



#### บทที่ 4

### อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลของพิษงูเห่าไทยจากสถานเสาวภา สภากาชาดไทย ต่อการทำงานของหัวใจห้องบนที่แยกจากหนูขาวทั้งด้านขวาและด้านซ้าย รวมทั้งศึกษาถึงผลของการให้สารอื่น ได้แก่ เบต้าบล็อกเกอร์ คือ โพรปรานอร์ล และแคลเซียมคลอไรด์ ร่วมกับพิษงูเห่าเพื่อลดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในด้านอัตราการเต้นของหัวใจห้องบนด้านขวา และแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนด้านซ้าย

จากการทดลองพบว่า พิษงูเห่าทั้งขนาด 10, 20, 30 และ 40 ไมโครกรัมต่อ 25 มิลลิลิตร กระตุ้นให้หัวใจเต้นเร็วขึ้นในช่วง 1-3 นาทีแรก (กราฟรูปที่ 1) พิษขนาด 10 ไมโครกรัม เพิ่มอัตราการเต้นตลอดเวลา 30 นาทีของการทดลอง แต่การเพิ่มอัตราการเต้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กราฟรูปที่ 1A) พิษขนาด 20 ไมโครกรัม ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นเช่นกันยกเว้น ช่วงเวลา 3 และ 5 นาที อัตราการเต้นลดลงเล็กน้อยก่อนเพิ่มอัตราการเต้นมากขึ้น อาจจะเป็นช่วงที่หัวใจปรับตัวต่อสภาพการได้รับพิษงูเห่า และขนาดของพิษงูเห่าทั้งสอง (10 และ 20 ไมโครกรัม) นับเป็นปริมาณต่ำที่ยังกระตุ้นให้หัวใจทำงานมากขึ้นคือ เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวา พิษขนาด 30 ไมโครกรัมทำให้อัตราการเต้นเพิ่มเฉพาะ 3 นาทีแรก แล้วลดต่ำลงจนต่ำสุดที่ 30 นาทีเหลือ  $86.1 \pm 23.1\%$  อาจกล่าวได้ว่า ปริมาณพิษขนาดนี้ น่าจะแสดงความเป็นพิษสูงสุดต่อการทำงานของหัวใจ แต่อย่างไรก็ตามในกรณีนี้ให้พิษงูเพิ่มขึ้นอีกในขนาด 40 ไมโครกรัม กลับทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นจากการให้ในปริมาณ 30 ไมโครกรัม นั่นคือ ในช่วง 15-30 นาทีทำให้อัตราการเต้นอยู่ระหว่าง 103.4-106.9% อาจเป็นเพราะหัวใจหนูที่สามารถเต้นได้เป็นปกติเหลือรอดมาได้เพียงตัวเดียว (กราฟรูปที่ 2) จึงเปรียบเทียบกันไม่ได้แน่ชัด

สำหรับผลการเปลี่ยนแปลงในหัวใจด้านซ้ายของหนูขาวที่แยกออกมา ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย เครื่องกระตุ้นไฟฟ้าด้วยความแรง ความถี่ และระยะเวลาที่คงที่สม่ำเสมอ พบว่า เมื่อให้พิษขนาด 10 ไมโครกรัม จะเพิ่มแรงบีบตัวในช่วง 1-10 นาทีแรกเท่านั้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยแรง บีบตัวสูงสุดคิดเป็น  $103.6 \pm 3.0\%$  (กราฟรูปที่ 3A) และพบหัวใจหนูเต้นผิดจังหวะ 2 ตัว ทำให้แรงบีบตัวเพิ่มขึ้นก่อนที่หัวใจจะหยุดเต้น จึงทำให้แรงบีบตัวที่ 30 นาทีเพิ่มเล็กน้อยเป็น  $75.8 \pm 18.7\%$  ช่วงนี้ทำให้หัวใจหนูหยุดเต้น 3 ตัว (กราฟรูปที่ 4A) พิษขนาด 20 ไมโครกรัม ลดแรงบีบตัวของหัวใจมากยิ่งขึ้น ซึ่งช่วงที่แรงบีบตัวต่ำสุดคือที่ 3 นาที ลดเหลือ  $47.8 \pm 10.4\%$  พิษขนาด 20 ไมโครกรัมทำให้เกิดจังหวะการเต้นผิดปกติและหัวใจหยุดเต้นมากยิ่งขึ้น (กราฟรูป ที่ 3B) หัวใจหนูหนพิษขนาด 20 ไมโครกรัม ได้แค่ 20 นาที ทำให้แรงบีบตัวลดต่ำจนหยุดเต้น หมดทุกตัวที่ 25 นาที (กราฟรูปที่ 4B)

ผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในหัวใจหนูห้องบนทั้งด้านขวาและด้านซ้ายที่ได้รับพิษงูเห่า ดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าพิษงูเห่ามีส่วนในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการทำงานของ หัวใจ และเนื่องจากในส่วนของพิษงูเห่าที่มีการสกัดแยกออกมาพบว่า ส่วนประกอบ neurotoxin เป็นตัวที่ทำให้เกิดภาวะ non-depolarization paralysis โดยเฉพาะที่ กล้ามเนื้อช่วยหายใจ โดยออกฤทธิ์ที่ส่วนของ neuro-muscular junction ทั้งที่ post และ pre-synaptic คล้ายฤทธิ์ของ d-tubacurarine โดยจับกับ acetylcholine receptor ผลที่เกิดคือ พบภาวะการหายใจล้มเหลว (Chang & Lee, 1966, Aksaranugraha, et al, 1980; Viravan, et al, 1986) ในปี ค.ศ. 1947 เป็นปีแรกที่นักวิทยาศาสตร์ สามารถสกัดส่วนประกอบในพิษงูเห่าที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบหัวใจและหลอดเลือด ซึ่ง เรียกว่า cardiotoxin (Lee, 1979) ต่อมาพบว่า purified cardiotoxin มีคุณสมบัติ เป็น membrane active polypeptides (Lee, et al, 1970; Condrea, 1974) cardiotoxin ยังมีผลต่อการทำงานของอวัยวะภายในร่างกายอีกหลายแห่ง เช่น ทำให้เกิด การรวมตัวของเกร็ดเลือด (Ouyang, 1957; Lee and Ouyang, 1958; Kini and Evans, 1988) ทำลายเนื้อเยื่อเฉพาะที่ในบริเวณที่ถูกงูเห่ากัดหรือพ่นพิษใส่ (Lai, et al, 1972; Iddon, et al, 1987) ทำให้เกิดการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง และทำลาย Lymphocytes (Louw and Visser, 1978; Jiang, et al, 1989; Hinman, et al, 1987) Cardiotoxin ที่ฉีดเข้าแนวและแนวทาง foramen occipital megnum ทำให้สัตว์ทดลองทั้ง

สองมีอาการชักและตายในที่สุด แสดงว่า cardiotoxin ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทเป็นจุดหลัก การให้พิษนี้ทาง peripheral ทำให้เปลี่ยนแปลงการทำงานของหัวใจทั้งด้านอัตราการเต้นและแรงบีบตัว หรืออัตราการเต้นที่ผิดปกติ (Lee and Chen, 1977) การแสดงความเป็นพิษต่อระบบหัวใจของ cardiotoxin จากพิษงูเห่ายังให้ผลคล้าย cardiotoxin จากแมงกะพรุน (Walker, 1977) โดยพบว่า cardiotoxin ปริมาณต่ำทำให้เพิ่มการทำงานของหัวใจแต่ในปริมาณสูงจะกุดการทำงานของหัวใจเกิด systolic arrest ได้อย่างรวดเร็ว (Meldrum, 1965) การทดลองในหัวใจกบและหนูพบว่า พิษปริมาณต่ำ 1-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจกบที่แยกออกมาเพียงชั่วขณะหนึ่ง พิษปริมาณ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจหนูท้องบนเพียงเล็กน้อย ตามด้วยเกิดการลดทั้งแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจ (negative inotropic and chronotropic) หัวใจห้องบนหยุดเต้นภายใน 20 นาที (Lee, et al, 1968) การทดลองในหัวใจกบก็พบว่า พิษงูเห่าในปริมาณต่ำเพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจกบที่แยกออกมา การคลายตัวน้อยลงและบางครั้งเกิดจังหวะการเต้นที่ผิดปกติเมื่อให้พิษงูเห่าปริมาณสูงขึ้น (Lee, 1971)

การทดลองในครั้งนี้ไม่ได้สกัดแยก cardiotoxin จากพิษงูเห่าเนื่องจากความไม่พร้อมทางเทคนิคและเครื่องมือ แต่จากการใช้ crude venom พบว่า การเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านอัตราการเต้นและแรงบีบตัวภายหลังการเติมพิษงู ให้ผลคล้ายกับการทดลองที่ใช้ purified cardiotoxin ดังการทดลองข้างต้นที่กล่าวไปแล้ว จึงสรุปได้ว่า ในพิษงูเห่ามีส่วนของ cardiotoxin ที่เป็นตัวทำให้เกิดความผิดปกติทั้งด้านอัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนหนูขาวที่ใช้ทดลองในครั้งนี้ แต่การแสดงความเป็นพิษต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดไม่เด่นชัดเท่า purified cardiotoxin แม้ว่า cardiotoxin ที่สกัดได้ โดยทั่วไปมีประมาณ 50% ของ crude venom (Sun and Walker, 1986) แต่ก็ทำให้เกิด depolarization ของผนังเซลล์ได้รุนแรงกว่า crude venom ถึง 3 เท่า (Chang, et al, 1970) นี่เป็นเหตุผลอย่างหนึ่งที่ทำให้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงต่อการทำงานของหัวใจอย่างเด่นชัดมาก เหตุผลอีกประการหนึ่งคือ cardiotoxin มีผลต่อเซลล์หลายชนิดเมื่อถูกดูดซึมจะกระจายไปหลายจุด ไม่เหมือน Neurotoxin ซึ่งจับกับ Acetylcholine receptor เท่านั้น ฉะนั้น cardiotoxin จึงอาจเหลือส่วนที่ไปจับกับหัวใจน้อยกว่าที่ควรทำให้ไม่พบผลการเปลี่ยนแปลงชัดเจนในระบบหัวใจและหลอดเลือด

สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของพิษงูเห่าต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ยังไม่สามารถสรุปให้เห็นได้ชัดเจนเท่าการออกฤทธิ์ของ Neurotoxin การศึกษาครั้งนี้ต้องการพิสูจน์ว่า การเปลี่ยนแปลงของหัวใจทั้งด้านอัตราการเต้นและแรงบีบตัวเป็นผลจากการกระตุ้นผ่านทาง catecholamine หรือไม่ จึงได้เลือกใช้โปรปรานอร์ลซึ่งเป็นตัวยับยั้งฤทธิ์ของ catecholamine โดยการกดที่ตำแหน่ง Beta 1 และ Beta 2 adrenoceptors ทำให้เกิด negative inotropic และ chronotropic (Katzung, 1989) เมื่อให้โปรปรานอร์ล 0.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นาน 10 นาที ก่อนให้พิษงูเห่า ผลที่ได้คือ พิษงูเห่าทำให้ทั้งสี่ขนาดไม่เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจด้านขวาเลยกลับลดอัตราการเต้นมากขึ้น เมื่อให้พิษงูเห่าในขนาดที่สูงขึ้น (กราฟรูปที่ 5) และการลดลงของอัตราการเต้นของหัวใจด้านขวาค่อนข้างสม่ำเสมอในพิษขนาด 30 และ 40 ไมโครกรัม การเกิดภาวะการเต้นแบบผิดจังหวะพบน้อยกว่ากลุ่มที่ให้พิษงูเห่าเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจำนวนหัวใจหนู่ที่เหลือรอดและทำงานได้เป็นปกติจึงมีมากกว่า (กราฟรูปที่ 6) การทดลองกลุ่มนี้สามารถให้พิษงูเห่าได้ถึง 50 ไมโครกรัม อัตราการเต้นลดเหลือ  $60.8 \pm 6.9\%$  ที่ 30 นาที ผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจด้านซ้ายได้ผลคล้ายกับกลุ่มที่ให้พิษงูเห่าเพียงอย่างเดียว นั่นคือ หัวใจหนู่ทนต่อพิษงูเห่าได้สูงสุดเพียงแค่ 20 ไมโครกรัม และแรงบีบตัวลดลงมากตั้งแต่ นาทีแรกของการให้พิษงูขนาด 10 ไมโครกรัม โดยเหลือแค่  $64.2 \pm 3.9\%$  ที่ 30 นาที เหลือ  $33.1 \pm 4.2\%$  และเหลือ 15.4% ที่ 15 นาทีของการให้พิษขนาด 20 ไมโครกรัม (กราฟรูปที่ 7) หัวใจหนู่ตายหมดที่ 20 นาทีของการให้พิษขนาด 20 ไมโครกรัม (กราฟรูปที่ 8) การให้พิษงูเห่าเพียงอย่างเดียวกระตุ้นให้อัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวาเพิ่มขึ้น (เมื่อให้พิษงูขนาด 10 และ 20 ไมโครกรัม) แต่เมื่อให้โปรปรานอร์ลร่วมด้วยไม่พบอัตราการเต้นเพิ่มขึ้นเลย อาจจะเป็นไปได้ว่า พิษงูเห่ากระตุ้นให้มีการหลั่ง catecholamine ผ่านทาง Sympathetic activity จึงทำให้เพิ่มอัตราการเต้น ทั้งนี้เพราะในหัวใจห้องบนด้านขวานั้นมีกลุ่มเซลล์ที่เป็น ต้นกำเนิดไฟฟ้า (Pace Maker Cell) คือ Sinoatrial node (SA node) ตั้งอยู่ที่รอยต่อของ Superior vena cava กับ right atrium และ Atrioventricular node (AV node) ตั้งอยู่ที่ right posterior portion ของ interatrial septum ทั้งสองจุดนี้ มีกระแสประสาทที่มาเลี้ยงคือ noradrenergic nerves มาจาก cervical sympathetic ganglia (Ganong, 1987) เมื่อมีการกระตุ้นเนื้อเยื่อหัวใจห้องบนจึงทำให้มีการหลั่ง catecholamine จึงเพิ่มอัตราการเต้นและแรงบีบตัว การทดลองครั้งนี้พบมีการเพิ่มของแรงบีบตัวในหัวใจด้านซ้ายเล็กน้อยเมื่อให้พิษงูขนาด 10 ไมโครกรัม อาจเป็นเพราะมี noradrenergic fibers

กระจายไปเลี้ยงทั้งหัวใจห้องบนซ้ายและหัวใจล่างด้วย แต่แรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจต้องอาศัยแคลเซียมในกระบวนการ Excitation-Contraction Coupling เป็นสำคัญ ผลของพิษงู เท่าต่อหัวใจด้านซ้ายอาจเกี่ยวข้องกับแคลเซียมเป็นหลัก เพราะทุกครั้งที่ทำให้พิษงูเท่าจางถึงขนาดที่ทำให้หัวใจเต้นผิดจังหวะหรือหยุดเต้น เมื่อเติมแคลเซียมคลอไรด์ 0.54 mM สามารถกระตุ้นแรงบีบตัวของหัวใจให้เพิ่มมากขึ้น ทั้งที่การกระตุ้นหัวใจด้านซ้ายยังคงกระตุ้นด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้าด้วยความถี่ที่ตลอดเวลา การให้โพรปรานอรัลมีประโยชน์ในด้านการเพิ่ม A-V nodal refractory period และลด phase 4 slope สามารถแก้ภาวะการเต้นผิดจังหวะของหัวใจที่เกิดจากผลของ catecholamines (Katzung, 1989) ดังนั้นจึงมีส่วนลดอัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจที่เต้นผิดปกติ การศึกษาครั้งนี้ใช้โพรปรานอรัลขนาด 0.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการตอบสนองของหัวใจต่อ noradrenaline 0.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรได้ โดยไม่ทำให้อัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลที่ได้จากการทดลองพบว่า กลุ่มทดลองที่ให้โพรปรานอรัลร่วมกับพิษงูเท่าทำให้อัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจรวมทั้งห้องบนขวาและซ้ายลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองที่ให้พิษงูเพียงอย่างเดียว (กราฟรูปที่ 9 และ 10) ( $P < 0.05$ ) และทำให้หัวใจเต้นจังหวะผิดปกติหรือหยุดเต้นน้อยกว่ากลุ่มที่ให้พิษงูเท่าเพียงอย่างเดียว อาจเป็นส่วนช่วยสนับสนุนว่าพิษงูเท่าออกฤทธิ์กระตุ้นผ่านทาง Sympathetic activity แต่ต้องอาศัยการทดลองที่ละเอียดและสมบูรณ์ยิ่งขึ้นอีกหลายครั้งจึงจะสรุปผลให้แน่นอนได้

ก่อนการหยุดเต้นของหัวใจไม่ว่าจะเป็นกลุ่มที่ให้พิษงูอย่างเดียวหรือกลุ่มที่ให้ร่วมกับโพรปรานอรัล มักพบจังหวะการเต้นที่ผิดปกติทั้งหัวใจด้านขวาและด้านซ้าย การเปลี่ยนแปลงทั้งหมดไม่ว่าจะเป็นหัวใจห้องบนขวาหรือซ้าย อาจเป็นผลจากการที่พิษงูเท่าไปรบกวนการสร้างหรือการนำกระแสไฟฟ้า ในระบบเหนี่ยวนำไฟฟ้าในหัวใจ ทั้งนี้เพราะการเกิดจังหวะการเต้นผิดปกติ (Arrhythmia) เกิดจากปัจจัยสำคัญ 2 ประการคือ มีสารยับยั้ง หรือรบกวนต่อการสร้างกระแสประสาท และการนำกระแสประสาทของหัวใจห้องบนด้านขวา (Katzung, 1989) มีรายงานการศึกษาที่สนับสนุนภาวะการเต้นผิดจังหวะของหัวใจดังต่อไปนี้ จากการศึกษาในผู้ป่วยที่ถูกงูเห่ากัดของ Reid (1964) พบว่า มีผู้ป่วยรายหนึ่งถูกงูเห่ากัดที่ขาขวา มีการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าหัวใจดังนี้ คือ การยกขึ้นของ ST Segment ใน right chest lead ความด้วย T wave หัวกลับลงล่าง ลักษณะเหล่านี้กลับสู่สภาพปกติในวันที่ 7 หลังถูกกัด นอกจากนี้ยังพบ

ความดันโลหิตต่ำลงจากเดิมอย่างมากในสัปดาห์แรก และกลับเป็นปกติในสัปดาห์ที่สอง จากประสบการณ์ในการทำงานที่หน่วย ไอ.ซี.ยู. อายุรกรรม ผู้ศึกษาพบว่า มีผู้ป่วยหลายรายที่ถูกงูเห่ากัดมีภาวะการเต้นของหัวใจช้ากว่าปกติ (Sinus Bradycardia) บางรายพบมีการเต้นผิดจังหวะแบบ Premature beat เช่น Premature Ventricular Contraction (P.V.C.) และบางรายมีภาวะการเต้นของหัวใจเร็วกว่าปกติ (Sinus Tachycardia) แต่เนื่องจากไม่ได้ตามศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าหัวใจของผู้ป่วยภายหลังย้ายออกจากหน่วย ไอ.ซี.ยู. และก่อนกลับบ้าน ทั้งยังไม่ทราบลักษณะพื้นฐานเดิมของคลื่นไฟฟ้าหัวใจของผู้ป่วยมาก่อน ฉะนั้นเป็นการยากที่จะระบุให้แน่ชัดว่า การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นผลจากพิษงูเห่าจริงหรือไม่ ในด้านสัตว์ทดลอง Lee (1968) พบว่า การให้ cardiotoxin ที่สกัดจากพิษงูเห่าส่งผลให้ความดันโลหิต systolic ลดลงมากกว่าความดันโลหิต diastolic ลักษณะของคลื่นไฟฟ้าหัวใจมี P-R interval ยาวกว่าปกติแสดงว่า มีการนำคลื่นไฟฟ้าช้าลง ความสูงของ QRS complex ลดลง มีการเปลี่ยนแปลงของ ST segment และ T wave และยังพบจังหวะการเต้นที่ผิดปกติ เช่น PVC, Complete AV Block และ Idioventricular Rhythm เป็นต้น Lee (1971) พบว่า พิษงูเห่า (Cobra Venom) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าหัวใจในหัวใจสุนัข แมว กระจ่าง ฯลฯ ในลักษณะคล้ายที่กล่าวข้างต้น บางครั้งพบจังหวะการเต้นแบบ nodal rhythm และ A-V dissociation การเปลี่ยนแปลงอาจแตกต่างกันบ้างในสัตว์แต่ละ species Ho และคณะ (1975) พบการเปลี่ยนแปลงใน electrophysiology ของเซลล์หัวใจกระต่าย คือพบว่า resting membrane potential ลดลง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ Action Potential และ ในเนื้อเยื่อหัวใจหนู cardiotoxin มีผลรบกวนต่อ conduction velocity, refractory period และ เกิดจังหวะการเต้นแบบปกติ (Arrhythmias) (Sun and Walker, 1986) การทดลองศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาในด้าน electrocardiography จึงไม่สามารถบอกถึงการเปลี่ยนแปลงหรือรูปแบบที่ผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าหัวใจได้ แต่พบจังหวะการเต้นแบบผิดปกติ (cardiac arrhythmia) ของหัวใจหนูทั้งด้านขวาและซ้าย ซึ่งเป็นเหมือนการทดลองด้วกล่าวข้างต้น

การพบจังหวะการเต้นที่ผิดปกติของหัวใจทั้งด้านขวาและด้านซ้าย รวมทั้งหัวใจที่เริ่มหยุดเต้นใหม่ ๆ สามารถแก้ไขได้โดยการให้แคลเซียมคลอไรด์ ในขนาด 0.54 mM แสดงว่า แคลเซียมมีบทบาทสำคัญในการแก้ความเป็นพิษของพิษงูเห่า โดยปกติคุณสมบัติในการสร้างกระแส

ประสาทได้เองของ SA node และความสามารถในการนำกระแสประสาทของ AV node ตลอดจนการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจจำเป็นต้องใช้แคลเซียมที่ผ่านผนังเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ โดยทาง slow membrane channel แคลเซียมมีบทบาทสำคัญ 2 อย่างในกระบวนการ Excitation Contraction Coupling คือ 1. เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการบีบตัว (trigger substance) และ 2. เป็นตัวควบคุมการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (regulating factor) (Hurst, 1986) จากกระบวนการ excitation contraction coupling มีการเพิ่ม permeable ของผนังเซลล์ต่อแคลเซียมนอกเซลล์ เริ่มจากการที่โซเดียมเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ โดยเร็วทำให้เกิด rapid upstroke ของ action potentials แล้วตามด้วยการเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมอย่างช้า ๆ ทำให้เกิดระยะ plateau ใน electrophysiology นั่นคือ โซเดียมใช้ระบบการนำส่ง (Carrier System) โดยใช้ fast channel และ แคลเซียมใช้ slow channel (Fleckenstein, 1983) แคลเซียมนอกเซลล์จับกับตำแหน่งเฉพาะที่บนผนังเซลล์ชั่วคราว เพื่อรอการเคลื่อนผ่านเข้าสู่ sarcoplasm ในการเกิด action potential ครั้งต่อไป การเกิด action potential จะกระตุ้น sarcoplasmic reticulum ที่ลอยอยู่ใน sarcoplasm ให้แหล่งแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ออกมา เพิ่มการจับตัวของแคลเซียมกับ troponin C ทำให้มี actin-myosin interaction และ ATP ase activity จึงเกิดการบีบตัวของกล้ามเนื้อ แต่ถ้า troponin C ไม่ได้จับกับแคลเซียมจะยับยั้ง actin-myosin interaction และ ATPase activity ของ myofibril จึงเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อ (Hurst, 1986) ถ้ามีสารอะโรกัตามไบยังการผ่านของแคลเซียมเข้าสู่เซลล์โดยทาง slow channel เช่น Organic calcium antagonist หรือ divalent ion ได้แก่ โคบอลต์ (Cobalt), นิกเกิล (nickel) และแมงกานีส (manganese) จะทำให้เกิดภาวะการลดลงของอัตราการเต้น แรงบีบตัว และคุณสมบัติในการนำกระแสประสาทภายในหัวใจผิดปกติไปได้ (Fleckenstein, 1983)

จากการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลายท่านพบว่า แคลเซียมสามารถลดหรือยับยั้งความเป็นพิษของ cardiotoxin ลงได้ Chang และคณะ (1972) พบว่า การให้แคลเซียมคลอไรด์ 10 mM สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ cardiotoxin ในการทำให้เกิด depolarization ที่ผนังเซลล์ Lee (1972) พบว่า แคลเซียมคลอไรด์สามารถแก้ฤทธิ์ของ cardiotoxin ในการทำให้เกิด ventricular fibrillation ในหัวใจหนู Lin และคณะ (1977) พบว่า

cardiotoxin มีผลยับยั้ง cholinesterases และการให้แคลเซียมคลอไรด์สามารถแก้ฤทธิ์นี้ได้เช่นกัน Jiang และคณะ (1989) พบว่า แคลเซียมปริมาณต่ำ (0.5-2.0 mM) มีส่วนช่วยเสริม hemolysis ของเซลล์ซึ่งเป็นผลจากการให้ cardiotoxin แต่แคลเซียมปริมาณสูง (5-40 mM) จะยับยั้งฤทธิ์ของ cardiotoxin ในการทำให้เกิด hemolysis ได้ Ho และคณะ (1975) เชื่อว่า depolarizing effect ของ cardiotoxin น่าจะเป็นผลของการเพิ่ม permeabilities ของผนังเซลล์ต่อไอออนทุกตัว จึงทำให้เกิดการทำลายผนังเซลล์เมื่อเพิ่มแคลเซียมในสารละลายสามารถแก้ฤทธิ์นี้ได้ อาจเพราะว่าแคลเซียมมีความจำเป็นในการรักษาความมั่นคงและซ่อมแซมผนังเซลล์ Sun และ Walker (1986) พบว่า แคลเซียมลด cardiotoxic action ของ cardiotoxin ในด้านการลด resting membrane potentials ซึ่งทำให้คิดว่าพิษอาจมีผลต่อโมเลกุลเฉพาะที่บนผนังเซลล์นั่นเอง Harvey และคณะ (1982) พบว่า การให้แคลเซียมเพิ่มขึ้นในสารละลายป้องกันการเกิด contracture ของกล้ามเนื้อหัวใจของหนูตะเภาและแมวได้ และเชื่อว่า cardiotoxin ไม่ได้ออกฤทธิ์ที่ขั้นตอนเฉพาะขั้นตอนใดในกระบวนการปกติของ Excitation-Contraction coupling แต่อาจออกฤทธิ์โดยตรงที่ผนังเซลล์ ซึ่งอาจทำให้เกิดการสร้างเป็นรูที่เสริมการ influx เข้าสู่เซลล์ของแคลเซียม Chang และคณะ (1972) ได้พบอีกว่า การให้แคลเซียมคลอไรด์สามารถยับยั้ง nerve blocking และ depolarizing effect ของ crude venom ได้เช่นกัน Fletcher และคณะ (1987) ค้นพบว่า Dantrolene ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการหลั่งของแคลเซียมจาก sarcoplasmic reticulum สามารถยับยั้งผลของ cardiotoxin ในการทำให้เกิด contracture ซึ่งแสดงให้เห็นว่า cardiotoxin ในพิษงูกระตุ้นให้มีการขับแคลเซียมจาก sarcoplasmic reticulum ว่าเมื่อมีแคลเซียมหลั่งออกมามากก็ทำให้เกิด contracture ของกล้ามเนื้อได้ง่าย การให้แคลเซียมคลอไรด์สามารถยับยั้งฤทธิ์ของพิษงูได้หลายด้าน แต่กลไกแห่งการยับยั้งไม่สามารถสรุปออกมาได้ทราบได้อย่างเด่นชัด

สำหรับผลที่ได้จากการให้แคลเซียมคลอไรด์ในการศึกษาครั้งนี้ ถ้านำมาพิจารณาร่วมกับการทดลองทั้งหลายดังกล่าวข้างต้น อาจมองเหตุผลที่แคลเซียมสามารถแก้ไขภาวะการเต้นผิดจังหวะหรือภาวะที่หัวใจเริ่มหยุดเต้นได้เป็น 2 ประเด็น คือ 1. พิษงูไปยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียม โดยทาง Slow channel คล้าย calcium antagonist จึงทำให้อัตราการเต้นและแรงบีบตัวลดลงจนเกิดภาวะการเต้นผิดจังหวะ แต่ผลจากการให้พิษงูเข้าไม่ได้ทำให้อัตรา



การเต้นและแรงบีบตัวลดลงตั้งแต่ตอนแรกเริ่มที่เติมพิษงู แต่กลับเพิ่มการทำงานของหัวใจในระยะแรก ๆ จึงคิดว่าอาจจะไม่ใช่เหตุผลที่ถูกต้องนัก ส่วนอีกเหตุผลหนึ่งคือ 2. พิษงูเห่ากระตุ้นให้มีการใช้แคลเซียมมากขึ้น จึงทำให้พบว่า ในระยะต้น ๆ ที่ให้พิษงูเห่าจะกระตุ้นให้มีการเพิ่มทั้งอัตราการเต้นและแรงบีบตัว และเมื่อแคลเซียมในเซลล์ลดลงจึงทำให้กีดทั้งอัตราการเต้นและแรงบีบตัวในตอนท้ายการทดลอง จากการทดลองของ Fletcher และคณะ (1987) ที่พบว่า Dantrolene ยับยั้งฤทธิ์ของ cardiotoxin ได้ จึงน่าจะแสดงได้ว่าพิษงูเห่ากระตุ้นให้มีการใช้แคลเซียมมากขึ้นจริง เมื่อให้แคลเซียมคลอไรด์เข้าไปจึงเป็นการทดแทนแคลเซียมที่ถูกใช้ไปแล้ว ทำให้ช่วยแก้ไขภาวะการเต้นผิดจังหวะ หรือหัวใจหยุดเต้นของหัวใจหนูที่ได้รับพิษงูเห่าได้ในทุกขนาด เหตุผลที่คาดคะเนทั้งสองประการยังต้องอาศัยการทดลองสนับสนุนอีกหลายครั้ง แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบได้ว่าแคลเซียมคลอไรด์ในปริมาณ 0.54 mM สามารถแก้ไขภาวะการเต้นผิดจังหวะหรือหัวใจหยุดเต้นของหัวใจหนูที่ได้รับพิษงูเห่า (crude venom) ได้ แสดงว่า แคลเซียมน่าจะมียุทธศาสตร์ทั้งในด้านป้องกันหรือแก้ไขความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากการได้รับพิษงูเห่าเสมอ แม้ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัดแต่น่าจะเป็นประโยชน์ในการรักษาหรือป้องกันความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นในระบบหัวใจและหลอดเลือดสำหรับผู้ป่วยที่ถูกงูเห่ากัดทุกราย

ผลการทดลองที่ให้ เซรุ่มแก้พิษงูเห่าร่วมกับพิษงูเห่าเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงต่อการทำงานของหัวใจ พบว่า ไม่สามารถแปลผลได้ เนื่องจากทุกครั้งที่ให้ เซรุ่มร่วมกับพิษงูเห่าทำให้เกิดฟองล้นออกจาก Organ bath ทุกครั้ง ไม่สามารถบันทึกผลที่เที่ยงตรงได้ จึงต้องตัดผลที่ได้จากการทดลองนี้ทิ้ง เพราะไม่สามารถวิเคราะห์ผลที่แท้จริง อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ไม่ละเอียดพอที่จะค้นหาหรือยืนยันถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงของพิษงูเห่าอย่าง เดียวหรือที่ให้ร่วมกับโพรปรานอลอล ตลอดจนการแก้ไขด้วยแคลเซียมคลอไรด์ แต่ทำให้ทราบว่า พิษงูเห่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านอัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจหนูทั้งด้านขวาและซ้ายที่แยกออกมา อันจะเป็นประโยชน์ในการนำไปสู่การดูแลรักษาพยาบาลแก่ผู้ป่วยที่ถูกงูเห่ากัด ซึ่งจะต้องพึงระวังถึงผลของพิษงูเห่าที่อาจมีผลต่อการทำงานของหัวใจ และอาจพิจารณาใช้แคลเซียมแก้ภาวะความผิดปกติในจังหวะการเต้นของหัวใจ หรือต้องพึงระวังสำหรับผู้ที่ได้รับยาประเภทเบต้าบล็อกเกอร์อยู่ก่อนถูกงูเห่ากัด เป็นต้น

### สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ ทำให้ทราบถึงผลของพิษงูเห่าไทยต่อการทำงานของหัวใจห้องบนขวาที่แยกออกมาทั้งด้านขวาและซ้าย โดยพบว่า

1. การให้พิษงูเห่าในขนาดต่ำ 10 และ 20 ไมโครกรัม/ 25 มิลลิลิตร จะเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจห้องบนด้านขวา แต่ขนาดของพิษที่สูงขึ้นลดอัตราการเต้นของหัวใจทางด้านแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนด้านซ้ายพบว่า พิษงูเห่าขนาด 10 ไมโครกรัม/ 25 มิลลิลิตร เพิ่มแรงบีบตัวเพียง 10 นาทีแรก หลังจากนั้นแรงบีบตัวลดลงมากจนหัวใจหยุดเต้นหมดภายหลังจากให้พิษงูเห่าเพียง 20 ไมโครกรัม/ 25 มิลลิลิตร ผลการเปลี่ยนแปลงนี้เชื่อว่า ในพิษงูมีส่วนประกอบสำคัญที่มีความเป็นพิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจโดยตรง เรียกว่า cardiotoxin

2. ในกรณีของการให้โปรبرانอร์ล 0.15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนให้พิษงูเห่านาน 10 นาที พบว่า ทั้งอัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจลดลงด้วยทุกขนาดของพิษงูเห่าที่ให้สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของพิษงูเห่าที่มีผลเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจยังไม่อาจสรุปได้แน่นอน แต่เชื่อว่ามีผลต่อระบบ sympathetic เนื่องจากถูกยับยั้งได้ด้วยโปรبرانอร์ล ผลของโปรبرانอร์ลต่ออัตราการเต้นและแรงบีบตัวของหัวใจเมื่อให้ร่วมกับพิษงูเห่าแสดงให้เห็นว่ายาโปรبرانอร์ลกลับทำให้อาการพิษของพิษงูรุนแรง และมีอันตรายมากขึ้น จึงไม่สมควรที่จะให้โปรبرانอร์ลในผู้ป่วยที่ได้รับพิษงูเห่าและมีอาการของหัวใจเต้นผิดจังหวะ (cardiac arrhythmias)

3. หัวใจหนูที่ได้รับพิษงูเห่าเกือบทุกตัวพบมีจังหวะการเต้นแบบผิดจังหวะ และหัวใจหยุดเต้นในเวลาต่อมา การให้แคลเซียมคลอไรด์ 0.54 mM สามารถแก้ไขภาวะผิดปกติที่เกิดขึ้น และสภาพการเต้นที่ผิดจังหวะกลับคืนเกือบปกติ แสดงว่า แคลเซียมสามารถแก้อาการพิษได้ แต่แก้ด้วยกลไกที่ยังไม่อาจทราบได้ แต่ผลที่ได้คือ อาจนำเอาแคลเซียมคลอไรด์ไปใช้รักษาอาการพิษที่เกิดขึ้นอย่างชัดเจนในผู้ป่วยที่ถูกงูเห่ากัดเพื่อความปลอดภัยในชีวิตของผู้ป่วยเหล่านี้

### ข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองครั้งนี้แม้ไม่สามารถอธิบายกลไกการออกฤทธิ์ของพิษงูเห่าได้ แต่ก็ทำให้ทราบว่า พิษงูเห่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหัวใจ น่าจะมีการศึกษาเพื่อสกัดแยก

พิษงูเห่าและนำส่วนประกอบที่แยกได้มาทำการทดลอง เพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ ตลอดจนวิธีหา  
ทางแก้ไขภาวะผิดปกติที่เกิดขึ้น เพื่อเป็นแนวทางในการรักษาหรือป้องกันผู้ป่วยที่ถูกงูเห่ากัดให้  
ปลอดภัยและรอดพ้นอันตรายได้เร็วขึ้น และนำจะศึกษาผลของพิษงูเห่าไทยต่อระบบอื่นในร่างกาย  
โดยเฉพาะ เรื่องการทำให้เกิดแผลเนื้องาย รวมทั้งวิธีการป้องกันที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้มีพยาธิ-  
สภาพหลงเหลืออยู่ในตัวผู้ป่วย



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย