

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, $n=100$). Butyrylcholinesterase (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.

รูปแบบทางพันธุกรรมของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสตรวจด้วยการหาค่าdibucaine number และค่า fluoride number พบว่าเกษตรกรร้อยละ 68 มีรูปแบบ UU ร้อยละ 17 และ 15 มีรูปแบบ UA และ UF ตามลำดับ ค่า Pearson's correlation coefficient ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบและกิจกรรมของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสที่ $p < 0.01$

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

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

จากข้อมูลที่ได้สามารถสรุปได้ว่ารูปแบบทางพันธุกรรมมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรส และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์พาราออกซอนเนสและโคลินเอสเตอเรสมีความสัมพันธ์ในเชิงบวก ดังนั้นเอนไซม์พาราออกซอนเนสจึงสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ความไวต่อการตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้