

The Study of Cholinesterase Level in Postmortem Hemolyzed Blood in Carbamate Ingestion

การศึกษาระดับเอนไซม์คอลีเนสเทอเรสในเลือดภายหลังตายในกรณีเสียชีวิตจากการกินสารคาร์บาเมต

Nopporn Chuntoo M.D.*, Peerayuth Phuangphung M.D.*, Wichai Wongchanapai M.D., Ph.D.*

* Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand

นพพร ชุนตอ พ.บ.†, พีรยุทธ เพ็องฟุ้ง พ.บ.†, วิชัย วงศ์ชนะภัย พ.บ., ปร.ด.

†ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700, ประเทศไทย

Abstract

Objective: To study cholinesterase level in postmortem hemolyzed blood at difference time compare between carbamate ingestion and non-carbamate ingestion.

Material and Methods: Samples of postmortem blood were collected from 7 cadavers dead from carbamate poisoning and from 33 cadavers dead from other causes. Whole blood cholinesterase activities were analyzed by spectrophotometer at initial time , 3 and 6 hr., and 1, 2, 3, 5 and 7 day.

Results: The initial value of cholinesterase activity from postmortem hemolyzed blood collected from cadavers who did not die from intoxication was $9177.00 \pm 1,834.21$ u/l. Cholinesterase value stabilized during the first two days and then significantly decreased from the initial value after day 3 ($p < 0.01$). In contrast, the initial value of cholinesterase activity in cadavers died from carbamate poisoning was $2,797.72 \pm 654.76$ u/l which stabilized in the day 1 and then significantly increased after day 2 ($p < 0.01$). Comparison of enzyme activity in both groups, there were significantly different among the initial time, 3 and 6 hr., and day 1 ($p < 0.001$) and revealed $p < 0.01$ at day 2, while there were not significantly different among days 3, 5, and 7.

Conclusion: Cholinesterase activity from the dead not caused by intoxication decreased significantly after day 3. In contrast, cholinesterase activity from the group of carbamate poisoning

death increased significantly after day 2. Therefore, level of cholinesterase activity could better prove the cause of death from carbamate poisoning within 2 days after death.

Keywords: Cholinesterase, Carbamate, Postmortem blood

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาระดับ cholinesterase activity ใน postmortem hemolyzed blood ที่เวลาต่างๆ และเปรียบเทียบ cholinesterase activity ระหว่างกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และจากสาเหตุอื่น

วิธีการศึกษาวิจัย: เก็บเลือดจากผู้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning 7 ราย และจากสาเหตุอื่น 33 ราย เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อทำการวิเคราะห์หาค่าระดับเอนไซม์ cholinesterase และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ ที่เวลา 0, 3, 6 ชม. และ 1, 2, 3, 5, 7 วันตามลำดับ ระหว่างทั้งสองกลุ่ม

ผลการศึกษา: ระดับเอนไซม์ cholinesterase ของกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning ณ เวลาเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ $9177.00 \pm 1,834.21$ u/l ในเวลาต่อมาระดับเอนไซม์จะอยู่ในระดับค่อนข้างคงที่ในช่วง 2 วันแรกและจะพบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญภายหลังเวลา 3 วัน ($p < 0.01$) ในขณะที่กลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning ณ เวลาเริ่มต้นระดับเอนไซม์มีค่าเท่ากับ $2,797.72 \pm 654.76$ u/l จะมีแนวโน้มคงที่ในช่วง 1 วันแรก แต่ต่อมาจะเพิ่มขึ้นจนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาตั้งแต่ 2 วันขึ้นไป ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างทั้งสองกลุ่มจะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.001$ ที่เวลาเริ่มต้น, 3, 6 ชั่วโมง และ 1 วัน และ $p < 0.01$ ที่เวลา 2 วัน ในขณะที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน จะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป: ระดับเอนไซม์ cholinesterase ใน postmortem blood มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเวลาผ่านไป หลังจาก 3 วันนับจากเสียชีวิตโดยกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเวลาตั้งแต่ 2 วันภายหลังตายขึ้นไป ดังนั้นการตรวจหาระดับ cholinesterase ในเลือด จะช่วยวินิจฉัย carbamate poisoning ภายหลังเสียชีวิตมาไม่เกิน 2 วัน

คำสำคัญ: โคลินเอสเทอเรส, คาร์บาเมต, เลือดภายหลังตาย

บทนำ

เนื่องด้วยประเทศไทยมีการทำการเกษตรกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งพบว่ามีรายงานว่ามีการใช้สารเคมีจำพวก carbamate จำนวนมาก ในการกำจัดวัชพืชและการฆาตกรรม จากการศึกษาในอดีตเกี่ยวกับสภาพปัญหาและการปรับตัวในชาย-หญิงผู้พยายามฆ่าตัวตาย พบว่าส่วนใหญ่เป็นสารเคมีที่หาได้ง่าย ที่พบได้บ่อยคือสารเคมีในกลุ่ม pesticide สารในกลุ่มนี้ได้แก่ organophosphate และ carbamate ซึ่งจากการที่มีการใช้จำนวนมากนี้ จึงมีความสำคัญและเป็นเป้าหมายที่จะศึกษาวิจัย

การชันสูตรพลิกศพภายหลังการตายในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ระยะภายหลังการตายทันที จนถึงภาวะที่สภาพศพเน่าเต็มที่ ในการที่จะวินิจฉัยว่าเป็นการเสียชีวิตจาก pesticide poisoning ในกลุ่มดังกล่าวนี้ จำเป็นต้องส่งตรวจ ระดับ cholinesterase activities เพื่อเป็น screening test เลือดที่นำส่งตรวจ ภายหลังเสียชีวิตมักจะมีลักษณะเป็น hemolyzed blood องค์ประกอบของเลือดมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายหลายอย่าง ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาแล้วยังไม่มีรายงานว่าระดับของ cholinesterase activities ใน hemolyzed blood เปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ อย่างไร โดยเฉพาะในกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate ingestion

จากที่กล่าวมาแล้วนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาระดับ cholinesterase activity ใน postmortem hemolyzed blood ที่เวลาต่างๆ และเปรียบเทียบ cholinesterase activity ระหว่างกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และจากสาเหตุอื่น

วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

แหล่งที่มาของประชากร (source of study population) คือ ศพที่เข้ามาทำการชันสูตรพลิกศพและ/หรือ ผ่าศพพิสูจน์ที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดลในช่วงเวลา เมษายน พ.ศ. 2553 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2554 โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกประชากรที่ศึกษา (selection criteria) ดังนี้

เกณฑ์รับเข้ากลุ่มศึกษา (inclusion criteria)

กลุ่มที่ 1 ศพที่เข้ามาทำการชันสูตรพลิกศพ และ/หรือ ผ่าศพพิสูจน์ที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ โดยที่สาเหตุการตายไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning ซึ่งศพอยู่ในสภาพที่สามารถเก็บเลือดส่งตรวจได้ และเสียชีวิตมาไม่เกิน 24 ชั่วโมง

กลุ่มที่ 2 ศพที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning อยู่ในสภาพที่สามารถเก็บเลือดส่งตรวจได้ และเสียชีวิตมาไม่เกิน 24 ชั่วโมง

เกณฑ์คัดออกจากกลุ่มศึกษา (exclusion criteria)

1. ศพที่ได้รับบาดเจ็บรุนแรงจนไม่สามารถเก็บเลือดส่งตรวจได้
2. ศพที่เสียชีวิตจาก chronic illness
3. ศพที่เสียชีวิตจาก massive hemorrhage
4. ศพที่มีการเสื่อมสลายจากการเน่าแล้ว

หลังจากคัดเลือกประชากรที่ศึกษาแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือเก็บเลือดจากหัวใจจากแต่ละตัวอย่าง ตัวอย่างละ 80 ลบ.ซม นำเลือดทั้งสองกลุ่มใส่หลอดทดลองทั้งหมดตัวอย่างละ 8 หลอดทดลอง เปิดฝาตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องปล่อยให้เลือดเกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตาย และนำเลือดนั้นไปตรวจหาระดับ cholinesterase activity ณ เวลาที่ 0, 3, 6 ชั่วโมงและวันที่ 1, 2, 3, 5 และ 7 จาก whole blood

วิธีวิเคราะห์หาระดับ Cholinesterase enzyme โดยวิธี whole blood^(1,2)

สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ (1) 5% acetylthiocholin iodide solution เป็น substrate (2) 10 mg. ของ 5,5 dithiobis-2-nitro benzoic acid ใน 100 ml. ของ phosphate buffer pH 7.4

การเตรียมสารละลาย phosphate buffer pH 7.4 (1) ละลาย anhydrous disodium hydrogen phosphate 9.465 กรัม ในน้ำเจือจางเป็น 1,000 มล. (2) ละลาย potassium dihydrogen phosphate 9.073 กรัม ในน้ำเจือจาง 1,000 มล. นำสารละลายทั้งสองผสมในอัตราส่วน 80 ml : 20 ml

วิธีวิเคราะห์ใน whole blood ใช้ blood hemolysate (เลือด 0.02 ml ในน้ำกลั่น 1.0 ml) 0.10 ml, buffer 3.0 ml, และ Substate 0.10 ml ผสมเข้าด้วยกันใน cuvette โดยการพลิกไปมา 2-3 ครั้ง นำน้ำยาไป อ่านค่า O.D. (optical density) โดย set เครื่องวัดที่ 405 นาโนเมตรในช่วงเวลา 60 วินาที วิธีคำนวณ O.D. x 122707 ค่าปกติของเวลา cholinesterase ด้วยการตรวจวิธี whole blood = 3,500 – 6,500 u/l

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ dependence repeated measurement ANOVA ในการเปรียบเทียบ การเปลี่ยนแปลงระดับของ cholinesterase เมื่อเวลาผ่านไปเทียบกับเวลาที่เริ่มต้น ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ independence pair t-test analysis จากโปรแกรม SPSS software version 13 ในการเปรียบเทียบระดับของ cholinesterase ในเลือดจากกลุ่มที่ 1.เสียชีวิตจากสาเหตุอื่น และกลุ่มที่ 2. เสียชีวิตจาก carbamate poisoning เพื่อดูว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

ผลการศึกษา

จำนวนประชากรทั้งหมดที่ศึกษา ทั้งสองกลุ่มรวม 41 รายอายุตั้งแต่ 15 -65 ปี กลุ่มที่ 1.กลุ่มที่ไม่ได้ เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จำนวน 33 ราย เป็นเพศชายจำนวน 28 คน(84.48%) อายุตั้งแต่ 15 –

65 ปี อายุเฉลี่ย 36 ปีและเป็นเพศหญิงจำนวน 5 คน(15.52%) อายุตั้งแต่ 19 – 42 ปี อายุเฉลี่ย 37 ปี และกลุ่มที่ 2.กลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จำนวน 7 ราย เป็นเพศชายจำนวน 6 คน(85.7%)และเป็นเพศหญิงจำนวน 1 คน(14.3%) อายุตั้งแต่ 30 – 35 ปี อายุเฉลี่ย 49 ปี โดยข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่ศึกษาเป็นไปดังแสดงในตารางที่ 1

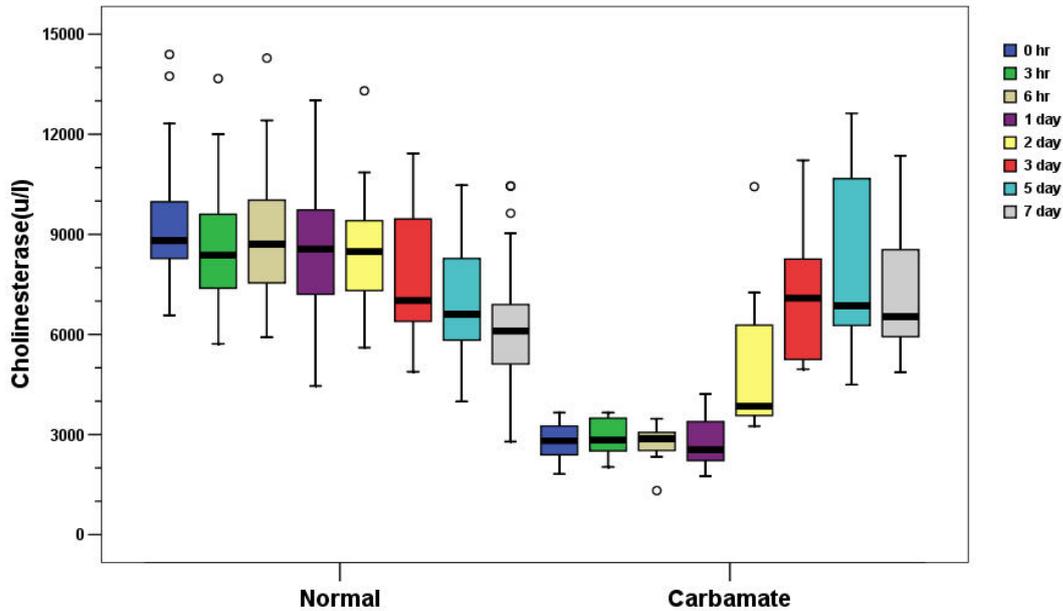
กลุ่ม	เพศชาย	เพศหญิง
กลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning	28	5
กลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning	6	1

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนประชากรที่ศึกษาแยกตามสาเหตุการตายและเพศ

ระดับ cholinesterase ที่วัดได้ในระยะเวลาต่าง ๆ นั้น (ดังแสดงในตารางที่ 2) ในกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ $9177.00 \pm 1,834.21$ u/l ในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ $6,347.41 \pm 1,921.37$ u/l ในกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 2797.71 ± 654.75 u/l ในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ $7,385.21 \pm 2,440.54$ u/l (ดังแสดงในตารางที่ 2 และ รูปที่ 1)

Time	Other cause (u/l)	Carbamate poisoning(u/l)
0 hr	$9177.00 \pm 1,834.21$	$2,797.72 \pm 654.76$
3 hr	$8,609.94 \pm 1,770.38$	$2,930.07 \pm 627.59$
6 hr	$8,987.17 \pm 1,767.63$	$2,689.91 \pm 700.31$
1 day	$8,592.84 \pm 1,854.56$	$2,817.00 \pm 869.28$
2 day	$8,402.83 \pm 1,573.98$	$5,316.72 \pm 2,659.54$
3 day	$7,736.12 \pm 1,796.86$	$7,183.62 \pm 2,293.54$
5 day	$7,031.48 \pm 1,617.19$	$8,266.07 \pm 3,027.47$
7 day	$6,347.41 \pm 1,921.37$	$7,385.21 \pm 2,440.54$

ตารางที่ 2 แสดงระดับ cholinesterase enzyme ที่ระยะเวลาต่างกัน ของกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning

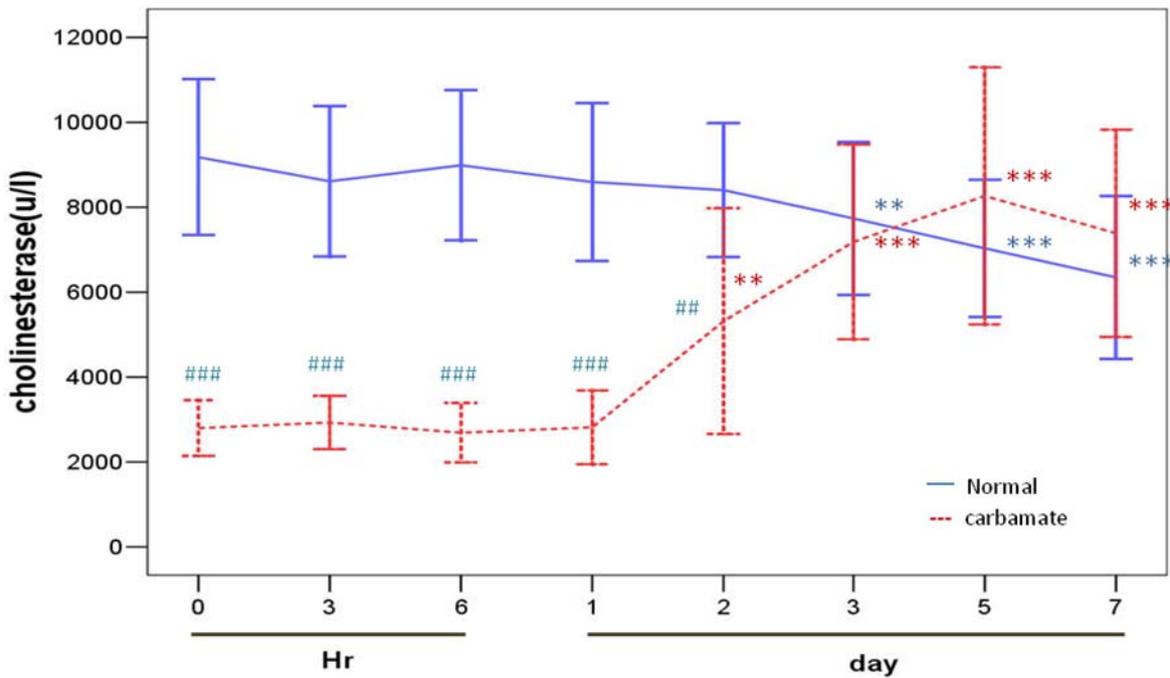


รูปที่ 1 แสดงระดับ cholinesterase enzyme ที่ระยะเวลาต่างๆกันและการกระจายตัวของกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning

สำหรับแนวโน้มของระดับ cholinesterase ของกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จะมีระดับที่ลดลงจากค่าตั้งต้น โดยเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน ($p < 0.01$) และลดลงมากขึ้นเมื่อวันที่ 5 และ 7 ($P < 0.001$) ดังแสดงในรูปที่ 2

ในขณะที่กลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จะมีแนวโน้มของระดับ cholinesterase จะมีแนวโน้มคงที่ในช่วง 1 วันแรก แต่ต่อมาจะเพิ่มขึ้นจนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาตั้งแต่ 2 วันขึ้นไป ($p < 0.01$) และจะมีระดับเอนไซม์ที่สูงมากขึ้นที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน ($p < 0.001$) ดังแสดงในรูปที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองกลุ่มตัวอย่าง จะพบว่าที่เวลาเริ่มต้น, 3, 6 ชั่วโมง, วันที่ 1 และวันที่ 2 ทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของระดับ cholinesterase แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่เวลามากกว่า 2 วันขึ้นไป เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับ cholinesterase ทั้งสองกลุ่มจะไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบระดับเอนไซม์ cholinesterase activities ของกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning โดยกำหนดให้ * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$ เมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น และกำหนดให้ # = $P < 0.05$, ## = $P < 0.01$, ### = $P < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning และกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning

อภิปรายผลการศึกษา

เนื่องจากในประเทศไทยเป็นประเทศทำการเกษตรจึงมีการใช้สารเคมีในกลุ่มยากำจัดศัตรูพืชอย่างกว้างขวางจึงมีอุบัติการณ์ในการเสียชีวิตจากสารเคมีประเภท pesticide สูง การวินิจฉัยการเสียชีวิตจาก pesticide วินิจฉัยจากการตรวจทำได้โดยการตรวจของเหลวในกระเพาะพบสาร pesticide, การตรวจการระดับ cholinesterase และการตรวจเลือดหา pesticide ซึ่งการตรวจหา cholinesterase ยังเป็นวิธีที่นิยมใช้³ แต่เนื่องจากศพที่เสียชีวิตในแต่ละรายเวลาที่พบศพก็จะมีแตกต่างกันไปทำให้สภาพศพที่พบมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังตายที่แตกต่างกันด้วย เมื่อนำเลือดไปตรวจค่าที่ได้จึงมีโอกาสแปรผลคลาดเคลื่อนได้อันเนื่องมาจากสิ่งรบกวนจากการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเลือดภายหลังตายได้

สารที่ใช้ในกลุ่มยากำจัดศัตรูพืชที่พบได้บ่อยและใช้อย่างแพร่หลาย ได้แก่ในกลุ่มของ organophosphate และ carbamate สารทั้งสองกลุ่มนี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายก็จะไปยับยั้งเอนไซม์ cholinesterase ทำให้ไม่สามารถที่จะเปลี่ยน acetylcholine ให้กลายเป็น choline และ acetic acid ได้ ทำให้เกิดการค้างของ acetylcholine ใน neuromuscular junction มากขึ้น ทำให้มีเกิดอาการ sympathetic และ parasympathetic over activity ซึ่งประกอบไปด้วย Salivation, Lacrimation, Urination, Defecation,

Gastrointestinal motility และ Emesis (SLUDGE)^{4,5} ซึ่งถ้าได้รับในปริมาณที่มากพอก็จะทำให้สามารถเสียชีวิตได้ แต่ยาทั้งสองกลุ่มน้อยก็ยังมีข้อแตกต่างกันคือ สารในกลุ่มของ organophosphate จะจับกับเอนไซม์ cholinesterase ในลักษณะที่เป็นแบบ irreversible แต่ในขณะเดียวกันสารในกลุ่ม carbamate จะจับกับเอนไซม์ cholinesterase แบบ reversible อันเนื่องมาจากพันธะที่จับกับเอนไซม์นั้นอ่อนกว่า เมื่อเวลาผ่านไป carbamate จึงสามารถจึงถูกกำจัดออกนอกร่างกายได้และทำให้ระดับเอนไซม์ cholinesterase กลับมาเหมือนปกติได้

จากการศึกษาของ Klette⁶ และคณะซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ cholinesterase ของกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบ stability ในเลือดเมื่อเทียบกับระหว่างเมื่อเก็บเลือดไว้ ณ อุณหภูมิ 4 และ 25 °C ในกลุ่ม antemortem และศึกษา stability ของ postmortem whole blood ในส่วนของ whole blood นั้นได้นำเลือดมาวิเคราะห์หาค่าระดับเอนไซม์ ที่เวลาเริ่มต้น, 3, 5 และ 7 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์ cholinesterase ของเวลาเริ่มต้นและวันที่ 7 ได้เท่ากับ 4800 ± 1400 และ 4500 ± 1400 ตามลำดับ เมื่อนำระดับเอนไซม์ cholinesterase ของวันที่ 7 เปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น จะพบว่าระดับเอนไซม์มีค่าลดต่ำลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษาของนพ.พีรยุทธ เฟื่องฟูงและคณะ⁽⁷⁾ ซึ่งได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ cholinesterase ใน postmortem blood ในของศพคนไทยของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โดยวิธีการตรวจจาก serum มาตรวจทั้งหมด 34 ราย ระหว่างเลือดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และ อุณหภูมิห้อง พบว่าค่าเฉลี่ยของ serum ที่ 25 องศา วันที่ 1 อยู่ที่ 3584.55 ± 652.11 u/l วันที่ 7 อยู่ที่ 3421.05 ± 739.64 u/l ซึ่งพบว่าระดับเอนไซม์ cholinesterase ของวันที่ 7 เมื่อเปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้นมีค่าลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของซึ่งสอดคล้องกับที่พบในการศึกษาของ Klette ในส่วนของการตรวจจาก serum แต่เมื่อศึกษาระดับเอนไซม์ cholinesterase ไปถึงเวลา 1 เดือนพบว่าระดับเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการวิจัยซึ่งได้ศึกษาใน whole blood เมื่อโดยเฉพาะในกลุ่มที่ไม่ได้เสียชีวิตจาก carbamate poisoning เมื่อปล่อยให้เวลาผ่านไปจะพบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ cholinesterase มีการลดลงอย่างช้าๆและเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับเอนไซม์ cholinesterase ที่เวลา 3,5 และ 7 วัน เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น เหตุผลที่ทำให้ระดับเอนไซม์ cholinesterase ลดลงนั้น เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเลือดที่อยู่ภายในและการที่เลือด hemolyzed มากขึ้นซึ่งเกิดจากการเสื่อมสลายภายหลังตาย มีผลทำให้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase ซึ่งเป็นโปรตีนอย่างหนึ่งเสียไป ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ โดยผลดังกล่าวแตกต่างจากการศึกษาในอดีต⁶ ซึ่ง

มีสองปัจจัยที่ไม่เหมือนกันคือการคัดเลือกกลุ่มประชากรที่ศึกษาและอุณหภูมิในการเก็บตัวอย่างเลือด โดยการศึกษาที่มีการควบคุมตัวอย่างเลือดที่เก็บไม่เกิน 24 ชั่วโมงภายหลังตายโดยมีเกณฑ์คัดออกจากการศึกษา คือศพที่ได้รับบาดเจ็บรุนแรงจนไม่สามารถเก็บเลือดส่งตรวจได้, ศพที่เสียชีวิตจาก chronic illness, massive hemorrhage และศพที่มีการเสื่อมสลายจากการเน่าแล้ว หลังจากนั้นจึงเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องโดยเฉลี่ย 27-30 °C ซึ่งเคยมีการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อระดับ cholinesterase activities ที่วัดได้⁸

ในขณะที่ผลจากการศึกษาของนพ.พิรยุทธ เพ็ญพุ่ม พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 1 สัปดาห์แรก แต่ระดับเอนไซม์มีค่าลดลงในเวลา 1 เดือนต่อมา ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยนี้ซึ่งเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่วันที่ 3 เนื่องจาก serum มีองค์ประกอบภายในที่แตกต่างกับ whole blood ทำให้ระดับเอนไซม์ใน whole blood มีการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่า serum

ส่วนในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ cholinesterase ใน postmortem blood ในกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning นั้นยังไม่มีการศึกษามาก่อน แต่เคยมีรายงานของ Pinakini⁹ ที่ได้ตรวจระดับเอนไซม์ cholinesterase ใน serum ของผู้ป่วยซึ่งมีประวัติได้รับสาร carbofuran ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ carbamate เหมือนกันกับ methomyl โดยเจาะเลือดตั้งแต่วันที่แรกถึงวันที่ 5 ผลเลือดในขณะที่ผู้ป่วยยังมีชีวิตอยู่นั้น พบว่าระดับของเอนไซม์นั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นโดยเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้นตั้งแต่วันที่ 2

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ cholinesterase เฉพาะในกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning รวมทั้งหมด 7 รายในวิจัยนี้ เมื่อเปรียบเทียบระดับเอนไซม์ ณ เวลาต่างๆ กันเทียบกับเวลาเริ่มต้น ผลพบว่าเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่วันที่ 2 ขึ้นไป ($p < 0.05$) โดยระดับเอนไซม์ค่อยๆ เพิ่มขึ้นและยังมีความแตกต่างกันมากขึ้นเมื่อดูผลของวันที่ 3, 5 และ 7 ($p < 0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับการที่ carbamate นั้นจับกับ cholinesterase แบบ reversible เมื่อเวลาผ่านไป carbamate จะคลายตัวจากเอนไซม์ ทำให้วัดค่าระดับเอนไซม์ได้สูงขึ้นจากค่าเริ่มต้น ส่วนระยะเวลาที่ระดับเอนไซม์ขึ้นนั้นก็เป็นไปในทางเดียวกันกับ Pinakini ที่ได้ศึกษาไว้ก่อนหน้านี้

จากผลการศึกษาที่ได้กล่าวไปเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองกลุ่มตัวอย่าง จะพบว่าภายในระยะเวลา 2 วันภายหลังจากพบว่าระดับเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ในขณะที่เวลามากกว่า 2 วันขึ้นไปทั้งสองกลุ่มจะไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าในการพิสูจน์ว่าเสียชีวิตจาก carbamate poisoning นั้น ถ้าสามารถตรวจเลือดได้ภายในภายใน 2 วันหลังจากที่เสียชีวิต จะสามารถแยกออกจากผู้ที่เสียชีวิตจากสาเหตุอื่นได้อย่างชัดเจน แต่ถ้าปล่อยให้เวลาผ่านไปเกิน 2 วันขึ้นไปมีโอกาสที่เกิดความผิดพลาดในการแปลผลระดับเอนไซม์ cholinesterase ได้

สรุป

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าระดับเอนไซม์ cholinesterase ใน postmortem blood มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเวลาผ่านไปหลังจาก 3 วันนับจากเสียชีวิต โดยกลุ่มที่เสียชีวิตจาก carbamate poisoning จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเวลาตั้งแต่ 2 วันภายหลังจากตายขึ้นไป ดังนั้นการตรวจหาระดับ cholinesterase ในเลือดจะช่วยวินิจฉัย carbamate poisoning ภายหลังจากเสียชีวิตมาไม่เกิน 2 วัน

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

เอกสารอ้างอิง

1. Kusu F, Tsuneta T, Takamura K. Fluorometric determination of pseudocholinesterase activity in postmortem blood samples. J Forensic Sci. 1990 Nov; 35(6): 1330-4.
2. Klas-bertil Augustinsson, Hakan Eriksson and Yvonne Fajersson, A new approach to determining cholinesterase activities in samples of whole blood. Clinica chimica Acta. 1978; (89): 239-252
3. Areekul S, Srichairat S, Kirdudom P. Serum and red cell cholinesterase activity in people exposed to organophosphate insecticides. Southeast Asian J Trop Med Pub Health. 1981; 12(1): 94-8.
4. Fenton J. Toxicology a case-oriented approach. CRC Press LLC; 2002: 292-311
5. Seth Schonwald. Medical toxicology: A synopsis and study guide. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia USA; 2001: 708-733
6. Klette KL, Levine B, Dreka C, Smith ML, Goldberger BA. Cholinesterase activity in postmortem blood as a screening test for organophosphate/chemical weapon exposure. J Forensic Sci. 1993; 38(4): 950-5.
7. Phuangphung P, Wongchanapai W, Thamtakernkit S. The study in postmortem serum cholinesterase, J FAT 2009; 3 :43-56
8. Nakashima K, Sera Y, Nakano K. A rapid and simple ultramicro method for the estimation of serum pseudocholinesterase with butyrylthiocholine as substrate. Bull Yamaguchi Med School. 1968; 15(4): 257-68.
9. Pinakini KS, Mohan TS. Serial cholinesterase estimation in carbamate poisoning. J Clin Forensic Med. 2006 ; (13): 274-276