C.1

รายงานการวิจัยเรื่อง

ความสัมพันธ์ของระดับ Serum Cholin Esterase ต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกรที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์

โดย

สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์
กรรนิการ์ จิรสิริทรัพย์

ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น 2531

บทคัดย่อ

จากผลการตรวจสอบระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสในคนไข้เกษตรกรที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น จำนวน 504 คน ในช่วงระหว่างเดือนเมษายน 2531 ถึง เดือนมีนาคม 2532 (1 ปี) พบว่ามีเพียง 4.96 % เท่านั้นที่มีระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสต่ำ อันเนื่องมาจากโรคที่เป็น และพบจำนวนคนไข้ถึง 11.32 % ที่มีระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสต่ำ โดยไม่มีสาเหตุจากโรค เมื่อเทียบกับจำนวนคนไข้ 81.35 % ที่มีระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสปกติแล้ว เป็นสัดส่วน 1:7 จากการสัมภาษณ์เราพบว่า พฤติกรรมในการใช้สารปราบศัตรูพืชโดยส่วนรวมแล้ว ยังมีพฤติกรรมที่ไม่ถูกต้อง เกษตรกรส่วนมากไม่เห็นความสำคัญในการป้องกันตนเองในขณะที่ใช้สารปราบศัตรูพืช จำนวนเกษตรกรที่มีระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสต่ำกว่าปกติสัมพันธ์กับฤดูกาล ในฤดูหนาว จำนวนเกษตรกรที่มีระดับซีรัมโมริ่นเอสเตอเรสต่ำกว่าปกติมีจำนวนมากกว่าฤดูฤดูฝนและฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูร้อนจะพบน้อยลงตามลำดับ

Abstract

From the investigation of serum cholinesterase level of 504 agricultural workers who had been attended in Srinagarind hospital, Khon-Kaen during April 1988 to March 1989, we found that only 4.96 % of the patients investigated had low serum Cholinesterase related with diseases. The other 11.31 % had low serum cholinesterase without relation to diseases. When compared to 81.35 % of normal serum cholinesterase level, the proportion was 1 : 7. Form the interview, we found that their behavioral practices of using pesticide were inproper ingeneral. Most farmers did not aware of self-protection. A decline in serum cholinesterase correlated well with seasons. The serum cholinesterases were significantly lower in winter than in Summer and Rainy Season.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่แผนกเจาะเลือดที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างเลือด งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีการศึกษา 2531 ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
รายการตารางประกอบ	จ
รายการภาพประกอบ	ฉ
1 บทนำ	1
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	17
3 ผลการทดลอง	20
4 สรุปและวิจารณ์	27
เอกสารอ้างอิง	29

รายการตารางประกอบ

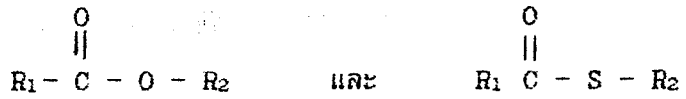
ตารางที่	หน้า
1. Specificities of Mammalian AChE and BuChE Toward Selected Substrates	2
2. K_i and K_{ai} Values[a] for Various Reversible Inhibitors of AChE	6-7
3. Rates of Spontaneous Regeneration of Phosphorylated and Carbamylated Cholinesterase	10-11
4. ระดับเอ็นไซม์ในเพศชายและเพศหญิง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์	20
5. โรคในผู้มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml. ในเพศชายและเพศหญิง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์	22
6. พฤติกรรมในการใช้สารปราบศัตรูพืชในกลุ่มที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml.	23
7. ชนิดของสารปราบศัตรูพืชที่เกษตรกรใช้	24
8. พฤติกรรมในการป้องกันตนเองระหว่างการใช้สารปราบศัตรูพืช ในกลุ่มเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml.	25
9. พฤติกรรมในการระวังโดยการดูทิศทางลมในกลุ่มเกษตรกร ที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml.	25
10. แสดงอิทธิพลของฤดูกาลที่มีผลต่อระดับ serum ChE ในเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml.	26

รายการภาพประกอบ

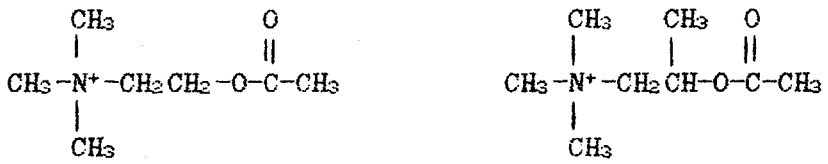
ภาพที่		หน้า
1	The two-pocket model of the active site of AChE. A molecule of Ach occupies the site with an orientation which allows the relatively positive carbonyl carbon(C=O)to interact with the nucleophilic oxygen on the activated hydroxyl group of serine. Activation occurs by by hydrogen bonding to an imidazole nitrogen as shown. Other hydrogen bonds are conjecture. The convention of naming the carbons of the ACh ethylene bridge is also shown.	5
2.	แสดงอัตราส่วนระหว่างจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU./ml. จำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE สูงกว่า 2,000 mU./ml. และจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE อยู่ระหว่าง 1,900-2,000 mU./ml.	21

1 บทนำ

cholinesterases(ChE) เป็นกลุ่มของ enzyme ที่สามารถ hydrolyze aliphatic และ aromatic carboxylic esters ได้อย่างกว้างขวาง ซึ่ง esters ดังกล่าว มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปดังนี้



substrate ที่ดีที่สุดของ cholinesterases คือ choline esters แต่ choline esters บางตัวก็ไม่ใช่ substrate ที่ดี ตัวอย่างเช่น acetylcholinesterase (AChE) จากเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ hydrolyze acetylcholin หรือ acetyl - B - methylcholine ได้อย่างรวดเร็วหรือเร็วกว่า substrate ชนิดอื่นๆ แต่ hydrolyze butyrylcholine (BuCh) และ benzoylcholine ได้เล็กน้อย



Acetylcholine Acetyl-B- methylcholine

ในปี 1943 Mendel, Mundel และ Rudney ได้พบว่า acetylcholinesterase ในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ไม่ hydrolyze tributyrin และ methyl butyrate ซึ่ง serum cholinesterase สามารถ hydrolyze ได้ จากข้อสังเกตนี้ทำให้เขาสรุปว่า erythrocyte ChE " specific" ต่อ choline esters ขณะที่ serum enzyme ไม่ specific จึงเรียก serum enzyme ว่า pseudo - ChE เรียก erythrocyte ChE ว่า " true" หรือ " specific" ChE Nerve และ erythrocyte ChE สามารถ hydrolyze BuCh อย่างช้าๆ แต่ serum ChE สามารถ hydrolyze BuCh ได้อย่างรวด

เร็วและเร็วกว่า ACh จากเหตุผลนี้ Augustinsson และ Nachmansohn (1949) ได้เสนอว่า erythrocyte type ของ ChE ควรชื่อว่า "acetylcholine - esterase" (AChE) และให้ชื่อ serum enzyme ว่า "butyro - cholinesterase" (BuChE) ความเฉพาะ(specificities) ของ enzyme ทั้งสองชนิดกับ substrate ชนิดต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Specificities of Mammalian[a] AChE and BuChE Toward Selected Substrates

Substrate	AChE and source[b]	BuChE and source[b]
Acetylcholine	100	100
Butyrylcholine	2(a)	330(A)
Benzoylcholine	1.5(a)	35(A)
(D,L)Acetyl-B-methylcholine	33(a)	1(A)
Propionylcholine	87(a)	170(A)
Acetylthiocholine	83(b)	140(A)
(D,L)Acetyl-B-methylthiocholine	83(c)	50(B)
L-(+)Acetyl-B-methylcholine	54(?)	2(B)
D-(-)Acetyl-B-methylcholine	0(?)	0(B)
Phenyl acetate	113(b)	91(A)
3:3 Dimethylbutyl acetate	60(a)	35(A)
Triacetin	42(a)	14(A)
Tributyrin	2(a)	45(A)

Note: Velocities are relative to ACh = 100%. Values are based on saturation or optimal substrate concentrations. Interpretations should be made with reservation since K_m values are omitted. However, the table illustrates the classical specificity differences between AChE and BuChE.

[a]With one exception, electric eel AChE.

[b]ChE code: (a) human erythrocyte AChE; (b) bovine erythrocyte AChE; (c) electric eel AChE; (A) human serum BuChE; (B) horse serum BuChE.

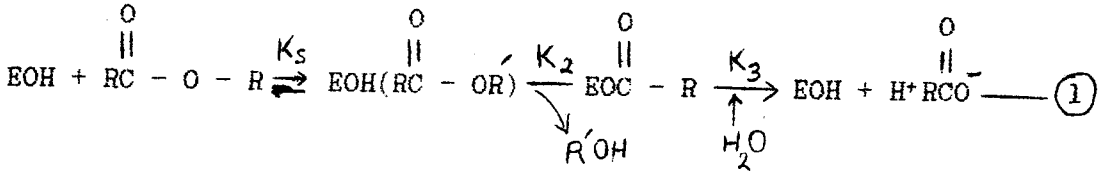
ในความต่างกันของ AChE และ BuChE ในมนุษย์นั้น ความแตกต่างบางชนิดจะไม่เหมือน ChE ของสัตว์ เช่น แมลงวัน ChE บริเวณศีรษะของแมลงวันสามารถ hydrolyzes BuCh ได้ดี แต่ ChE ของแมลงวันก็จะมีลักษณะบางอย่างที่คล้ายกับ AChE ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม BuChE ในหนูและในเป็ด จะมีความเฉพาะกับ propionyl มากกว่า butyryl ใน serum ของกระต่ายจะพบทั้ง AChE และ BuChE ดังนั้นในสัตว์จึงไม่สามารถที่จะบอกอย่างกว้างๆ ได้ว่า ในเนื้อเยื่อต่างๆ จะพบ ChE ชนิดไหนและไม่สามารถที่จะบอกชนิดของ ChE โดยดูจากตำแหน่งหรือบริเวณต่างๆ ของร่างกาย แม้ในเนื้อเยื่อของประสาทจะพบทั้ง AChE และ BuChE แต่ที่ปลายประสาท (endplate) ของ motor neuron ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายแห่งจะพบ BuChE มากกว่า AChE

สำหรับมนุษย์นั้น สามารถจะบอกชนิดของ enzyme ที่ตำแหน่งต่างๆ ได้ เช่น BuChE (pseudocholinesterase) เป็นเอ็นไซม์ที่พบได้ใน ตับ ม้าม หัวใจ สมอง (ส่วน white matter) และ ซีรัม AChE (true - cholinesterase) พบได้ที่ในเม็ดเลือดแดง ปอด ม้าม สมอง (ส่วน gray matter) และที่ปลายประสาท Pilz ได้รายงานว่าพบ true cholinesterase เล็กน้อยในซีรัม

Acylated Intermediate

เมื่อ ChE ทำปฏิกริยากับ substrate (acetylcholin) ก็จะเกิดเป็น Michaelis-Menten enzyme - substrate complex ester substrate เมื่อ acylates ที่

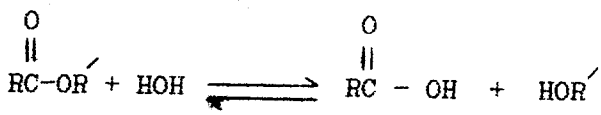
active site เพื่อที่จะสร้าง acyl-ChE intermediate กลุ่ม acyl ถูกจับโดย ester bond กับ seryl residue ที่ active site ขั้นตอนต่างๆ คล้ายกับ irreversible inhibitor แต่ acyl-ChE intermediate ไม่อยู่ตัว จะทำปฏิกริยากับน้ำอย่างรวดเร็ว เกิดเป็น free enzyme และ กรด ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นดังนี้



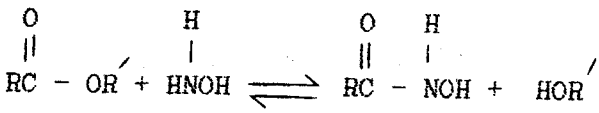
EOH เป็น free enzyme OH ใน EOH เป็นของ seryl residue EOH(RC(O)-OR) เป็น Michaelis- Menten complex และ EOC(O)R เป็น acyl-enzyme intermediate การค้นพบของ acylated intermediate เป็นเรื่องที่น่าสนใจเพราะมันนำไปสู่ทฤษฎี phosphorylation โดยตรง ทำให้ทราบถึงการ inhibit ของ organophosphates และการพัฒนาของ dephosphorylating reagents ซึ่งใช้เป็นตัวเปลี่ยน inactive enzyme ให้เป็น enzyme อิสระ

ในการศึกษาโดยใช้ radiolabeled organophosphates เช่น diisopropyl phosphorofluoridate (DFP) ทำปฏิกริยากับ ChE phosphorous lebel ก็ยังคงจับแน่นอยู่กับ ChE ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ChE สร้าง stable covalent bonds กับ phosphorus ของ organophosphate inbibitors

การศึกษาอีกด้านหนึ่งโดยใช้ hydroxylamine ตรวจ activity ของ AChE โดยวิธีของ Hestrin ภายใต้ภาวะที่เป็นด่าง hydroxylamine จะทำปฏิกริยากับ carboxylic esters เพื่อสร้าง hydroxamic acids ได้อย่างดี ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นคล้ายกับน้ำ hydrolyze ester ดังนี้

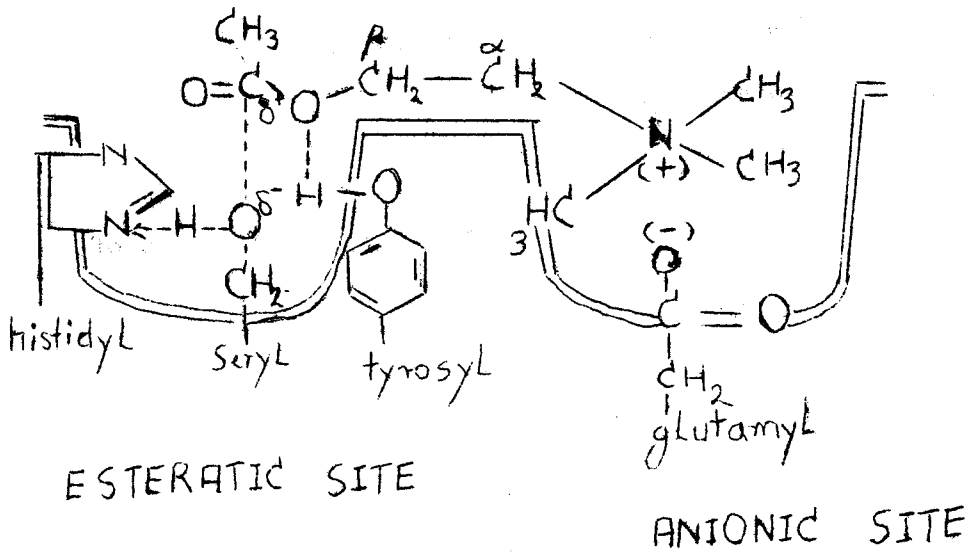


Acyl acid



Hydroxamic acid

การหาปริมาณ hydroxamic acid โดยนำไป form complex กับ ferric ion ที่ pH ต่ำ เกิดเป็นสีน้ำเงิน แล้วนำไปวัดด้วย spectrophotometer สิ่งสำคัญตรงจุดนี้คือ hydroxylamine จะทำปฏิกริยากับ ester อย่างเดียว จะไม่ทำปฏิกริยากับกรด และ alcohol ซึ่งเป็นผลจากการ hydrolysis



รูปที่ 1 The two-pocket model of the active site of AChE. A molecule of ACh occupies the site with an orientation which allows the relatively positive carbonyl carbon (C=O) to interact with the nucleophilic oxygen on the activated hydroxyl group of serine. Activation occurs by hydrogen bonding to an imidazole nitrogen as shown. Other hydrogen bonds are conjecture. The convention of naming the carbons of the ACh ethylene bridge is also shown.

Reversible Inhibitors

reversible inhibitors เกือบทุกตัวมี positively charged N group อย่างน้อยที่สุดตัวหนึ่ง กลุ่มนี้จะจับกับ anionic site โดยใช้แรงร่วมของ coulombic และ

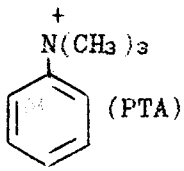
Vander Waal reversible inhibitors ของ ChE จะ inhibit อย่างน้อยส่วนหนึ่งของ ChE โดยจับกับ anionic site

reversible inhibitors เรียงจาก สารประกอบง่ายๆ (simple compounds) เช่น protonated triethylamine และ tetramethylammonium ions ไปจนถึงสารประกอบที่ซับซ้อน (complex compounds) เช่น d-tubocurarine:

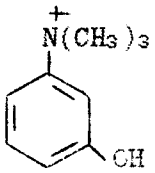
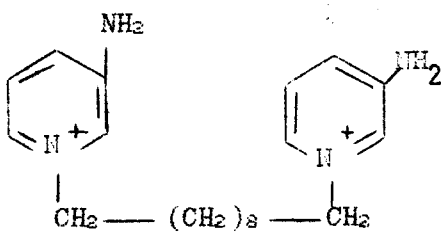
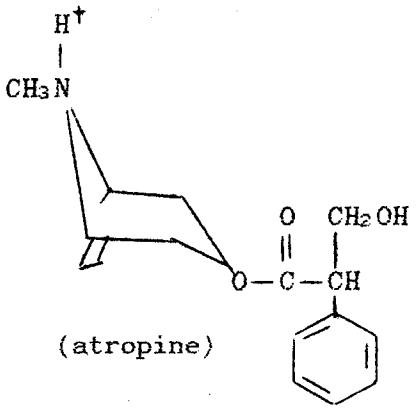
inhibitors ที่ดีที่สุดคือพวก tertiary amines หรือ quaternary ammonium ions primary และ secondary amines inhibit ได้ไม่ดีเพราะโดยมากจะขาด alkyl group ซึ่งเป็นตัวให้พลังงานในการที่จะไปยับยั้งที่ anionic site inhibitor ที่ดีจะมี aromatic groups จับอยู่กับประจุของ nitrogen

ตารางที่ 2 K_i and K_{ai} Values[a] for Various Reversible Inhibitors of AChE

Inbibitor	K_i (M)	K_{ai} (M)
$HN^+H_2CH_3$	6.3×10^{-2}	1.1×10^{-1}
HNH_2CH_3	6.3×10^{-2}	1.1×10^{-1}
$HNH(CH_3)_2$	2.6×10^{-2}	3.2×10^{-2}
$HN(CH_3)_3$	4.8×10^{-3}	4.0×10^{-3}
$N(CH_3)_4$ (TMA)	2.8×10^{-3}	2.0×10^{-2}
$N(CH_3)_3CH_2CH_2OH$	1.3×10^{-3}	6.3×10^{-3}
$HN(CH_3)_2CH_2CH_2OH$	3.7×10^{-3}	3.6×10^{-3}
$N(CH_3)_3CH_2CH_2Cl$	1.85×10^{-3}	4.3×10^{-3}
$N(C_2H_5)_4$ (TEA)	1.2×10^{-3}	7.6×10^{-3}
$N(C_3H_7)_4$	1.2×10^{-4}	2.0×10^{-4}
$N(C_4H_9)_4$	6.7×10^{-5}	1.4×10^{-4}
$N(C_5H_{11})_5$	3.8×10^{-4}	9.0×10^{-4}



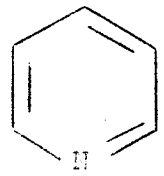
(PTA)

	5.3×10^{-5}	2.0×10^{-3}
	7.7×10^{-5}	5.7×10^{-4}
	6.3×10^{-7}	1.4×10^{-5}
$N^+(CH_3)_4(CH_2)_{10}N^+(CH_3)_4$ (decamethonium)	5.8×10^{-6}	1.3×10^{-5}
	5.2×10^{-8}	–
 (atropine)	4.0×10^{-3}	–

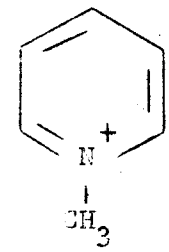
---

[a] K_i measures binding to free enzyme; K_{ai} measures binding to the acylated enzyme.

bis- quaternary compound, decamethonium และสารประกอบที่มี quaternary N groups ใน unsaturated rings ได้รวมอยู่ในตารางที่ 2 นอกจากนี้แล้วยังมี substituted N ใน saturated ring structure (เช่น atropine) อยู่ด้วย N ในโครงสร้าง saturated ring สามารถเป็นทั้ง tertiary และ quaternary เพราะ N ใน saturated ring ทำหน้าที่คล้ายกับ N ใน aliphatic amines และให้ proton ที่ pH ต่ำกว่า 8 อย่างไรก็ตาม tertiary N ใน unsaturated ring เช่น N ใน pyridine จะไม่ให้ proton ที่ pH 7 และไม่มีประจุเป็นผลให้เป็น inhibitors ที่ไม่ดี และ quaternary N ใน unsaturated rings เช่น methylpyridinium เป็น inhibitors ที่ดี



Pyridine

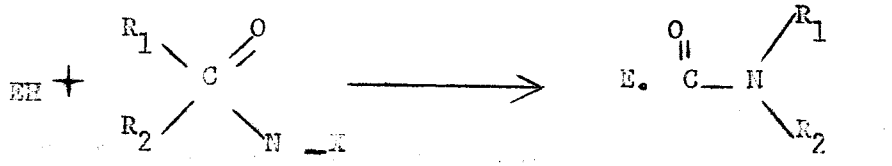


Methylpyridinium

Irreversible Inhibitors of Cholinesterases

organophosphate และ carbamates ทำปฏิกริยากับ ChE ด้วยกลไกเดียวกัน แต่ kinetics ของปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะต่างกัน ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นดังนี้

Organophosphate Phosphorylated acetylcholinesterase



Carbamate Carbamated acetylcholinesterase

Phosphorylated acetylcholinesterase จะคงตัวถ้าหากให้ยา(reactivators) ช่วยไม่ทันจะเกิด"aging" คือจะไม่สามารถถูกกระตุ้น(reactivate) ให้กลับมาอยู่ในรูป active form ได้ ต้องใช้ระยะเวลานานในการสลายตัว สำหรับ carbamated acetylcholinesterase นั้นไม่คงตัว สามารถถูก hydrolyze ให้กลับมาอยู่ในรูปของ enzyme อิสระ

Spontaneous Regeneration ; Aging และ Reactivators

Spontaneous regeneration

ความเป็นพิษของ organophosphates และ carbamates ขึ้นอยู่กับความคงตัวของ acyl - enzyme intermediates และอัตราเร็วของปฏิกริยาในการยับยั้ง enzyme phosphorylated ChE คงตัวมากกว่า carbamylated ChE แต่อย่างไรก็ตามความคงตัวของ phosphorylated ChE เปลี่ยนแปลงได้มากมาย ความคงตัวนั้นขึ้นอยู่กับธรรมชาติของกลุ่มที่จับกับ phosphate และชนิดของ ChE ตัวอย่างเช่น half-life ของ dimethylphosphoryl AChE จากเม็ดเลือดแดงของหนู (rat) เท่ากับ 2 ชั่วโมง ซึ่งถ้าเปรียบเทียบ half-life ของ diethylphosphorylated enzyme เกือบ 2 วัน dimethylphosphoryl AChE จากหัวแมลงวันจะคงตัวหลัง 5 ชั่วโมง dimethylphosphoryl AChE จาก เม็ดเลือดแดงของกระต่ายมี half-life เพียง 72 นาที คล้ายกับ half- life ของ diethylphosphoryl ChE จาก serum หนูเท่ากับ 5 ชั่วโมง โดยที่ half-life ของ diethylphosphoryl BuChE จาก serum ของคนเท่ากับ 30 วัน การแทนที่ของ choline atom บนกลุ่ม alkyl phosphate จะเป็นการเพิ่มอัตราการเกิด enzyme อิสระ มากขึ้นเช่น dichlorethylphosphoryl BuChE จาก serum ของคน มี half-life ประมาณ 20 นาที ในขณะที่ diethylphosphoryl BuChE มี half-life 30 วัน ซึ่งหมายถึงว่ามันจะคงตัวมากกว่าถึง 2000 เท่า เพราะว่ามันไม่มีกลุ่ม chlorine ตารางที่ 3 แสดงค่า half-life ของ alkyl substituted phosphoryl ChE ซึ่งค่า half-life ของ phosphorylated ChE มีตั้งแต่เป็นนาทีถึงสัปดาห์ carbamylated ChE 2 ตัว ที่พบบ่อยคือ N- methyl และ N, N - dimethyl carbamates คล้ายกันมาก carbamylated BuChE คงตัวมากกว่า carbamylated AChE

การเปลี่ยน phosphorylated และ carbamylated AChE ให้เป็น enzyme อิสระขึ้นกับ pH

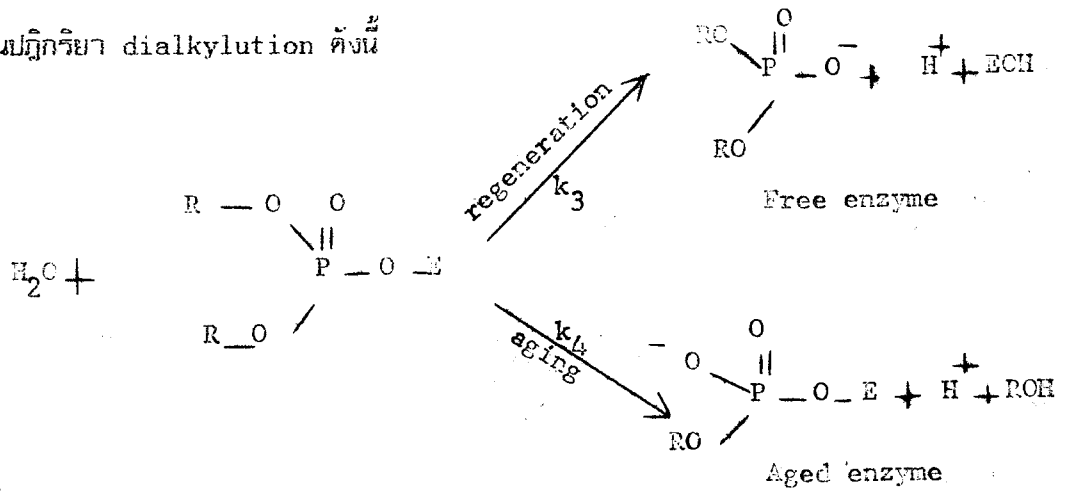
ตารางที่ 3 Rates of Spontaneous Regeneration of Phosphorylated and Carbamylated Cholinesterases

Enzyme	Acylgroup	pH	Temp. (°C)	10^3k (min^{-1})	$t_{1/2}$
	Phosphates				
AChE(rabbit)	$(CH_3O)_2-P-$	7.8	37	8.5	82 min
AChE(human)	$(C_2H_5O)_2-P-$	7.4	37	0.2	58 hr
AChE(eed)	$(C_2H_5O)_2-P-$	7.0	7	0.018	27 days
ChE(human)	$(C_2H_5O)_2-P-$	7.8	37	0.016	30 days
	carbamates				
AChE(eed)	H_2-N-C-	7.0	25	400	1.7 min
AChE(eed)	HCH_3-N-C-	7.0	25	18	38 min
AChE(bovine)	HCH_3-N-C-	7.4	25	11.3	1 hr
AChE(eed)	$(CH_3)_2-N-C-$	7.0	25	26	27 min

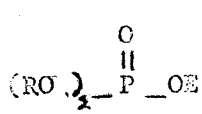
AChE(bovine)	$(CH_3)_2$-N-C- (O)	8.0	25	12	56 min
ChE(human)	$(CH_3)_2$-N-C- (O)	7.4	25	3.3	3-5 hr

Aging หรือ Dealkylation

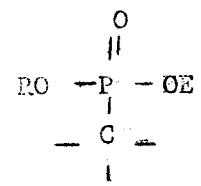
phosphorylated ChE สามารถถูกเปลี่ยนให้เป็น enzyme อิสระได้ทั้งการเกิดขึ้นเอง และจากการกระตุ้น อาจจะขึ้นกับระยะเวลาที่ enzyme ถูกยับยั้ง phosphorylated ChE จะเกิดปฏิกริยาขึ้นหนึ่งในสองทาง ทางแรกคือการเปลี่ยนให้กลับมาเป็น enzyme อิสระ ทางที่สองจะเป็นการเสีย alkyl group ไปกลุ่มหนึ่ง ซึ่งเป็นปฏิกริยาที่ทำให้เกิด aging หรือเป็นปฏิกริยา dialkylution ดังนี้



Aged mono- alkyl phosphorylated ChE คงตัวมากกว่า dialkyl form และใน aged form ChE ไม่สามารถถูกทำให้เกิดขึ้นใหม่ อัตราของการ aging ขึ้นกับ alkyl groups และชนิดของ ChE



phosphoryl ChE

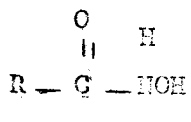


phosphonyl ChE

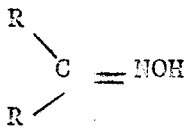
half-life ของการเปลี่ยนเป็น aged-form เปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่นาทีถึงหลายวัน ตัวอย่างเช่น aging half-life ของ diisopropyl phosphoryl AChE ของเม็ดเลือดแดงของคนเท่ากับ 4.6 ชั่วโมง ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับ diethyl phosphoryl AChE aging half-life เท่ากับ 41 ชั่วโมง อัตราของการ aging เพิ่มขึ้นเมื่อ pH ลดลง และ aging ถูกควบคุมโดย ionizing group ซึ่งมี pK 6.4 นอกจากนี้ aging ยังขึ้นกับอุณหภูมิ ตัวอย่างเช่น อัตราการเพิ่ม aging จะเกิดขึ้นเป็น 10 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 3 ° เป็น 25°

Reactivators

สารประกอบที่ใช้ในการทดลองในการเป็น reactivators บรรจุด้วย nucleophile ที่มีพลังมากและมี quaternary nitrogen- promoting group กลุ่มที่มีสารประกอบ nucleophilic ได้แก่ hydroxamic acids และ oximes :-

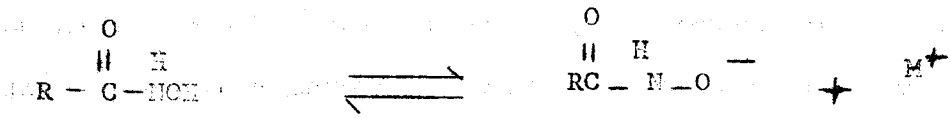


Hydroxamic acid

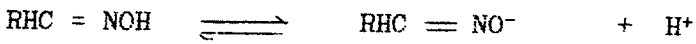


Oxime

ทั้ง Oximes และ hydroxamic acids มี Oxygen จับอยู่กับ nitrogen ของ nucleophile ซึ่งสามารถแตกตัวได้ดังนี้:-

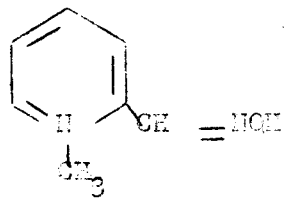


Hydroxamate anion

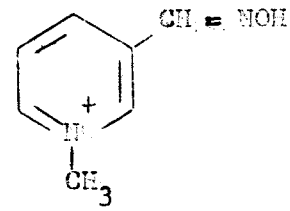


Oxime anion

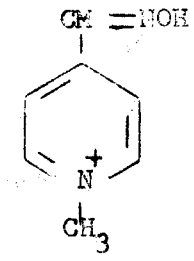
reactivators ทั้งสองตัวนี้สามารถเขียนเป็น RH ซึ่ง H จับอยู่กับ nucleophilic Oxygen reactivators ที่ดีที่สุดต้องมีกลุ่ม quaternary ammonium จับอยู่กับ anionic site



2-PAM

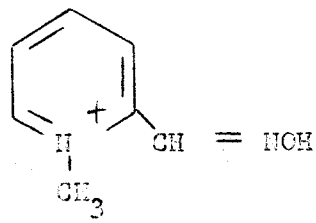


3-PAM

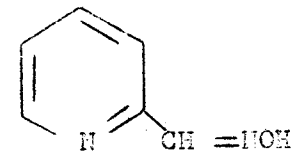


4-PAM

reactivator ไม่เพียงมีแต่ charged N function เท่านั้น แต่กลุ่มนี้จะต้องอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมด้วย เช่น 2 - PAM reactivate ได้ดีกว่า 3- PAM 30,000 เท่า และ 4 - PAM 50 เท่า นอกจากนี้การมีประจุจะเพิ่มประสิทธิภาพในการเป็น reactivator ที่ดีด้วย เช่น 2 - PAM ที่มีประจุจะมีประสิทธิภาพดีกว่าที่ไม่มีประจุถึง 50,000 เท่า

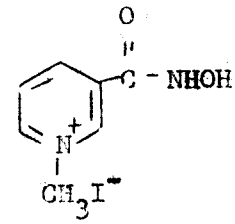


2-PAM



Pyridine-2-aldoxime

ประสิทธิภาพของ reactivator จะขึ้นกับธรรมชาติของ phosphorylated group บน ChE และชนิดของ ChE เอง ตัวอย่างเช่น diethylphosphoryl AChE ถูก reactivate โดย nicotine hydroxamic acid methiodide ได้เร็วกว่า diisopropylphosphoryl AChE (DIPAChE) ถึง 30 เท่า



Nicotine hydroxamic acid methiodide

ประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือส่วนใหญ่มีอาชีพเกษตรกรรม จึงมีการใช้สารปราบศัตรูพืชกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากต้องการให้ผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้น ได้ผลผลิตที่ดูแล้วเป็นผลผลิตที่น่ารับประทาน สารปราบศัตรูพืชที่นิยมใช้กันโดยมากเป็นชนิดอินทรีย์สังเคราะห์ เพราะราคาไม่แพงมากและใช้กำจัดศัตรูพืชได้ดี

<u>สารปราบศัตรูพืชชนิดอินทรีย์สังเคราะห์</u> แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้ :-

1. คลอรินเนทเตดไฮโดรคาร์บอน(organo chlorinated pesticides) ตัวอย่าง เช่น DDT., DDD, Lindane เป็นต้น สารพวกนี้เข้าสู่ร่างกายได้ทางการหายใจและทางปาก โดยการกินเข้าไป สำหรับทางผิวหนังซึมเข้าไปได้เช่นกัน แต่ซึมเข้าไปได้น้อย นอกจากจะทำให้เป็นสารละลายเสียก่อน

Organochlorine ออกฤทธิ์ต่อสมอง cerebellum และ higher motor cortex กลไกที่ทำให้เกิดอาการต่างๆ ยังไม่ทราบแน่ชัด

ในราย acute poisoning โดยทานเข้าไปมาก อาการจะเกิดขึ้นเร็วภายใน 30 นาที หรือ 2-3 ชั่วโมง หรืออาจมากกว่านี้ ซึ่งย่อมแล้วแต่ปริมาณของสารที่ทานเข้าไป อาการที่พบคือ

1. คลื่นไส้ อาเจียร บางรายอาจมีอุจจาระร่วง
2. มีอาการชาและแสบที่ริมฝีปาก ลิ้นและบางส่วนของใบหน้า
3. อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ เมื่อยตามตัว
4. มีอาการสั่นและกระตุกของกล้ามเนื้อเป็นแห่งๆ เริ่มที่ต้นคอ ศีรษะ เปลือกตา
5. สมองมึนงง มี Ataxia
6. มีอาการชักแบบ clonic และ tonic สลับกันไปและมี coma นอกจากนี้อาจมี paralysis ของมือ
7. vital sign ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ปกติ

นอกจากในรายที่รุนแรง หัวใจจะเต้นช้าและไม่สม่ำเสมอ อาจมี ventricular fibrillation เกิดขึ้นได้ง่าย เนื่องจาก DDT ได้ทำให้หัวใจไวต่อ epinephrine ที่เกิดขึ้นในร่างกาย

ในรายที่ทานเข้าไปมาก อาจถึงแก่ความตายได้ เนื่องจาก respiratory failure จาก medulary paralysis นอกจากนี้อาจเนื่องจากพิษของตัวทำละลายที่ทานเข้าไปอีกด้วย ในรายที่ฟื้นแล้วอาจมี paresis หรือ paralysis ของกล้ามเนื้อต่อไปอีก 5-6 สัปดาห์ อา

การใน chronic poisoning ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากการทดลองในสัตว์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของตับและไต

เนื่องจากสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มนี้คงตัว สลายตัวช้า เป็นผลให้ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน ผลตกค้างจะทำให้เกิดพิษต่อสัตว์และมนุษย์ ปัจจุบันหลายๆประเทศจึงห้ามนำมาใช้ภายในประเทศรวมทั้งประเทศไทยด้วย สำหรับประเทศไทยยอมให้กระทรวงสาธารณสุข นำมาใช้ปราบยุงที่เป็นพาหนำไข้มาลาเรียเท่านั้น

2. ออร์กะโนฟอสเฟต (Organo phosphate pesticides) ตัวอย่างเช่น parathion, malathion,diazinon เป็นต้น สารปราบศัตรูพืชกลุ่มนี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูก enzyme mixed function oxidase (MFO) ซึ่งมีอยู่ในแมลง สัตว์และคน activate ให้อยู่ในรูปที่ active เช่น parathion จะถูก activate เป็น paraoxon ซึ่ง active แล้วจึงจะไปจับกับ acetylcholinesterase ซึ่งค่อนข้างจะ irreversible ถ้าให้ 2-PAM ไม่ทัน ก็จะเกิด "aging" ได้ คือ ไม่สามารถจะถูก hydrolysis ให้กลับมาอยู่ในรูป active form เหมือนเดิม จึงทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย โดยมีอาการ overcholinergic activity คือมีอาการส่งกระแสประสาทตลอดเวลา ซึ่งจะแบ่งอาการที่เกิดขึ้นตามแหล่งที่สะสมของ acetylcholine ได้ดังนี้

- อาการทางประสาท จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน เหงื่อออก แน่นหน้าอก ถ้าอาการรุนแรงขึ้น อาจปวดท้อง ท้องเดิน น้ำตาและน้ำมูกไหล ถ่ายอุจจาระและปัสสาวะโดยกลั้นไม่อยู่ หลอดลมมีเสมหะมาก หายใจหอบ หลอดลมตีบ หน้าเขียวคล้ำ เป็นต้น

- อาการทางกล้ามเนื้อ จะเกิดอาการกระตุกของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะที่ลิ้น บริเวณหน้าและลำคอ หรือกระตุกทั่วร่างกาย เกิดอาการอ่อนเพลียและเป็นอัมพาต

- อาการทางสมอง จะเกิดอาการปวดศีรษะ มึนงง อาจชักหมดสติได้

ในรายที่ได้รับสารปราบศัตรูพืชกลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน(chronic poisoning) enzyme จะถูก inhibit และเกิด "aging" ขึ้น ระดับ enzyme ในร่างกายจะต่ำกว่าปกติ เป็นผลให้ร่างกายอ่อนแอ เกิดการเจ็บป่วยในรูปแบบต่างๆ ขึ้น การให้ reactivator เช่น 2-PAM จะต้องใช้ระยะเวลานานกว่าปริมาณของ enzyme จะกลับคืนสู่ปกติ และปริมาณของ 2-PAM ที่ให้เข้าสู่ร่างกายจะต้องพอเหมาะ มิฉะนั้นแล้ว 2-PAM จะเป็นตัวไป inhibit cholinesterase เสียเอง ซึ่งอาจทำให้เกิดพิษขึ้นได้

การได้รับพิษแบบเฉียบพลัน (acute posisoning) จากสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ การให้ reactivator (2-PAM) เร็วก่อนที่เกิด "aging" จะช่วยให้ enzyme กลับคืนสู่สภาพปกติได้เร็ว

3. ออร์กะโนไนโตรเจน (organo nitrogen pesticides) หรือ carbamate ตัวอย่างเช่น carbaryl, Lannate, baygon เป็นต้น สารปราบศัตรูพืชในกลุ่มนี้ สามารถออกฤทธิ์ด้วยตัวมันเอง กลไกการออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ organaphosphate pesticide แต่ carbamated acetylcholinesterase ไม่คงตัว สามารถถูก hydrolyze ให้ enzyme ที่ active

นอกจากสารปราบศัตรูพืชกลุ่ม organophosphate และ organonitrogen pesticide ที่มีผล inhibit enzyme cholinesterase แล้ว ในสภาวะของร่างกายบางขณะก็จะมีผลต่อระดับ enzyme cholinesterase เช่น

1. ระดับของcholinesterase ลดลงในภาวะต่อไปนี้

1.1 acute infection

1.2 pulmonary embolism

1.3 muscular dystrophy

1.4 myocardial infarction ระดับของ enzyme ลดลงจนถึงวันที่ 5 หลังจากนั้นระดับของ enzyme จะสูงขึ้นจนเท่าระดับปกติ

1.5 chronic renal disease

1.6 ผู้ป่วยหลังผ่าตัด

1.7 หญิงมีครรภ์

1.8 acute hepatitis และ chronic hepatitis

1.9 cirrhosis

1.10 มะเร็งที่แพร่กระจายยังตับ

2. ระดับของ cholinesterase สูงขึ้นในภาวะต่อไปนี้คือ

2.1 nephrotic syndrome

2.2 ผู้ป่วยที่มีการทำลายของ parenchyma ของสมอง

2.3 มะเร็งของสมอง

2.4 ฝีในสมอง

2.5 Guillian - Barre disease

2.6 meningitis

2.7 multiple sclerosis

เกษตรกรที่เจ็บป่วยและมาทำการรักษาที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ปีหนึ่งๆ มีเป็นจำนวนมาก การหาระดับเอนไซม์ cholinesterase ของเกษตรกรเหล่านี้ จะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของระดับเอนไซม์ cholinesterase กับความเจ็บป่วยของเกษตรกร เพราะระดับเอนไซม์ cholinesterase ที่ต่ำลง ย่อมเป็นข้อบ่งชี้ว่าทำให้กระทบกระเทือนต่อสุขภาพอนามัย ซึ่งผลของยาฆ่าแมลงนับว่าจะกลายเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศในอนาคต ถ้าไม่มีการควบคุมหรือชี้แจงให้เกษตรกรเข้าใจถึงวิธีป้องกันตนเองในการใช้ยาฆ่าแมลงหรือ วิธีการใช้ยาฆ่าแมลงที่ถูกต้อง และข้อมูลที่ได้ยังเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในด้านการวินิจฉัยโรค และในด้านการรักษา ดังนั้น การวิจัยนี้ต้องการทราบ

1. เกษตรกรที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลมีระดับ enzyme serum cholinesterase ต่ำกว่าปกติจำนวนมากหรือน้อย
2. การกระจายของโรคในกลุ่มเกษตรกรที่มีระดับ serum cholinesterase ต่ำอย่างไร และในแต่ละโรคนั้นเป็นผลมาจากการเกิดพิษจากสารปราบศัตรูพืชที่ใช้หรือไม่
3. ฤดูกาลมีผลต่อการใช้สารปราบศัตรูพืชหรือไม่ โดยดูจากระดับ serum cholinesterase
4. พฤติกรรมในการใช้สารปราบศัตรูพืช

2. <u>วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ</u>

2.1 <u>อุปกรณ์</u>

UV/Visible Spectrophotometer(Model Uvidec -650), Double beam, Grating monochromator, Wavelenght range 195-900 manometers, including quart window cuvette of 1 cm. light paths.

2.2 <u>วัสดุ</u>

- Pipette ขนาด 5 ml. และ 0.2 ml.
- Test tube ขนาด 10 ml.

2.3 <u>สารเคมี</u>

2.3.1 0.01 % 5,5 - dithiobisnitrobenzoic acid solution in phosphate buffer pH 7.4 (sol^n I)

การเตรียม phosphate buffer pH 7.4

A) anh. Na_2HPO_4 2.8395 gm. ละลายในน้ำ 300 ml.($Na_2HPO_4.2H_2O$ ให้ชั่งมา 3.5594 gm. ละลายในน้ำ 300 ml.)

B) KH_2PO_4 0.9073 gm. ละลายในน้ำ 300 ml.

Mix

240 ml. of A

60 ml. of B

จะได้ phosphate buffer pH 7.4

เตรียม stock solution 5,5 - dithiobisnitrobenzoic acid solution

5,5 - dithiobisnitrobenzoic acid 150 ml. ละลายใน buffer pH 7.4 50 ml. จะได้ stock solution 15 mg. ใน 5 ml.

เตรียม 0.01 % 5,5 - dithiobisnitrobenzoic acid solution

ไปเปต stock solution 5 ml เติม buffer ให้มีปริมาณเป็น 150 ml.

2.3.2 5% Acetylthiocholine iodide solution (sol^n II)

Acetylthiocholine iodid 0.25 gm. ละลายน้ำ 5 ml.

2.4 วิธีการ

2.4.1 การเก็บตัวอย่าง

ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากเกษตรกรที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ที่จะต้องเจาะเลือดตรวจเพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรค ที่แผนกเจาะเลือดผู้ป่วยนอก โดยขอแบ่งเลือดมา 2 ml.(clot blood) พร้อมกับทำแบบสอบถามตามแบบ form ที่เตรียมไป พยายามเก็บตัวอย่างให้ได้มากที่สุด โดยไม่จำกัดเพศ, อายุ และชนิดของโรค

2.4.2 วิธีทำ

1. เลือดจากคนไข้ประมาณ 2 ml. บรรจุใน test tube ทิ้งไว้ 15-20 นาที ให้เลือด clot
2. ใช้เหล็กหรือลวดแหลมๆ ที่สะอาดเขี่ยเลือดที่ clot ติดข้างๆ ขวดเบาๆ ให้

serum ไหลได้ ระวังอย่าให้ haemorrhage ทิ้งไว้ 5-10 นาที ให้เลือด clot ต่อ

3. Centrifuge ได้ serum
4. Pipette 3 ml. 0.01 % Dithiobisnitrobenzoic acid (sol^{n} I) ใส่ใน test tube เดิม
5. Pipette 0.02 ml. of serum (20 Ul) ใส่ใน test tube เดิม
6. Pipette 0.1 ml. of 5 % acetylthiocholim iodide sol^{n} (sol^{n} II) ใส่ใน test tube เดิม
7. ปั่นให้ผสมกันกับเครื่อง Vortex, mix นาน 5 นาที
8. วัด spectrophotometer ที่ 405 nm.ทุกๆ 30 วินาที 4 ครั้ง (120 วินาที) (ใช้ air เป็น reference)
9. หาค่าแตกต่างกันของ absorbance ทุกๆ 30 วินาที ($_{A}$/30 sec) ใช้ค่านี้สำหรับคำนวณ

<u>หมายเหตุ</u> ถ้าค่า $_{A}$/30 sec เกิน 0.200 ให้ dilute 0.1 ml. sample ด้วย 0.4 ml. ของ 0.9 % NaCl แล้ววัดค่าใหม่ หลังจากนั้นจึงคูณกลับด้วย 5

10. ค่า $_{A}$ /30 sec x 23400 = milliunits/ml. (mU/ml.)

ค่าปกติของ cholinesterase activity ใน serum = 1,900-4,000 mU/ml. (ค่าของต่างประเทศ)

ค่าปกติของ cholinesterase activity ของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนืออยู่ระหว่าง 1,615-4,867 mU/ml.

$$A/30\ sec = Absorp_2 - Absorp_1 = X_1$$
$$= Absorp_3 - Absorp_2 = X_2$$
$$= Absorp_4 - Absorp_3 = X_3$$
$$= \frac{X_1 + X_2 + X_3}{3}$$

3. ผลการทดลอง

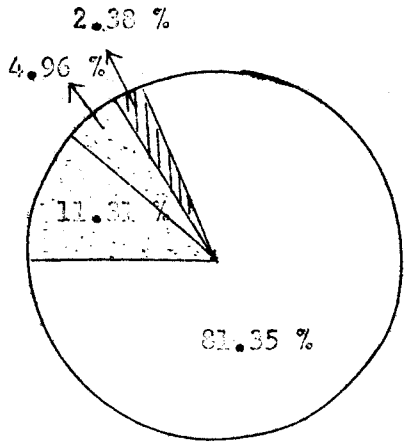
จำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาทั้งหมด 504 ตัวอย่าง พบว่าจำนวนที่มีระดับ enzyme serum cholinesterase ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. 82 คน คิดเป็น 16.27 เปอร์เซ็นต์ การที่ใช้ระดับ serum cholinesterase เท่ากับ 1,900 mU/ml. เป็นเกณฑ์ต่ำสุดของค่าปกติ

ตารางที่ 4 ระดับเอ็นไซม์ในเพศชายและเพศหญิง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

ระดับเอ็นไซม์ (mU/ml.)	เพศชาย (คน)	เพศหญิง (คน)	รวมเพศชายและหญิง (% จาก 504 คน)
401 - 650	1	1	0.39
651 - 900	2	5	1.39
901 - 1150	5	4	1.78
1151 - 1400	14	7	4.17
1401 - 1650	9	6	2.98
1651 - 1900	13	15	5.56
1901 - 2000	7	5	2.38
มากกว่า 2000	149	261	81.35

เนื่องจากช่วงความกว้างของค่าปกตินั้นกว้างมากคือ อยู่ระหว่าง 1900-4000 mU/ml. และความเป็นพิษนั้นขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์ของ cholinesterase ที่ถูก inhibit ดังนั้นค่าที่วัดได้ 2,000 mU.ml. นั้นอาจทำให้เกิดพิษแล้ว

จากตารางที่ 4 จะเห็นว่าจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum cholinesterase ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. เป็น 1 ใน 5 ของจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum cholinesterase สูงกว่า 2,000 mU/ml.และมีจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE อยู่ระหว่าง 1901-2,000 mU/ ml. 12 คน คิดเป็น 2.38 % หรือ 1 ใน 34 ของจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum



☐ จำนวนตัวอย่างที่มีค่าระดับ serum ChE สูงกว่า 2,000 mU/ml.

▨ จำนวนตัวอย่างที่มีค่าระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. (16.27 %) แบ่งเป็น

- 4.96 % เป็นจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. อันอาจเนื่องมาจากโรคที่เป็น
- 11.31 % เป็นจำนวนตัวอย่างที่ต่ำจริง

▧ จำนวนตัวอย่างที่มีค่าระดับ serum ChE อยู่ระหว่าง 1,901-2,000 mU/ml.

รูปที่ 2 แสดงอัตราส่วนระหว่างจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. จำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE สูงกว่า 2,000 mU/ml. และจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE อยู่ระหว่าง 1,901 - 2,000 mU/ml.

ChE สูงกว่า 2,000 mU/ml. จำนวนตัวอย่างในกลุ่มนี้ เป็นกลุ่มที่เสี่ยงต่อการเกิดพิษจากระดับ serum ChE ต่ำกว่าปกติ เป็นกลุ่มที่จะต้องคอยเฝ้าระวัง

จำนวนตัวอย่างที่มีระดับ serum ChE อยู่ระหว่าง 401-900 mU/ml. ซึ่งนับว่าเป็นระดับที่ค่อนข้างต่ำ มีจำนวนทั้งหมด 9 คน ในจำนวน 9 คนนี้จะมาด้วยโรค มีไข้ 1 คน มะเร็งในระยะที่กระจายไปหัวตับ มี 6 คน โรคตับ 1 คน ถุงน้ำดีอุดตัน 1 คน ซึ่งถุงน้ำดีอุดตันยังไม่ทราบสาเหตุว่าเกิดจากมะเร็งหรือเกิดจากนิ่ว ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในกลุ่มที่มีระดับ serum ChE ที่ต่ำมาก ในคนไข้ จะมีการทำลายของตับซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญในการผลิต enzyme และโดยมากจะมาด้วยโรคมะเร็ง

ตารางที่ 5 โรคในผู้มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml. ในเพศชาย และเพศหญิง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

ลำดับที่	โรค	เพศชาย (คน)	เพศหญิง (คน)	รวมเพศชายเพศหญิง(คน)	เปอร์เซ็นต์ จาก 82 คน
1.	โรคตับ	5	2	7	8.53
2.	โรคไต	2	-	2	2.44
3.	โรคหัวใจ	3	6	9	10.97
4.	โรคบริเวณช่องท้อง	11	6	17	20.73
5.	โรคปอด	2	-	2	2.44
6.	โรคบริเวณมดลูด	-	6	6	7.32
7.	โรคมะเร็ง	4	9	13	15.85
8.	โรคถุงน้ำดี	-	1	1	1.22
9.	โรคเลือด	1	-	1	1.22
10.	โรคบริเวณคอ	2	1	3	3.66
11.	โรคผิวหนัง	2	2	4	4.88
12.	ไข้	2	-	2	2.44
13.	โรคอ่อนเพลีย	1	-	1	1.22
14.	ม้ามโต	1	-	1	1.22
15.	ฝากครรภ์	-	2	2	2.44
16.	มือบวม	1	-	1	1.22
17.	ปวดข้อ ปวดกระดูก	2	2	4	4.88
18.	โรคตา	2	-	2	2.44
19.	ไม่บอกอาการ	2	2	4	4.88

จากตารางที่ 5 โรคที่มีผลทำให้ระดับ serum ChE ต่ำลง ได้แก่ อันดับที่ 1, 7, 9, 12, 15 ฉะนั้น เมื่อตัดโรคเหล่านี้ออกซึ่งมีทั้งหมด 25 คน จะเหลือจำนวนที่มีระดับ serum ChE ต่ำอันอาจเนื่องมาจากใช้สารปราบศัตรูพืชที่เป็น inhibitor ของ enzyme serum ChE จำนวน 82-25 = 57 คน คิดเป็น 11.31 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และในจำนวน 57 คนนี้ เมื่อดูโรคที่เป็น ไม่สามารถจะบอกได้ว่าเกิดเนื่องมาจากการที่มีระดับ enzyme serum ChE ที่ต่ำลง ดูการเปรียบเทียบสัดส่วนในรูปที่ 2

ตารางที่ 6 พฤติกรรมในการใช้สารปราบศัตรูพืชในกลุ่มที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml.

ลักษณะการใช้	จำนวน (คน)	จำนวนที่ChE ต่ำกว่า1900 mU/ml. เนื่องจากโรค (คน)	จำนวนที่ต่ำจริง (คน)	% ที่ต่ำจริง จาก 57 คน
ใช้เป็นประจำ*	35	8	27	47.37
ใช้เป็นบางครั้ง**	25	10	15	26.32
เคยใช้ (แต่หยุดใช้ > 1 ปี)	7	2	5	8.77
ไม่เคยใช้	15	5	10	17.54
รวม	82	25	57	100

* ใช้เป็นประจำ = ทุกครั้งที่ทำนาหรือทำสวน จะใช้สารปราบศัตรูพืช

** ใช้เป็นบางครั้ง = ทำนา ทำสวน จะใช้สารปราบศัตรูพืชเป็นบางครั้ง

ตารางที่ 7 ชนิดของสารปราบศัตรูพืชที่เกษตรกรใช้

ชนิด	จำนวน (คน)	เปอร์เซ็นต์จาก 57 คน
Organophosphate	27	47.37
ไม่ทราบ	20	35.09
ไม่เคยใช้	10	17.54
รวม	57	100

จากตารางที่ 6 จะเห็นว่า ในคนที่ใช้สารปราบศัตรูพืชเป็นประจำจะมีระดับ ChE ต่ำกว่าปกติถึง 47.37 % ในคนที่ใช้เป็นบางครั้ง มี serum ChE ต่ำกว่าปกติจำนวนลดลงคือ 26.32 % แต่เป็นที่น่าสังเกตุว่าในจำนวนที่ไม่เคยใช้สารปราบศัตรูพืชเลยกลับมี serum ChE ต่ำกว่าปกติ มีจำนวนสูงกว่ากลุ่มที่เคยใช้แต่หยุดใช้มานานกว่า 1 ปีแล้ว(8.77 %) มีจำนวนถึง 17.54 % เหตุนี้พอจะอธิบายได้ว่ากลุ่มที่บอกว่าไม่เคยใช้เลยนั้น ตอบแบบสอบถามไม่ตรงความเป็นจริง ซึ่งอาจจะเนื่องจากสาเหตุต่างๆ

จากตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่า สารปราบศัตรูพืชที่เกษตรกรนิยมใช้นั้น คือ กลุ่ม Organophosphate pesticides และตัวที่รู้จักกันดีก็คือ parathion จะเห็นว่าจำนวนผู้ที่ไม่ทราบชนิดของสารปราบศัตรูพืชมีถึง 35.09 % สามารถอธิบายได้ดังนี้

ประการแรก : เกษตรกรส่วนมากจะมีการศึกษาต่ำ การที่จะต้องไปจำชื่อสารเป็นภาษาอังกฤษ นั้นเป็นสิ่งที่จำยาก

ประการที่สอง : เกษตรกรกลุ่มนี้ไม่ต้องการจะบอกชนิดของสารปราบศัตรูพืชที่ใช้

ซึ่งประการแรกน่าจะเป็นไปได้มากที่สุด เนื่องจากไม่มีเหตุผลที่จะไม่ยอมบอกชนิดของสารปราบศัตรูพืช

ห้องสมุด
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 8 พฤติกรรมในการป้องกันตนเองระหว่างการใช้สารปราบศัตรูพืชในกลุ่มเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml.

การป้องกันตนเอง	จำนวน	เปอร์เซ็นต์จาก 57 คน
ฉีดพ่นโดยใส่หน้ากาก	-	-
ฉีดพ่นโดยใช้ผ้าปิดหน้า	5	8.77
ฉีดพ่นโดยไม่ใช้สิ่งปกปิด	42	73.69
ไม่เคยใช้	10	17.54
รวม	57	100

ตารางที่ 9 พฤติกรรมในการระวังโดยการดูทิศทางลมในกลุ่มเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml.

ทิศทางลม	จำนวน	เปอร์เซ็นต์จาก 57 คน
อยู่เหนือลม	18	31.58
อยู่ใต้ลม	-	-
ไม่เคยดูทิศทาง	29	50.88
ไม่เคยใช้	10	17.54
รวม	57	100

QA
RA
1270
.P4
ส128

ท46830

จากตารางที่ 8 และ 9 การป้องกันตนเองของเกษตรกรเหล่านี้นับว่าน้อยมาก โอกาสที่จะได้รับสารปราบศัตรูพืชโดยการหายใจเข้าไปมีมาก

ตารางที่ 10 แสดงอิทธิพลของฤดูกาลที่มีผลต่อระดับ serum ChE ในเกษตรกร ที่มีระดับ Serum ChE ต่ำกว่า 1,900 mU/ml.

ฤดู	จำนวน (คน)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด (คน)	% ของตัวอย่างที่ ChE ต่ำในแต่ละฤดู
ฤดูร้อน(มี.ค.-มิ.ย.)	6	91	6.59
ฤดูฝน(ก.ค.-ต.ค.)	16	139	11.51
ฤดูหนาว(พ.ย.-ก.พ.)	60	274	21.90

จากตารางที่ 10 จะเห็นว่าในฤดูหนาวนั้นเกษตรกรมีจำนวน serum ChE ต่ำกว่าปกติมีจำนวนมากกว่า ฤดูอื่นๆ เนื่องจากในฤดูหนาวนี้ มีการทำสวนผักกันมาก ผักต่างๆ สามารถงอกงามได้ดี การที่จะให้ผักสวย ไม่มีแมลงกัดกินใบ จำเป็นจะต้องฉีดยาฆ่าแมลงเป็นระยะก่อนที่จะมีการเก็บเกี่ยว ในฤดูฝน ช่วงต้นๆ ฤดู ชาวนาบางส่วนจะใช้สารปราบศัตรูพืชพ่นใส่ต้นกล้า เพื่อฆ่าปูที่จะกัดกินต้นกล้า หลังจากนั้นการใช้สารปราบศัตรูพืชในการทำนาจะน้อยมาก การปลูกผักในฤดูฝนน้อยกว่าในฤดูหนาว การใช้สารปราบศัตรูพืชก็จะน้อยกว่าในฤดูหนาว นอกจากนี้เมื่อใส่หรือพ่นสารปราบศัตรูพืชลงในพืชผักแล้ว ฝนที่ตกลงมายังชะล้างสารปราบศัตรูพืชที่จับอยู่บนผักให้เจือจาง ซึ่งพืชเหล่านี้ส่วนหนึ่งเกษตรกรจะนำมาบริโภคเอง ดังนั้นสารปราบศัตรูพืชสามารถเข้าสู่ร่างกายเกษตรกรเหล่านี้ได้โดยการทาน ปริมาณที่เข้าสู่ร่างกายจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณสารปราบศัตรูพืชที่ตกค้างอยู่บนพืชผักและวิธีการล้างพืชผักเหล่านี้ก่อนนำมาบริโภค จากเหตุผลต่างๆ เหล่านี้ทำให้ระดับ serum ChE ของเกษตรกรในฤดูฝนต่ำกว่าปกติ มีจำนวนน้อยกว่าในฤดูหนาว สำหรับในฤดูร้อนการทำนาและการปลูกผักหรือการทำสวนจะน้อย การใช้สารปราบศัตรูพืชก็น้อยด้วย ดังนั้น เกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่าปกติ ในฤดูร้อนมีจำนวนน้อยคือมี 6.59 % ของจำนวนตัวอย่างที่เก็บมาในช่วงฤดูนั้นๆ

4 สรุปและวิจารณ์

เกษตรกรที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์มีระดับ serum ChE ต่ำกว่าปกติ11.31 % เมื่อเทียบสัดส่วนกับจำนวนที่ปกติคือ 81.35 % เท่ากับ 1:7 นับว่าเป็นจำนวนที่มาก และใน 11.31 % นี้ เมื่อดูโรคที่เป็นไม่สามารถจะบอกได้ว่า เกิดเนื่องจากการที่มีระดับserum ChE ที่ต่ำลง เนื่องจากเกษตรกรเหล่านี้ที่มาโรงพยาบาลศรีนครินทร์ต่อเมื่อมีอาการหนัก หรือป่วยด้วยโรคที่ค่อนข้างจะรุนแรง เกษตรกรที่มีอาการป่วยเล็กๆ น้อยๆ เช่น อ่อนเพลียวิงเวียน เมื่อยง่าย ไม่มีแรง ฯลฯ จะไปรับการรักษาที่สถานีอนามัย หรือโรงพยาบาลประจำอำเภอ มากกว่าที่จะมาทำการรักษาที่โรงพยาบาลประจำจังหวัด หรือบางรายอาจจะไม่ไปรับการรักษาเลย ในกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่น่าจะศึกษาระดับ serum ChE เนื่องจากระดับ enzyme ที่ต่ำลงอาจจะเป็นผลทำให้เกิดการเจ็บป่วยเหล่านี้ นอกจากนี้ยังมีเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำกว่าปกติ อันเนื่องมาจากโรคที่เป็นพบ 4.96 % เกษตรกรที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดพิษ เนื่องจากระดับ serum ChE ต่ำ (1,901-2,000 mU/ml.) พบ 2.38 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด

พฤติกรรมในการใช้สารปราบศัตรูพืชโดยส่วนรวมแล้วยังมีพฤติกรรมที่ไม่ถูกต้อง เกษตรกรส่วนมากไม่เห็นความสำคัญในการป้องกันตนเองในขณะที่ใช้สารปราบศัตรูพืชอาจเนื่องจากเกษตรกรเหล่านี้มีการศึกษาต่ำ การหายใจเอาไอระเหยของสารปราบศัตรูพืชเข้าไปเพียงเล็กน้อยไม่ถึงกับเสียชีวิต เมื่อมีพฤติกรรมอย่างนี้ซ้ำๆ จะทำให้เกิดความเคยชิน อาการพิษจากการได้รับสารปราบศัตรูพืชที่ใช้ คงเป็นเพียงแค่มีอาการวิงเวียน คลื่นไส้ หน้ามืด หยุดพัก ทานอาหารรสจัดและรสเปรี้ยว ก็จะหายได้ภายในครึ่งถึงหนึ่งชั่วโมง แต่ถ้าได้รับสารปราบศัตรูพืชเข้าสู่ร่างกายเป็นระยะเวลานานพอควร จะทำให้เกษตรกรเหล่านี้มีสุขภาพที่อ่อนแอ เมื่อสุขภาพกายอ่อนแอสุขภาพใจก็พลอยอ่อนแอไปด้วย ความกระตือรือร้นในการที่จะมีชีวิตความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นก็จะน้อยลงหรือหมดไป เป็นผลเสียหายต่อสังคมและประเทศชาติอย่างมากมาย เมื่อดูฤดูกาลก็พบว่า ฤดูกาลมีความสัมพันธ์ต่อระดับ serum ChE ที่ต่ำลง ฤดูหนาวจะพบเกษตรกรที่มีระดับ serum ChE ต่ำมากที่สุด ฤดูฝนและฤดูร้อนจะพบน้อยลงตามลำดับ เนื่องจากในฤดูหนาวจะมีการปลูกพืชผักกันมาก เพราะผักต่างๆ สามารถงอกงามได้ดี การที่จะให้ผักสวยไม่มีแมลงกัดกินใบ จำเป็นจะต้องฉีดยา

ฆ่าแมลงเป็นระยะๆ ก่อนที่จะมีการเก็บเกี่ยว ฤดูฝนและฤดูร้อนจะมีการทำสวนหรือปลูกผักน้อยกว่าฤดูหนาว การใช้สารปราบศัตรูพืชก็น้อยลงตามไปด้วย พืชผักที่เกษตรกรเหล่านี้ปลูกนอกจากจะนำไปขายแล้ว ส่วนหนึ่งยังนำมาบริโภคเอง การล้างผักก่อนการบริโภค ถ้าไม่สะอาดจะมีสารปราบศัตรูพืชตกค้างมาก ดังนั้นสารปราบศัตรูพืชสามารถเข้าสู่ร่างกายเกษตรกรเหล่านี้ได้อีกทางหนึ่งคือโดยการรับประทานเข้าไป.

เอกสารอ้างอิง

1. Clarke EGC. Isolation and Identification of Drugs, Vol.2. London: The Pharmaceutical Press, 1974 : 887
2. Hodgson Ernest and Guthrie, Frank E. Introduction to Biochemical Toxicology, New York: Elsevier North Holland, Inc, 1980:193-223.
3. มณีวรรณ แท่นรัตนวิจิตร , อัมพร แจ่มสุวรรณ. ค่าปกติของเอ็นไซม์ Cholinesterase ในซีรัมของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ขอนแก่น: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2527.
4. ปิยาวรรณ์ สุรินทร์รัฐ เอนไซม์ กรุงเทพฯ : ภาควิชาเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2530: 234-239.
5. สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์.ปฏิบัติการพิษวิทยา ขอนแก่น: ,ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,2531:110-133.
6. ระวีรรณ เรืองยุทธิการณ์ และศุภรัตน์ ธรรมพิทักษ์. "ระดับโคลีนเอสเทอเรสในซีรัมคนปกติ "วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 16,2 (พฤษภาคม 2526): 97-102.
7. สาวิตร วรรณพิณ, เสริม สีมา, ยุวรี ถี่ถ้วน และสมปอง ทองดีแท้ ระดับเอ็นไซม์ในเลือดของเกษตรกรทำสวนผัก งานวิจัยวัตถุมีพิษที่ใช้กับพืชผัก กองวัตถุมีพิษการเกษตร กทม.

ห้องสมุด
มหาวิทยาลัยขอนแก่น