บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกโปรตีนที่เป็นพิษออกจากพิษงูเห่าไทย (Naja naja kaouthia) ด้วยคอลัมน์ไบโอเร็กซ์-70 โดย Karlsson, 1971 พบว่าในพิษงูมีองค์ประกอบหลัก 3 ส่วนคือ เอนไซม์-ฟอสโฟไลเปส เอ นิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซิน ทอกซินทั้งสองตัวนี้เป็นเบสิคโปรตีน โดยที่คาร์ดิโอทอกซินมีประจุสุทธิเป็นบวกมากกว่าจึงถูกชะออกมาที่ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์สูง ในการทดลองนี้แยกพิษงูเห่าไทยโดยใช้คอลัมน์ไบโอเร็กซ์-70 ได้ 3 ส่วนใหญ่ๆ เช่นกัน คือพีคที่ I พีคที่ VI และพีคที่ XIII ซึ่งพีคที่ I เป็นเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส เอ เนื่องจากพบว่ามีแอคติวิตีของฟอสโฟไลเปส เอ ส่วนพีคที่ XIII เป็นคาร์ดิโอทอกซิน เนื่องจากมีสมบัติในการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก แต่ไม่พบแอคติวิตีของเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส เอ ซึ่งสมบัติในการทำให้เกิดฮีโมไลซิส (hemolysis) นี้จะพบเฉพาะในคาร์ดิโอทอกซินเท่านั้นจะไม่พบในนิวโรทอกซิน (Zusman, 1982) ดังนั้นพีคที่ VI จึงควรเป็นนิวโรทอกซิน ซึ่งสามารถจะยืนยันได้จากน้ำหนักโมเลกุลของทอกซินทั้งสองชนิดนี้ ซึ่งได้หาน้ำหนักโมเลกุลของพีคที่ VI และ XII หลังจากทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยการนำไปผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์จี-50 แล้ว พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 7,798 และ 7,080 ตามลำดับ ซึ่ง Karlsson (1972) เคยรายงานน้ำหนักโมเลกุลของนิวโรทอกซินไว้เท่ากับ 7,800 ดาลตันและของคาร์ดิโอทอกซินเท่ากับ 6,727 ดาลตัน (Fryklund, 1975) ซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดลองนี้ นอกจากการใช้สมบัติในการทำให้เกิดฮีโมไลซิส เป็นตัวกำหนดว่าเป็นคาร์ดิโอทอกซินแล้วอาการของสัตว์เมื่อได้รับทอกซินต่างชนิดกันจะต่างกันด้วย เช่น หนู (mice) หลังจากที่ถูกฉีดด้วยนิวโรโอทอกซินจากพิษงูเห่าไต้หวัน (Naja naja atra) เข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneus) จะมีอาการหายใจลำบากและเป็นอัมพาตของกล้ามเนื้อโดยไม่มีอาการตื่นเต้นหรือตัวสั่น ชัก ก่อนที่ระบบหายใจหยุดทำงาน แต่หนูที่ถูกฉีดด้วยคาร์ดิโอทอกซินจะมีอาการตื่นเต้น วิ่งรอบภาชนะที่ใส่ ใช้ขาตะกุยบริเวณที่ฉีด อาการเหล่านี้แสดงถึงการมีฤทธิ์ระคายเคืองของทอกซิน และมักพบเลือดดั่งบริเวณที่ฉีด และมีอาการชาแข็ง ชักกระตุกและเป็นอัมพาตในที่สุด (Lee และคณะ 1968) แต่ในการทดลองนี้อาการของหนูหลังจากฉีดด้วยนิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซิน ไม่ได้เห็นต่างกันชัดเจนดังที่ได้กล่าวข้างต้น จึงได้ใช้เฉพาะสมบัติการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกและน้ำหนัก

โมเลกุลเป็นเครื่องบ่งชี้ถึงชนิดของทอกซิน

ขั้นตอนการทำให้นิวโรทอกซินบริสุทธิ์ขึ้น โดยใช้คอลัมน์เซฟาเด็กซ์จี-50 ที่ Karlsson และEaker(1971) เคยทำนั้นจะได้โปรตีน 3 พีค พีคแรกเป็นไดเมอร์(dimer)ของนิวโรทอกซิน เกิดขึ้นในขณะที่ทำให้แห้งขณะแช่ง(lyophilization) พีคที่ 2 เป็นโมโนเมอร์(monomer) ของนิวโรทอกซิน มีประมาณ 90 เปอร์เซนต์ ของนิวโรทอกซินทั้งหมด พีคสุดท้ายเป็นสิ่งปนเปื้อน มีประมาณ 3 เปอร์เซนต์ แต่ผลการทดลองนี้ได้พีคแรกเป็นโมโนเมอร์ของนิวโรทอกซิน ไม่มีพีคของไดเมอร์ เนื่องจากขั้นตอนในการทำให้นิวโรทอกซินเข้มข้นขึ้นไม่ได้ใช้วิธีทำให้แห้งขณะแช่ง แต่ใช้วิธีอุลตราฟิลเตรชัน จึงไม่ทำให้เกิดพีคดังกล่าวและ 2 พีคหลังที่นับนั้นเป็นสิ่งปนเปื้อน ซึ่งมีปริมาณต่ำมาก โดยทั่วไปปริมาณของนิวโรทอกซินหลักในพิษงูเห่าไทยจะมีประมาณ 1/4 ของน้ำหนักของพิษงูหรือประมาณ1/3ของโปรตีนในพิษงู(Karlsson,1971) ปริมาณของนิวโรทอกซินที่แยกได้ครั้งนี้มีปริมาณใกล้เคียงกับที่ Karlsson เคยรายงานไว้ คือ ได้ประมาณ 31.5 เปอร์เซนต์ของโปรตีนในพิษงู

Zusman(1982) ได้เคยแยกทอกซินจากพิษงูเห่าไทยโดยวิธีของ Karlsson เช่นกัน พบพีคที่เป็นคาร์ดิโอทอกซินประมาณ 30 เปอร์เซนต์ ของน้ำหนักพิษงูแห้งและไม่พบแอคติวิตีของเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส เอ ซึ่งถ้ามีการปนเปื้อนของเอนไซม์ดังกล่าวมากับคาร์ดิโอทอกซินจะทำให้เร่งการเกิดฮีโมไลซิสได้(Louw และ Visser,1977) ในการทดลองนี้พบว่าแยกได้ส่วนที่เป็นคาร์ดิโอทอกซิน ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดฮีโมไลซิสประมาณ 27 เปอร์เซนต์ของโปรตีนในพิษงูและเมื่อนำส่วนที่เป็นคาร์ดิโอทอกซินไปทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยการนำไปผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์จี-50 จะได้โปรตีน 3 พีค เป็นพีคที่ 1,2 และ 3 ซึ่งทำให้เกิดฮีโมไลซิส 0,85 และ 41 เปอร์เซนต์ตามลำดับและมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ >25,000, 19,700 และ 7,080 ดาลตัน ตามลำดับ พีคที่ 3 ซึ่งเป็นพีคที่ใหญ่ที่สุดทำให้เกิดฮีโมไลซิสและมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับที่เคยมีผู้รายงานไว้ จึงเป็นคาร์ดิโอทอกซินที่แยกได้จากพิษงูเห่าไทย

เมื่อทดสอบความบริสุทธิ์ของนิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซินที่แยกได้จากพิษงูเห่าไทย โดยใช้คอลัมน์ไบโอเร็กซ์-70 และทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยใช้คอลัมน์เซฟาเด็กซ์จี-50 โดยวิธีอิเลคโทรโฟรีซิสพบว่าเกิดแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวซึ่งนับว่าได้ทอกซินที่ค่อนข้างบริสุทธิ์

ในการทดสอบความเป็นพิษของทอกซินทั้งสองชนิดที่แยกได้โดยการหาค่า LD_{50} เปรียบเทียบกับพิษงูเห่าไทย จะเห็นได้ว่านิวโรทอกซินมีความเป็นพิษสูงมากคือมีค่า LD_{50} 1.8 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนู 16 กรัม เมื่อเทียบกับพิษงูเห่าไทยซึ่งมีค่า LD_{50} 5.8 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนู

20 กรัม จะเห็นได้ว่าความเป็นพิษของนิวโรทอกซินหลังจากที่ทำให้บริสุทธิ์จะมากกว่าของพิษงูเห่า (crude venom) เนื่องจากมีการกำจัดโปรตีนส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ที่แสดงความเป็นพิษออกไป ส่วนดาร์ดิโอทอกซินพบว่ามีความเป็นพิษต่ำกว่านิวโรทอกซินมาก คือมีค่า LD_{50} 34.8 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนู 16 กรัม โดยทั่วไปจึงถือว่านิวโรทอกซินในพิษงูเห่าไทยเป็นส่วนสำคัญที่สุดที่ทำให้ผู้ถูกงูดังกล่าวกัดถึงแก่ชีวิต (Lester, 1970, 1972 a,b. Eaker, 1971) ในปี 1972 Lee ได้รายงานค่า LD_{50} ของนิวโรทอกซินไว้เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนู 20 กรัม และของดาร์ดิโอทอกซิน 20-60 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนู 20 กรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ได้จากการทดลองนี้

เนื่องจากนิวโรทอกซินมีความเป็นพิษสูงมากจึงไม่สามารถใช้นิวโรทอกซินปริมาณมากในการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนตินิวโรทอกซินได้ นอกจากนั้นทั้งนิวโรทอกซินและดาร์ดิโอทอกซินมีน้ำหนักโมเลกุลค่อนข้างต่ำ คืออยู่ในช่วง 7,000-8,000 ดาลตัน เท่านั้น จึงเป็นอิมมูโนเจนที่ไม่ดี ปกติสารที่จะเป็นอิมมูโนเจนที่ดีควรมีน้ำหนักโมเลกุลสูง เป็นสิ่งแปลกปลอมและมีโครงสร้างทางเคมีที่ซับซ้อน นิวโรทอกซินและดาร์ดิโอทอกซินจึงถือว่าเป็นแฮบเทน (hapten) ไม่สามารถกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีที่มีไตเตอร์สูงได้ (Moroz-Perlmutter, Goldblum และ De Vries, 1965) ดังนั้นการดัดแปลงโมเลกุลของทอกซินให้ซับซ้อนขึ้นทำได้โดยนำไปเชื่อม (conjugate) กับสารที่มีสมบัติเป็นอิมมูโนเจนที่ดี เช่น ซีรัมอัลบูมิน ไทโรกลอบูลิน โดยใช้คาร์โบไดอิไมด์เป็นตัวเชื่อม (coupling reagent) น่าจะเป็นวิธีที่ดีวิธีหนึ่ง โดยหวังว่าจะได้โมเลกุลที่มีความซับซ้อนขึ้นและอาจทำให้ความเป็นพิษของทอกซินลดลงด้วย ผลการทดลองเตรียมคอนจูเกตระหว่างนิวโรทอกซินและดาร์ดิโอทอกซินกับโปรตีนตัวนำ โดยการใช้อัตราส่วนจำนวนโมลของสารตั้งต้น (reagent molar ratio) คือ ทอกซิน: โปรตีนตัวนำ: คาร์โบไดอิไมด์ ต่างๆกัน จะเห็นได้ว่าการเพิ่มจำนวนโมลของทอกซิน จะทำให้ได้จำนวนโมลของทอกซินที่เข้าไปเชื่อมกับโปรตีนตัวนำ (incorporation molar ratio) ได้มากขึ้น การเพิ่มจำนวนโมลของทอกซินจะทำให้ทอกซินมีโอกาสเข้าไปเกาะกับโปรตีนตัวนำได้มากขึ้น ได้มีรายงานว่าอัลบูมินจากซีรัมวัวมีหมู่คาร์บอกซิลอิสระอยู่ประมาณ 118 หมู่ ส่วนของไทโรกลอบูลินมีอยู่ประมาณ 1,100 หมู่ (Skowsky และ Fisher, 1972) ผลการเตรียมคอนจูเกตระหว่างนิวโรทอกซินกับอัลบูมินมีจำนวนโมลนิวโรทอกซินเข้าไปเชื่อมกับอัลบูมินหนึ่งโมล (Incorporation molar ratio) สูงสุดคือประมาณ 38 หรือประมาณร้อยละ 32 ของหมู่คาร์บอกซิล มีนิวโรทอกซินเข้าไปเชื่อมอยู่ สำหรับดาร์ดิโอทอกซินจะมีจำนวนโมลของดาร์ดิโอทอกซินเข้าไปเชื่อมกับอัลบูมินประมาณ 57 หรือ

ประมาณร้อยละ 48 ของหมู่คาร์บอกซิลิกมีคาร์ดิโอทอกซินเข้าไปเชื่อม ความแตกต่างกันนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของโครงสร้างของทอกซินทั้งสองชนิดนี้ หรืออาจเป็นเพราะคาร์ดิโอทอกซินมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่านิวโรทอกซิน จึงมีโอกาสเข้าไปจับกับอัลบูมินได้มากกว่า ส่วนคอนจูเกตระหว่างนิวโรทอกซินกับไทโรกลอบูลินและคาร์ดิโอทอกซินกับไทโรกลอบูลิน มีจำนวนทอกซินเข้าไปเชื่อมกับไทโรกลอบูลินได้สูงสุดประมาณ 70-72 หรือประมาณร้อยละ 6-7 ของหมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุลของไทโรกลอบูลินมีนิวโรทอกซินเข้าไปเชื่อมอยู่ การที่หมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุลของไทโรกลอบูลินมีจำนวนทอกซินเข้าไปเชื่อมได้น้อยกว่าในโมเลกุลของอัลบูมินอาจเนื่องมาจากหมู่คาร์บอกซิลส่วนหนึ่งอาจซ่อนอยู่ภายในโครงสร้างตติยภูมิ(tertiary structure)ของโปรตีน ทำให้ทอกซินเข้าไปจับไม่ได้ ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้เฉพาะคอนจูเกตที่มีจำนวนโมลของทอกซินสูงๆไปใช้กระตุ้นสัตว์ทดลองเพื่อให้สร้างแอนติทอกซิน ทั้งนี้เนื่องจากเป็นที่ทราบกันว่าการใช้คอนจูเกตที่มีแฮบเทนจำนวนมากเชื่อมอยู่กับโปรตีนตัวนำกระตุ้นสัตว์ทดลอง จะทำให้ได้แอนติบอดี(ต่อแฮบเทนนั้นๆ)ที่มีไตเตอร์สูง(Goodfriend, 1964)

แฮบเทนบางตัวมีความจำเพาะสำหรับโปรตีนตัวนำบางตัวเท่านั้น เช่น ไลซีนวาโซเพรสซิน(lysine vasopressin)และ พาราไธรอยด์ฮอร์โมน (parathyroid hormone) ต้องคอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินจึงจะกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีได้ แต่ถ้าคอนจูเกตกับโปรตีนตัวอื่น เช่น อัลบูมิน โอวาลบูมินหรือ โพลีเมอร์ของกรดอะมิโนต่างๆ จะไม่กระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดี(Skowsky และ Fisher, 1972) นอกจากนั้นพบว่า พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin E_1 และ E_2)ที่คอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินแล้ว สามารถกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูงกว่าเมื่อคอนจูเกตกับอัลบูมินจากซีรัมวัว(Raz, Schwartzman, Kenig-Warshal และ Perl, 1975)

ก่อนที่จะนำทอกซินคอนจูเกตไปกระตุ้นสัตว์ทดลอง ได้นำไปทดสอบความเป็นพิษก่อน ปรากฏว่านิวโรทอกซินคอนจูเกตทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษน้อยกว่านิวโรทอกซินอิสระ แต่ทั้งนิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซินที่คอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินมีความเป็นพิษน้อยกว่าที่คอนจูเกตกับอัลบูมิน อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่า การดัดแปลงโมเลกุลของทอกซินโดยการคอนจูเกตกับโปรตีนตัวนำ จะทำให้ความเป็นพิษของทอกซินลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากตำแหน่งบนโมเลกุลของทอกซินที่ถูกดัดแปลงอาจเกี่ยวข้องกับบริเวณที่แสดงความเป็นพิษ(functional group)ของทอกซิน มีการทดลองที่พบว่าบริเวณที่นิวโรทอกซินใช้จับกับอะเซทิลโคลีน รีเซปเตอร์(acetylcholine receptor) นั้นค่อนข้างกว้างประกอบด้วยหมู่อะมิโนของ Lys23 และLys 49 และ Ile 1อาจ

รวมทั้ง Lys 69 และLys 35 (Balasubramaniam,Eaker และ Karlsson,1983) ถ้าหมู่อะมิโนเหล่านี้เข้าทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลของโปรตีนตัวนำจะทำให้ความเป็นพิษของทอกซินลดลง

ในการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนตินิวโรทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซิน ได้ใช้เฉพาะทอกซินที่คอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินเท่านั้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นคือทอกซินที่คอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินมีความเป็นพิษต่ำและ ไทโรกลอบูลินอาจช่วยทำให้ได้แอนติเจนที่มีความจำเพาะและมีไตเตอร์สูง ซึ่งในการกระตุ้นสัตว์ทดลองให้สร้างแอนติทอกซินนั้นได้ทดลองใช้ทอกซินอิสระด้วย ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ชัดเจนว่าสามารถใช้นิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซินที่คอนจูเกตกับไทโรกลอบูลินได้ในปริมาณสูง และสามารถกระตุ้นให้กระต่ายสร้างแอนตินิวโรทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซินได้ดีกว่าการใช้นิวโรทอกซินหรือคาร์ดิโอทอกซินอิสระ โดยที่ปริมาณของทอกซินในทอกซินคอนจูเกตใกล้เคียงกับปริมาณของทอกซินอิสระที่ใช้ฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลอง แสดงว่าการดัดแปลงโมเลกุลของทอกซินโดยการเตรียมให้เป็นคอนจูเกตกับโปรตีนตัวนำ นอกจากจะทำให้ความเป็นพิษลดลงดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังทำให้ทอกซินมีสมบัติในการเป็นอิมมูโนเจน(immunogenicity)เพิ่มขึ้นด้วย

ในการใช้นิวโรทอกซินคอนจูเกตและคาร์ดิโอทอกซินคอนจูเกตกระตุ้นกระต่าย เพื่อให้สร้างแอนตินิวโรทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซินนั้น ได้แอนตินิวโรทอกซินที่มีไตเตอร์สูงกว่าแอนติคาร์ดิโอทอกซินมาก ทั้งๆที่คอนจูเกตกับโปรตีนตัวนำเดียวกันและมีจำนวนทอกซินเกาะกับโปรตีนตัวนำใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับจำนวนโมเลกุลของทอกซินที่เกาะกับโปรตีนตัวนำเนียงอย่างเดียว แต่น่าจะขึ้นอยู่กับความแตกต่างภายในโมเลกุลของทอกซินทั้งสองชนิดนี้ด้วย คือ บริเวณที่เป็นแอนติเจนิคดีเทอร์มิแนนท์ (antigenic determinant)ของโมเลกุลทั้งสองมีความแตกต่างกัน จึงทำให้สมบัติในการเป็นอิมมูโนเจน (immunogenicity)ต่างกัน ซึ่งเหตุผลนี้มีข้อสนับสนุนที่ชัดเจน คือ การที่ใช้นิวโรทอกซินอิสระกระตุ้นกระต่ายแล้วได้แอนตินิวโรทอกซิน ที่มีไตเตอร์สูงกว่าแอนติคาร์ดิโอทอกซินที่ได้จากการใช้คาร์ดิโอทอกซินอิสระกระตุ้นทั้งๆที่ใช้ปริมาณนิวโรทอกซินต่ำกว่าคาร์ดิโอทอกซิน 4 เท่า

โดยปกติการคอนจูเกตแฮปเทนเข้ากับโปรตีนตัวนำ จะได้คอนจูเกตที่มีขนาดใหญ่และแฮปเทนเปรียบเหมือนแอนติเจนิคดีเทอร์มิแนนท์ของคอนจูเกตนั้น การสร้างแอนติบอดีต่อแฮปเทนซึ่งเกาะอยู่บนโปรตีนตัวนำต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของ ที และ บี ลิมโฟไซต์ (T and B lymphocytes co-operation) โดยที่ ทีลิมโฟไซต์จะรับรู้(recognize)และตอบสนองต่อ

ดีเทอร์มิแนนท์ของโปรตีนตัวนำ จากนั้นทีลิมโฟไซต์จะช่วย บี ลิมโฟไซต์ในการสร้างแอนติบอดี ที่จำเพาะต่อแฮบเทน วิธีการทำงานร่วมกันของทีและบีลิมโฟไซต์ มีผู้อธิบายไว้หลายทฤษฎี เช่น ทีลิมโฟไซต์ปล่อยไมโตเจนิกแฟกเตอร์(mitogenic factor)ไปกระตุ้นบีลิมโฟไซต์ให้สร้างแอนติ-บอดี เป็นต้น(Roitt, 1977)

การหาปริมาณแอนติบอดีโดยวิธีอิมมูโนดิฟฟิวชันและวิธีELISA ได้ผลไม่ค่อยสอดคล้องกัน นักโดยเฉพาะในช่วงที่มีไตเตอร์ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากวิธีอิมมูโนดิฟฟิวชันเป็นวิธีที่มีความไวต่ำมากเมื่อเทียบกับวิธี ELISA ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวและความถูกต้องสูง

จากการทดสอบการทำปฏิกิริยาข้าม(cross reaction)ของแอนตินิวโรทอกซินกับพิษงูอื่นๆ 5 ชนิด คือ งูจงอาง(Ophiophagus hannah) งูสามเหลี่ยม(Bungarus fasciatus) งูแมวเซา(Vipera russelli) งูกะปะ(Agkistrodon rhodostoma) งูเขียวหางไหม้(Trimeresurus albolabris) พบว่าสามารถทำปฏิกิริยาข้ามได้กับพิษงูจงอาง แต่ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับพิษงูชนิดอื่นอีก 4 ชนิด ซึ่งมีรายงานว่าในพิษงูจงอางมีนิวโรทอกซินที่มีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับนิวโรทอกซินในพิษงูเห่า(Yang, 1974) จึงเป็นไปได้ว่าแอนตินิวโร-ทอกซินที่ได้จากการทดลองนี้สามารถทำปฏิกิริยาข้ามได้กับพิษงูจงอาง อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ไม่ได้ทดสอบความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูจงอางโดยแอนตินิวโรทอกซินนี้ จึงไม่ทราบว่าจะใช้แก้พิษงูจงอางได้หรือไม่และมากน้อยเพียงใด

เมื่อได้แอนติซีรัมต่อนิวโรทอกซินและต่อคาร์ดิโอทอกซินจากพิษงูเห่าไทย ที่นับว่ามีแอนติบอดีไตเตอร์สูงพอสมควรแล้ว ในการที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาผู้ถูกงูเห่าไทยกัด จำเป็นต้องทดสอบความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของแอนติซีรัมก่อน ว่ามีประสิทธิภาพเพียงพอหรือไม่

ความสามารถในการทำลายความเป็นพิษ(ของพิษงูเห่าไทย) ของแอนตินิวโรทอกซินพบว่าต่ำกว่าของแอนตินิวโรทอกซินคอนจูเกต ทั้งนี้อาจเนื่องจากแอนตินิวโรทอกซินมีแอนติบอดีไตเตอร์ต่ำกว่า นอกจากนั้นยังพบว่าแอนติคาร์ดิโอทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซินคอนจูเกตมีความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูเห่าไทยได้ต่ำกว่าแอนตินิวโรทอกซินมาก แต่ถ้าผสมแอนตินิวโรทอกซินคอนจูเกตกับแอนติคาร์ดิโอทอกซินคอนจูเกตด้วยอัตราส่วน 1:1 จะทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายความเป็นพิษสูงขึ้นและสูงกว่าผลรวมที่ได้จากการใช้แอนติทอกซินแยกกัน แสดงว่าแอนติทอกซินช่วยเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน ในกรณีของคาร์ดิโอทอกซิน เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ต่ออวัยวะเป้าหมายนั้นต้องเกิดจากการทำงานร่วมกันของทอกซินกับโปรตีนตัวอื่น เช่น

ฟอสโฟไลเปส เอ ดังนั้นการสร้างแอนติบอดีต่อคาร์ดิโอทอกซินอย่างเดียว อาจยังไม่เพียงพอสำหรับการทำลายความเป็นพิษของพิษงูเห่าได้ทั้งหมด อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าแอนตินิวโรทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซินสามารถทำลายความเป็นพิษของนิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซินตามลำดับได้ดีกว่าการทำลายพิษงูเห่า(crude venom)มาก โดยเฉพาะแอนตินิวโรทอกซิน ทั้งนี้เนื่องจากแอนติทอกซินมีความจำเพาะต่อทอกซินมากกว่าพิษงูเห่า

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูเห่าไทย(crude venom) ระหว่างการใช้แอนติทอกซินที่ได้จากการทดลองนี้กับแอนติเวนินที่ได้จากม้า (จากกองวิทยาศาสตร์สภากาชาดไทย) ซึ่งได้จากการกระตุ้นม้าด้วยพิษงูเห่าไทย(crude venom)จะเห็นว่าแอนตินิวโรทอกซินหรือแอนติคาร์ดิโอทอกซิน มีความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูเห่าได้ต่ำกว่าแอนติเวนินที่ได้จากม้า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแอนติเวนินมีไตเตอร์สูงกว่าของแอนติ-ทอกซิน เป็นที่น่าเสียดายที่ไม่สามารถใช้วิธี ELISA หาแอนติบอดีไตเตอร์ของแอนติเวนินได้เนื่องจากไม่มีแอนติกลอบูลินของม้าที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (enzyme labelled horse antiglobulin) อย่างไรก็ตามถ้ามีการใช้แอนตินิวโรทอกซินผสมกับแอนติคาร์ดิโอทอกซินน่าจะมีความสามารถในการทำลายความเป็นพิษ(ของพิษงูเห่า)ใกล้เคียงกับของแอนติเวนินจากม้า นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าการใช้แอนติบอดีที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว(purified antibody) จะช่วยทำให้เพิ่มความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูได้อย่างมาก

ในการวิจัยครั้งนี้ได้แยกนิวโรทอกซินและคาร์ดิโอทอกซินออกจากพิษงูเห่าไทยและทำให้บริสุทธิ์ขึ้น ได้ทอกซินที่มีความบริสุทธิ์พอสมควร การดัดแปลงโมเลกุลของทอกซินโดยการคอนจูเกตกับโปรตีนตัวนำนอกจากจะทำให้ความเป็นพิษของทอกซินลดลงแล้ว ยังทำให้มีสมบัติเป็นอิมมูโนเจน (immunogenicity)เพิ่มขึ้นด้วย ทำให้ได้แอนตินิวโรทอกซินและแอนติคาร์ดิโอทอกซินที่มีแอนติ-บอดีไตเตอร์ค่อนข้างสูง ถึงแม้ว่ามีความสามารถในการทำลายความเป็นพิษของพิษงูเห่าไม่สูงมากนัก แต่เป็นที่หวังว่าถ้าใช้แอนติทอกซินที่บริสุทธิ์ขึ้น น่าจะทำให้ความสามารถในการทำลายความเป็นพิษ(neutralization potency)สูงขึ้นอีกมาก