

Thesis Title Effect of Total Suspended Particles on Pulmonary Function and Their Toxicity to DNA of Inhabitants from Heavy Traffic Area in Chiang Mai

Author Miss Phongpan Mokmued

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Busyamas Chewaskulyong	Chairperson
Asst. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn	Member
Asst. Prof. Dr. Umnat Mevatee	Member
Assoc. Prof. Chaicharn Pothirat	Member
Asst. Prof. Dr. Khajonsak Sopajaree	Member

ABSTRACT

Air pollution is a major environmental health problem in urban areas. Vehicle exhaust emission from traffic congestion in Chiang Mai has reportedly affected air quality. This study, therefore, aimed to compare the pulmonary function performance between inhabitants who lived in areas of heavy traffic and those in less congested parts of Chiang Mai City. Genotoxicity of extractable organic matter from total suspended particles (TSP), collected from ambient air, was also investigated using the comet assay.

Warorod market, with heavy traffic, was chosen as a study site and compared to Hang Dong market, where traffic was lighter. The TSP was collected between December 2002 and April 2003 using high volume air samplers. Dichloromethane was used to extract the TSP for the comet assay. A cross-sectional study was designed to investigate the pulmonary function of 80 inhabitants, who lived at Warorod and Hang Dong markets (40 people in each group). The

subject s' inclusion criteria comprised age of between 20 and 50 years old, had lived at least 8 hours per day and more than 1 year in the designated areas, lifetime non-smoker, no history of chronic cardiopulmonary diseases and normal standard chest radiography. The questionnaire, modified from the respiratory disease questionnaires of the American Thoracic Society Division of Lung Disease, was used to identify and examine symptoms of respiratory and past illnesses, occupation and family history. Pulmonary function parameters were obtained by spirometer.

The results showed that TSP concentrations at Warorod market during the day (12 hours) and night-time (12 hours) were in the range of 229-433 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ and 136-357 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectively. Whereas, the TSP levels at Hang Dong market during the day and night-time (12 hours each) varied from 322-470 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ and 160-360 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectively. DNA damage was observed from the TSP extracts of Warorod and Hang Dong samplers. There was a statistical significance after treatment of the human lymphocytes in the TSP samples. Abnormal pulmonary values of inhabitants who lived at the Warorod site were found in the pattern of restrictive and obstructive lung at 15% and 7.5%, respectively, whereas inhabitants living at the Hang Dong site illustrated at 30% and 12.5%, respectively.

Although, the number of subjects with restrictive and obstructive lungs was not large, there was a possibility to increase number and severity of disease if subject continued exposure to vehicle exhaust fumes. Thus, long-term exposure to these TSP levels could induce DNA damage, which might be responsible for chronic adverse health effects in Chiang Mai's inhabitants.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลกระทบของอนุภาคฝุ่นรวมต่อสมรรถภาพปอด และความเป็นพิษต่อ ดีเอ็นเอของประชากรจากพื้นที่การจราจรหนาแน่น จังหวัดเชียงใหม่											
ผู้เขียน	นางสาวผ่องพรรณ หมอกมณี											
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พิษวิทยา)											
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	<table> <tr> <td>ผศ.บุญยามาส ชิวสกุลยง</td> <td>ประธานกรรมการ</td> </tr> <tr> <td>ผศ.ดร.วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์</td> <td>กรรมการ</td> </tr> <tr> <td>ผศ.ดร.อำนาจ มีเวที</td> <td>กรรมการ</td> </tr> <tr> <td>รศ.ชายชาญ โพธิรัตน์</td> <td>กรรมการ</td> </tr> <tr> <td>ผศ.ดร.ขจรศักดิ์ โสภจรรย์</td> <td>กรรมการ</td> </tr> </table>		ผศ.บุญยามาส ชิวสกุลยง	ประธานกรรมการ	ผศ.ดร.วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์	กรรมการ	ผศ.ดร.อำนาจ มีเวที	กรรมการ	รศ.ชายชาญ โพธิรัตน์	กรรมการ	ผศ.ดร.ขจรศักดิ์ โสภจรรย์	กรรมการ
ผศ.บุญยามาส ชิวสกุลยง	ประธานกรรมการ											
ผศ.ดร.วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์	กรรมการ											
ผศ.ดร.อำนาจ มีเวที	กรรมการ											
รศ.ชายชาญ โพธิรัตน์	กรรมการ											
ผศ.ดร.ขจรศักดิ์ โสภจรรย์	กรรมการ											

บทคัดย่อ

มลพิษทางอากาศเป็นปัญหาด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของพื้นที่เมือง การปล่อยไอเสียของยานพาหนะจากสภาพการจราจรที่คับคั่งในเมืองเชียงใหม่ได้มีรายงานว่าส่งผลต่อคุณภาพอากาศ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของปอดระหว่างผู้ที่อยู่อาศัยในพื้นที่การจราจรหนาแน่นและผู้ที่อยู่อาศัยในพื้นที่ที่มีสภาพการจราจรคับคั่งน้อยของเมืองเชียงใหม่ และทดสอบความเป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมของสารที่สกัดได้จากอนุภาคฝุ่นรวมที่เก็บจากอากาศ โดยใช้วิธีโคเมทแอสเซย์

ตลาดวโรรสซึ่งเป็นบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่นถูกเลือกเป็นพื้นที่ศึกษาเปรียบเทียบกับตลาดหางดงซึ่งมีการจราจรเบาบางกว่า อนุภาคฝุ่นรวมถูกเก็บระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2546 โดยใช้เครื่องเก็บอนุภาคฝุ่นรวมชนิดปริมาตรสูง สกัดอนุภาคฝุ่นรวมด้วยไดคลอโรมีเทนเพื่อใช้ในวิธีโคเมทแอสเซย์ การตรวจสอบการทำงานของปอดในประชากรจำนวน 80 คน ที่อาศัยอยู่ตลาดวโรรสและตลาดหางดง (กลุ่มละ 40 คน) เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง มี

เกณฑ์การคัดเลือกเข้าเป็นอาสาสมัครครั้งนี้ อาสาสมัครมีอายุอยู่ในช่วงระหว่าง 20 ถึง 50 ปี อาศัยอยู่ที่บริเวณดังกล่าวอย่างน้อยวันละ 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลามากกว่า 1 ปี ที่ไม่สูบบุหรี่ ไม่มีประวัติโรคหัวใจและโรกระบบทางเดินหายใจแบบเรื้อรัง และมีภาพถ่ายรังสีทรวงอกปกติ แบบสอบถามที่ใช้ประยุกต์จากแบบสอบถามเกี่ยวกับโรกระบบทางเดินหายใจของแผนกโรคปอด สมาคมทรวงอกประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อตรวจสอบข้อมูลส่วนบุคคล อาการเจ็บป่วยของระบบทางเดินหายใจ ประวัติโรคในอดีต ประวัติการทำงาน และประวัติครอบครัว การที่วัดสมรรถภาพปอดใช้เครื่องสไปโรมิเตอร์

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณอนุภาคฝุ่นรวมที่ตลาดควโรรส ช่วงเวลากลางวัน (12 ชั่วโมง) และเวลากลางคืน (12 ชั่วโมง) มีค่าอยู่ระหว่าง 229-433 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และ 136-357 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ โดยที่ระดับอนุภาคฝุ่นรวมที่พื้นที่ตลาดทางดงเวลากลางวันและกลางคืน (ช่วงละ 12 ชั่วโมง) มีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 332 ถึง 470 และ 160 ถึง 360 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ พบการทำลายดีเอ็นเอโดยสารสกัดของอนุภาคฝุ่นรวมทั้งตัวอย่างจากตลาดควโรรสและทางดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากทดสอบตัวอย่างอนุภาคฝุ่นรวมกับเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ของมนุษย์ ส่วนความผิดปกติของค่าสมรรถภาพปอดที่พบคือ โรคปอดแบบจำกัดและแบบอุดกั้นในอาสาสมัครที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ตลาดควโรรสพบโรคดังกล่าวร้อยละ 15 และ 7.5 ตามลำดับ โดยที่ผู้ที่อาศัยในพื้นที่ตลาดทางดงพบร้อยละ 30 และ 12.5 ตามลำดับ

ถึงแม้ว่าจำนวนอาสาสมัครที่พบโรคปอดแบบจำกัดและแบบอุดกั้นมีจำนวนไม่มาก แต่มีโอกาสที่จะเพิ่มจำนวนและความรุนแรงขึ้นได้กับผู้ยังต้องสัมผัสไอเสียจากยานพาหนะอย่างต่อเนื่องต่อไป ดังนั้นการสัมผัสกับอนุภาคฝุ่นรวมที่สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอในระยะเวลานานนั้น อาจมีส่วนทำให้เกิดปัญหาสุขภาพเรื้อรังกับผู้ที่อยู่อาศัยในเมืองเชียงใหม่ได้

LIST OF TABLES

Table	Page
1 Ambient air standards of Thailand.	3
2 Classification of ventilatory abnormalities by spirometry.	12
3 Twenty-four hours of TSP level collected from Warorod and Hang Dong site from December 2002–April 2003.	30
4 Nighttime and daytime of TSP from Warorod and Hang Dong site from December 2002–April 2003.	34
5 The Comet tail moment of lymphocytes treated with nighttime and daytime samples collected form Warorod site from January to April 2003.	37
6 The Comet tail moment of lymphocytes treated with nighttime and daytime samples collected form Hong Dong sites from January to April 2003.	38
7 General data of included subjects included from Warorod and Hang Dong site.	42
8 Basic characteristics and spirometric values of subjects from Warorod and Hang Dong site.	43
9 Number and prevalence of respiratory symptoms diagnosed by ATS-DLD questionnaire among inhabitants in Warorod and Hang Dong areas.	44
10 Number and prevalence of NSRD and PCP by the ATS-DLD questionnaire.	49
11 Proportion of obstructive and restrictive defects from the pulmonary function test result.	50

LIST OF ILLUSTRATIONS

Figure	Page
1 Schematic representation of major particulate matter clearance.	5
2 Features of the respiratory tract pertinent to the deposition of inhaled airborne particles.	7
3 General schematic of the alkaline comet assay protocol.	8
4 Normal spirogram showing the measurements of forced vital capacity (FVC), forced expired volume in one second (FEV_1) and forced expiratory flow over the middle half of the FVC ($FEF_{25-75\%}$). The left panel is a typical recording from a water-sealed spirometer with inspired volume upward; the right panel is a spirogram from a dry wedge-bellows spirometer with expired volume upward.	11
5 Normal maximal expiratory and inspiratory flow-volume curve.	11
6 Interpretation of spirometry as a function of FVC as predicted and the $FEV_1/FVC\%$ ratio.	12
7 Two sampling sites of TSP collection at Warorod market, in Chiang Mai City.	15
8 Selected subjects were advised and tested the pulmonary function by well trained technicians and the researchers.	18
9 High volume sampler.	20
10 Fixed orifice calibrator (Graseby/GMW Model 25).	20
11 High volume air sampler (Graseby/GMW No B/M 2000 HX) located at Warorod market	24
12 Demonstration of tail moment calculation from tail intensity and tail length.	27
13 24-hour average TSP from the Warorod site in Chiang Mai.	31
14 24-hour average TSP from the Hang Dong site in Chiang Mai.	32
15 Weekly 24-hour average TSP from the Warorod and Hangdong site in Chiang Mai.	33
16 Levels of TSP during nighttime and daytime at the Warorod and Hang Dong site from December 2002 to April 2003.	35
17 Photomicrographs of human lymphocytes in the comet assay.	36

Figure	Page
18 Mean comet tail moment from lymphocytes treated with TSP extracts collected during daytime and nighttime from January to April at Warorod market.	39
19 Mean comet tail moment from lymphocytes treated with TSP extracts collected during daytime and nighttime from January to April at Hang Dong market..	40
20 Digital image of a normal cell embedded in agarose.	56
21 Digital image of a damage cell embedded in agarose.	56
22 Peak flow meter (E for L)	86
23 Spirometer (SBG)	86

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

ATS-DLD	American thoracic society division of lung disease
BTPS	Body temperature and pressure saturated with water vapor
°C	Degree Celsius
cm	Centimeter
CCD	Charge-coupled device
CO	Carbonmonoxide
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
DMSO	Dimethylsulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
e.g.	Exempli gratia
EPA	Environmental protection agency
FEV ₁	Forced expired volume in one second
FEF	Forced expiratory flow
Fig	Figure
FVC	Forced vital capacity
g	Gram
µg	Microgram
hr	Hour
IARC	International Agency for Research on Cancer
i.e.	Id est
°K	Degree Kelvin
LMA	Low melting agarose
mg	Miligram
µg/m ³	Microgram per cubic meter
mg/mL	Milligram per milliliter

$\mu\text{g/mL}$	Microgram per milliliter
mL	Milliliter
μL	Microliter
μm	Micrometer
m^3	Cubic meter
mmHg	Milimeter mercury
nm	Nanometer
NMA	Normal melting agarose
No.	Number
NO_2	Nitrogen dioxide
NSRD	Nonspecific respiratory disease
Pa	Ambient pressure
PAHs	Polycyclic aromatic hydrocarbons
PBS	Phosphate buffer saline
PCP	Persistent cough and phlegm
PEF	Peak expiratory flow
PFT	Pulmonary function test
PM_{10}	Particles with an aerodynamic diameter of less than 10 micrometers
$\text{PM}_{2.5}$	Particles with an aerodynamic diameter of less than 2.5 micrometers
ppm	Part per million
Ps	Standard pressure
Pt	Ambient pressure
Qa	Flow rate
rpm	Revolution per minute
SCG	Single cell gel electrophoresis
SD	Standard deviation
SO_2	Sulfur dioxide
SP	Mass concentration of suspended particles
Ta	Ambient temperature
TM	Tail moment

TSPs	Total suspended particle
Ts	Standard temperature
Tt	Ambient temperature
VOCs	Volatile organic compound
Vs	Air volume at standard conditions
Vt	Total volume of air sampler
WHO	World health organization
Wf	Final weight of glass fiber filter
Wi	Initial weight of glass fiber filter
Z_{α}	critical Z value for alpha
Z_{β}	critical Z value for beta
σ^2	Pooled variance
μ_c	Mean of control group
μ_i	Mean of experimental group
%	Percentage