

Thesis Title Activities and Genetic Variants of Cholinesterase and Paraoxonase enzymes in Chiang Mai Farmers

Author Ms.Warunee Jit-Aree

M.S. Master of Science (Health Sciences)

Thesis Advisory Committee

Dr. Tippawan Prapamontol	Chairperson
Asst. Prof. Dr.Ampica Mangklabruks	Member
Prof. Dr. Tanin Bhoopat	Member
Dr. Peter Kunstadter	Member

ABSTRACT

Cholinesterase enzyme involves in neurotransmitter and could be inhibited enzyme activity by organophosphate and carbamate pesticides. In addition, other factors effects to cholinesterase level are paraoxonase, the hydrolysis pesticide enzyme, and each enzyme genetic polymorphism. In this study, we evaluated the activities and genetic variants of cholinesterase and paraoxonase enzymes in 100 farmers (male = 53, female =47) in Chiang Mai who were exposed to pesticides, by following them for 6 months. The first and the second investigation were carried out in growing and harvesting season, respectively.

For Acetylcholinesterase (AChE) activity, mean AChE activity in growing season (3.63 ± 1.33 U/ml) was significantly lower than AChE activity in harvesting season (4.33 ± 1.77 U/ml) ($p < 0.001$, paired t-test, $n=100$). Butylrylcholinesterase (BuChE) activity between growing (5.08 ± 2.15 U/ml) was significant higher than BuChE activity in harvesting season (4.32 ± 1.46 U/ml) ($p < 0.001$, paired t-test).

Genetic variants of cholinesterase enzyme were determined by dibucaine number (DN) and fluoride number (FN). 68 percent of subjects were UU phenotype, 17 and 15 percent were UA and AF, respectively. Pearson's correlation coefficient showed the correlation between Phenotype and cholinesterase levels at $p<0.01$.

For Paraoxonase enzyme, mean of paraoxonase activity was 39.04 ± 20.24 $\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{ml}$ in the growing season and 35.96 ± 17.91 $\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{ml}$ in the harvesting season. Mean difference of PON activity between growing and harvesting season was not significant (paired t-test, $p>0.05$).

The genetic polymorphism of PON1 genes were determined by Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The found frequency of allele R and Q on PON1 gene loci 192 were 0.51 and 0.49, respectively. On PON1 gene loci 55, the frequency of allele M and L were 0.02 and 0.98, respectively. Pearson's value show the positive correlation between loci 192 and paraoxonase activity at $p<0.05$ (Pearson's value 0.736, $p<0.05$, ANOVA), while the negative correlation showed in the PON1 loci 55 (Pearson's value -0.101, $p<0.01$, unpaired t-test).

Our data suggest that genetic variants affect the cholinesterase activity. There is a positive correlation between paraoxonase and cholinesterase level, therefore paraoxonase enzyme can be used as pesticide biomarker of susceptibility.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	กิจกรรมและรูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส และการออกซอนเนสในเกย์ตระกรั้งหวัดเชียงใหม่		
ชื่อผู้เขียน	นางวรุณี จิตอารี		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สุขภาพ)		
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์			
ดร.ทิพวรรณ ประภานันดา	ประธานกรรมการ		
ผศ.พญ. อัมพิกา มังคละพุกน์	กรรมการ		
ศ.นพ. ธนานิทร ภู่พัฒน์	กรรมการ		
ดร.ปีเตอร์ กุนสตัดเตอร์	กรรมการ		

บทคัดย่อ

เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการสื่อสารประสาท และสามารถที่จะถูกขับยิ่งการทำงานด้วยสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กานอฟอสเฟตและคาร์บามे�ต นอกจากนี้ยังปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการออกซอนเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถไฮโดรไลซ์สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และรูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดนั้นเอง ในการศึกษารั้งนี้จึงได้ทำการวัดกิจกรรมและรูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสและการออกซอนเนส ในเกย์ตระกรั้งหวัดเชียงใหม่ จำนวน 100 คน (ชาย = 53, หญิง = 47) ซึ่งเป็นผู้ที่ล้มพัลต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยคิดตามการศึกษาอีกรั้ง ในการศึกษารั้งที่ 1 และ 2 จะติดตามในฤทธิภาพปัจจุบันและฤทธิภาพเก็บเกี่ยวตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส หรือ AChE ในฤทธิภาพปัจจุบัน (3.63 ± 1.33 U/ml) จะต่างกว่าฤทธิภาพเกี่ยวอย่างมีนัยสำคัญ (4.33 ± 1.77 U/ml) ($p < 0.001$, paired t-test, $n=100$) ส่วนเอนไซม์บิวทิวโคลีนเอสเตอเรส หรือ BuChE ในฤทธิภาพปัจจุบัน (5.08 ± 2.15 U/ml) จะมีกิจกรรมสูงในฤทธิภาพเกี่ยว (4.32 ± 1.46 U/ml) ($p < 0.001$, paired t-test)

รูปแบบพัฒนชุดกรรมของเอนไซม์โคลีนอสเตอเรสตรวจด้วยการหาค่า dibucaine number และค่า fluoride number พบว่าเกณฑ์ต่ำร้อยละ 68 มีรูปแบบ UU ร้อยละ 17 และ 15 มีรูปแบบ UA และ UF ตามลำดับ ค่า Pearson's correlation coefficient ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบกิจกรรมของเอนไซม์โคลีนอสเตอเรสที่ $p < 0.01$

สำหรับเอนไซม์พาราออกซอนเนส ค่าเฉลี่ย ในตุ่นเพาะปลูก ($39.04 \pm 20.24 \mu\text{Mol/min/ml}$) และตุ่นเก็บเกี่ยว ($35.96 \pm 17.91 \mu\text{Mol/min/ml}$) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์พาราออกซอนเนสในตุ่นเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างกัน (paired t-test, $p > 0.05$)

รูปแบบพัฒนชุดกรรมของยีน PON1 จะถูกตรวจวัดโดยการใช้วิธี Polymerase Chain Reaction หรือ PCR โดยพบว่าความถี่ของอัลลีต R และ Q ของ PON1 gene loci 192 เท่ากับ 0.54 และ 0.46 ตามลำดับ ความถี่ของอัลลีต M และ L ของ PON1 gene loci 55 เท่ากับ 0.02 และ 0.98 ตามลำดับ ค่า Pearson's value ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ในเชิงบivariate ที่ $p < 0.05$ (Pearson's value 0.736, $p < 0.05$, ANOVA) แต่กลับมีความสัมพันธ์ในเชิงเดียวกันที่ loci 55 (Pearson's value -0.101, $p < 0.01$, unpaired t-test).

จากข้อมูลที่ได้สามารถสรุปได้ว่ารูปแบบพัฒนชุดกรรมมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โคลีนอสเตอเรส และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์พาราออกซอนเนสและโคลีนอสเตอเรสมีความสัมพันธ์ในเชิงบวก ดังนั้นเอนไซม์พาราออกซอนเนสจึงสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ความไวต่อการตอบสนองต่อสารเคมีจำพวกตัวเร่งปฏิกิริยาได้