัยของ Thomsen และคณะ ในปี 1988⁸ คือมีค่าไม่เกิน 3.5% และ 4.7% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ผลการศึกษามีความน่าเชื่อถือสูงมาก

จากการวัดระดับเอนไซม์ AChE ในเม็ดเลือดแดงของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี จำนวน 340 ราย (Table 5) มีค่าเท่ากับ $5,136 \pm 741$ ($4,395-5,877$ U/L) เมื่อแยกตามเพศพบว่าเพศชายมีค่าระดับเอนไซม์ AChE เท่ากับ $5,107 \pm 724$ ($4,383-5,831$ U/L) ส่วนเพศหญิงมีค่าเท่ากับ $5,170 \pm 761$ ($4,409-5,931$ U/L) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับการศึกษาของ Clarke's analysis⁷ ($3,000-6,000$ U/L) และคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล⁹ ($3,500-6,500$ U/L) ส่วนระดับเอนไซม์ BChE ในซีรัมของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี จำนวน 340 ราย มีค่าเท่ากับ $3,164 \pm 645$ ($2,519-3,809$ U/L) เมื่อแยกตามเพศพบว่าเพศชายมีค่าระดับเอนไซม์ BChE เท่ากับ $3,142 \pm 621$ ($2,521-3,763$ U/L) ส่วนเพศหญิงมีค่าเท่ากับ $3,189 \pm 673$ ($2,516-3,862$ U/L) อยู่ในช่วงเดียวกันที่ค่าอ้างอิงในงานวิจัยของ Clark analysis⁷ ($1,900-4,000$ U/L) และจากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล⁹ ($1,500-4,000$ U/L) แต่ต่ำกว่างานวิจัยของภัทรวดีและวีระวรรณ¹⁰ ที่ศึกษาไว้ในปี พ.ศ. 2543 ซึ่งพบว่าระดับเอนไซม์บีวาทิลโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของคนไทยปกติในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตพบว่ามีค่าเท่ากับ $6,043 \pm 1,247$ ($4,796-7,290$ U/L) การศึกษาในครั้งนี้ได้ช่วงค่าระดับต่ำสุดอยู่ที่ 2,519 U/L ซึ่งน้อยกว่าค่าที่ภัทรวดีและวีระวรรณได้รายงานไว้ ($4,796$ U/L) ถึงร้อยละ 47.48 ส่วนช่วงค่าสูงสุดในการทดลองนี้มีค่าเท่ากับ 3,809 U/L ซึ่งมีค่าลดลงร้อยละ 47.75 เมื่อเทียบกับค่าของภัทรวดีและวีระวรรณที่รายงานไว้ในปี พ.ศ. 2543 ($7,290$ U/L) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากเกษตรกรนิยมใช้สารกำจัดศัตรูพืชเพื่อช่วยเพิ่มผลผลิต ทำให้เกิดการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิต เมื่อประชากรได้รับสารตกค้างจากการรับประทานพืชผักผลไม้เข้าสู่ร่างกาย จึงส่งผล

ให้ระดับของเอนไซม์ ChE ลดต่ำลงได้ ทำให้การวัดระดับเอนไซม์ BChE ในซีรัมมีค่าต่ำลงเมื่อเทียบกับปี พ.ศ. 2543¹⁰ รวมถึงลักษณะการใช้ชีวิตของประชากรไทยในปัจจุบันมีการได้รับสารพิษต่างๆ เพิ่มขึ้น เอนไซม์ BChE ในร่างกายซึ่งทำหน้าที่กำจัดสารพิษ⁴ เมื่อมีสารพิษเข้าสู่ร่างกายจำนวนมากอาจส่งผลให้ปริมาณของเอนไซม์ลดน้อยลง นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยอื่นที่อาจส่งผลให้ระดับเอนไซม์ BChE ในแต่ละบุคคลต่ำลงได้ เช่น ความผิดปกติทางพันธุกรรมที่มีการสร้างเอนไซม์น้อยกว่าปกติ^{5,11} หรือได้รับยาบางชนิดที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ChE^{12,14} ได้แก่ ยาที่ยับยั้ง AChE มีทั้งชนิดแบบผันกลับได้ (reversible acetylcholinesterase inhibitors) เช่น ยารักษาโรคอัลไซเมอร์และคาร์บาเมต และยาที่ยับยั้งแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible acetylcholinesterase inhibitors) เช่น ออร์กาโนฟอสเฟต^{4,13}

ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้สามารถนำมาคำนวณเป็นช่วงค่าอ้างอิง (reference interval) ได้ โดยใช้ค่า $\text{mean} \pm 1.96$ SD เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) การคำนวณช่วงค่าอ้างอิงโดยใช้ค่า $\text{mean} \pm 1.96$ SD¹⁴ พบว่าช่วงค่าอ้างอิงของ AChE ในเม็ดเลือดแดงของอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 340 ราย มีค่าเท่ากับ $5,136 \pm 1,452$ U/L ($3,684-6,588$ U/L) ส่วนระดับเอนไซม์ BChE ในซีรัมของอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 340 ราย มีช่วงค่าอ้างอิงเท่ากับ $3,164 \pm 1,264$ U/L ($1,900-4,428$ U/L) และไม่ต่างระหว่างเพศชายและเพศหญิงจึงสามารถใช้ช่วงค่าอ้างอิงของเอนไซม์ AChE และ BChE ที่เป็นค่ารวมทั้งสองเพศได้

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 340 ราย พบว่าระดับเอนไซม์ AChE ในเม็ดเลือดแดงมีค่าเท่ากับ $5,136 \pm 741$ ($4,395-5,877$ U/L) ระดับเอนไซม์ BChE มีค่าเท่ากับ $3,164 \pm 645$ ($2,519-3,809$ U/L) เมื่อแยกตามเพศพบว่า เพศชายมีค่าระดับเอนไซม์ AChE เท่ากับ $5,107 \pm 724$ ($4,383-5,831$ U/L) ส่วนเพศหญิงมีค่าเท่ากับ $5,170 \pm 761$ ($4,409-5,931$ U/L) เมื่อแยกตามเพศ พบว่า เพศชายมีค่าระดับเอนไซม์ BChE เท่ากับ $3,142 \pm 621$ ($2,521-3,763$ U/L) ส่วนเพศหญิงมีค่าเท่ากับ $3,189 \pm 673$ ($2,516-3,862$ U/L) ระดับเอนไซม์ AChE และ BChE มีค่าไม่แตกต่างกันในระหว่างเพศจึงสามารถใช้ค่าอ้างอิงของระดับเอนไซม์ AChE และ BChE ที่เป็นค่ารวมทั้งสองเพศมาคำนวณเป็นช่วงค่าอ้างอิงของ AChE ในเม็ดเลือดแดงและช่วงค่าอ้างอิงของ BChE ในซีรัมได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณ
เงินรายได้คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประจำปี พ.ศ. 2554 ผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายงานพิษวิทยา
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ เชียงใหม่ สำหรับ control serum
และ control whole blood ที่ใช้ควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์
ในงานวิจัย แขนงวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับอุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ และ
สถานที่ที่ใช้ในงานวิจัย งานธนาคารเลือดโรงพยาบาลนครพิงค์
จังหวัดเชียงใหม่ สำหรับตัวอย่างเลือด และขอขอบคุณคุณ
พิสิษฐ์พล ชัยมงคล สำหรับการเก็บตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. สมิง เก่าเจริญและยุพา ลีลาฤทธิ์. เกณฑ์มาตรฐานในการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มมอร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมต. ศูนย์พิษวิทยาคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี, 2537.
2. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช [Internet]. ประเทศไทย: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. C2016. [updated 2016 June 8; cited 2017 Jan 15]. Available from: http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146
3. Lionetto MG, Caricato R, Calisi A, Giordano ME, Schettino T. Acetylcholinesterase as a Biomarker in Environmental and Occupational Medicine New Insights and Future Perspectives. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013: 321213.
4. Čolović MB, Krstić DZ, Lazarević-Pašti TD, Bondžić AM, Vasić VM. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Curr Neuropharmacol.* 2013 May; 11(3): 315–35.
5. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacol. Ther.* 2015; 148: 34-46.
6. Bryson PD. *Comprehensive Reviews in Toxicology: For Emergency Clinicians*. 3rd ed. Washington, DC: Taylor & Francis; 1996.
7. Kala M. Pesticides. In: Moffat AC., Osselton MD., Widdop B. editors. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. 3rd ed. London, UK: Pharmaceutical Press; 2004: 202-38.
8. Thomsen T, Kewitz H, Pleul O. Estimation of cholinesterase activity (EC 3.1.1.7; 3.1.1.8) in undiluted plasma and erythrocytes as a tool for measuring in vivo effects of reversible inhibitors. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1988; 26(7): 469-75.
9. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. คู่มือการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ 2559 [19 May]. Available from: <https://www.si.mahidol.ac.th/th/manual/document/a07/cholinesterase%20serum.htm>.

10. ภัทรวดี พงษ์ระวีวงศ์และวีระวรรณ เรืองยุทธการณ. การวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในซีรัมของคนไทยปกติ. เชียงใหม่เวชสาร. 2543; 39(1-2): 21-9.
11. Çokuğraş AN. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance. Turk J Biochem] 2003; 28 (2): 54-61.
12. Bailey DN, Briggs JR. Studies of the Inhibition of Serum Pseudocholinesterase Activity In Vitro by Commonly Used Drugs. Am J Clin Pathol. 2005; 124(2): 226-8.
13. Lee PE, Hsiung GYR, Seitz D., Gill SS., Rochon PA. Cholinesterase inhibitors. BCMJ. 2011; 53(8): 404-8.
14. Henderson MPA, Cotton SW, Rogers MW, Willis MS, McCudden CR. Method Evaluation. In: Bishop ML., Fody EP, Schoeff LE. Editors. Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations. 7th ed. Philadelphia, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013. 52-89.