บทความการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์

สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

รหัส : 5003-1-000-004-05-2568

หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง : 2.5 หน่วยกิต

วันที่รับรองบทความ : 2 พฤษภาคม 2568

วันที่หมดอายุ : 2 พฤษภาคม 2569

เรื่อง

"Advancements in Antivenom Development and the Advantages-Disadvantages of Antivenom"
"ความก้าวหน้าของการพัฒนา Antivenom และข้อดี-ข้อเสียของ Antivenom"

ผู้เขียนบทความ
นศภ.พรชิตา สังข์สวัสดิ์, นศภ.ปิยวรรณ อินทะจันทร์ และภก.ปกรณ์ สุขโข

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. ผู้อ่านสามารถอธิบายความก้าวหน้าในการพัฒนาเซรุ่มแก้พิษงูและเทคโนโลยีชีวภาพที่เกี่ยวข้อง
2. ผู้อ่านทราบและสามารถเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของเซรุ่มแต่ละประเภท รวมถึงแนวทางใหม่ในการผลิตเซรุ่ม
3. ผู้อ่านทราบแนวทางในการพัฒนาเซรุ่มแก้พิษที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และสามารถเข้าถึงได้ง่ายในอนาคต

คำสำคัญ: Snake venom, Antivenom, Antibodies, Nanobodies, Recombinant antivenom and Traditional antivenom

บทคัดย่อ

พิษจากสัตว์มีพิษ เช่น งู แมงป่อง และแมงมุม ยังคงเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญในระดับโลก โดยเฉพาะในพื้นที่ชนบทของประเทศเขตร้อน ซึ่งประชาชนส่วนใหญ่มีข้อจำกัดในการเข้าถึงการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ปัจจุบันเซรุ่มต้านพิษ (Antivenom) แบบดั้งเดิมที่ผลิตจาก antibody ของสัตว์ เช่น ม้า หรือ แกะ ยังคงเป็นแนวทางการรักษาหลัก แต่เซรุ่มเหล่านี้มีข้อจำกัดทั้งด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และต้นทุน เช่น ความไม่จำเพาะกับพิษของสัตว์บางชนิด ความเสี่ยงในการเกิดอาการแพ้ และขั้นตอนการผลิตที่ยุ่งยากและมีต้นทุนสูง

ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีชีวภาพและชีววิทยาโมเลกุล จึงได้มีการพัฒนาแนวทางใหม่สำหรับการสร้างภูมิคุ้มกันและผลิตเซรุ่มต้านพิษแบบใหม่ (next-generation antivenoms) โดยไม่จำเป็นต้องใช้พิษสัตว์โดยตรง ซึ่งรวมถึงเทคโนโลยีสำคัญต่าง ๆ เช่น การใช้ antibody จากไข่ไก่ (IgY), เทคโนโลยี phage display, humanized antibodies, DNA immunization, small molecular therapeutics (SMTs) และ nanobodies หรือ antibody ชนิดพิเศษจากอูฐ ที่มีขนาดเล็กและมีความจำเพาะสูง ทั้งนี้ยังมีการพัฒนา pluribody technology ที่ใช้พืชในการผลิต antibody ซึ่งช่วยลดการพึ่งพาสัตว์และลดต้นทุนการผลิตได้อีกด้วย เทคโนโลยีเหล่านี้มีข้อดีในด้านความแม่นยำของการจับพิษ ความปลอดภัยที่สูงขึ้น ความสามารถในการปรับเปลี่ยนให้เข้ากับสายพันธุ์งูต่างๆ ได้ดีขึ้น และลดผลข้างเคียงจากการใช้ antibody จากสัตว์

อย่างไรก็ตาม การนำเทคโนโลยีเหล่านี้ไปใช้จริงในระดับอุตสาหกรรมยังต้องเผชิญกับความท้าทาย เช่น ความซับซ้อนของกระบวนการผลิต การคงตัวของ antibody บางประเภท และต้นทุนการพัฒนาในระยะเริ่มต้นที่ยังสูงอยู่ ในอนาคต การผสานแนวทางการสร้างภูมิคุ้มกันแบบใหม่เข้ากับสัตว์ดัดแปลงพันธุกรรมที่สามารถผลิต antibody ของมนุษย์อาจช่วยเพิ่มความปลอดภัยของเซรุ่มต้านพิษได้มากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังอาจช่วยให้สามารถให้ยาได้ตั้งแต่ระยะแรกของการถูกพิษ ซึ่งจะช่วยลดอัตราการเสียชีวิตและเพิ่มโอกาสในการฟื้นตัวของผู้ป่วยได้อย่างมีนัยสำคัญ

ความก้าวหน้าของการพัฒนา Antivenom และข้อดี-ข้อเสียของ Antivenom

Advancements in Antivenom Development and the Advantages-Disadvantages of Antivenom

นศภ.พรชิตา สังข์สวัสดิ์[1], นศภ.ปิยวรรณ อินทะจันทร์[1] และภก.ปกรณ์ สุขโข[2]

[1] นักศึกษาคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร,

[2] เภสัชกร สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. ผู้อ่านสามารถอธิบายความก้าวหน้าในการพัฒนาเซรุ่มแก้พิษงูและเทคโนโลยีชีวภาพที่เกี่ยวข้อง
2. ผู้อ่านทราบและสามารถเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของเซรุ่มแต่ละประเภท รวมถึงแนวทางใหม่ในการผลิตเซรุ่ม
3. ผู้อ่านทราบแนวทางในการพัฒนาเซรุ่มแก้พิษที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และสามารถเข้าถึงได้ง่ายในอนาคต

บทนำ

สัตว์มีพิษ เช่น งู แมงป่อง และแมงมุม เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขระดับโลก เนื่องจากสามารถทำให้เกิดภาวะพิษจากการถูกกัดหรือต่อยได้อย่างรุนแรง โดยมีรายงานผู้ป่วยประมาณ 1.8-2.7 ล้านรายต่อปี และทำให้มีผู้เสียชีวิต 81,000-138,000 ราย ส่วนพิษจากแมงป่องมีรายงานประมาณ 1.2 ล้านรายต่อปี และส่งผลให้มีผู้เสียชีวิตมากกว่า 3,250 ราย ขณะที่ข้อมูลทางระบาดวิทยาที่น่าเชื่อถือเกี่ยวกับพิษจากแมงมุมนั้นยังมีอยู่อย่างจำกัด

พิษงูมีความซับซ้อนสูง ประกอบด้วยโปรตีนพิษ 63 กลุ่ม ซึ่ง 4 กลุ่มที่มีความสำคัญทางคลินิก ได้แก่ 3-finger toxins (3FTxs), phospholipases A_2 (PLAs), snake venom metalloproteinases (SVMPs) และ snake venom serine proteinases (SVSPs) นอกจากนี้ โปรตีนกลุ่มอื่น เช่น cysteine-rich secretory proteins (CRISPs) และ L-amino acid oxidases (LAAOs) ก็มีบทบาทในการออกฤทธิ์เป็นพิษด้วย องค์ประกอบของพิษแตกต่างกันทั้งระหว่างสายพันธุ์และภายในสายพันธุ์เดียวกัน ทำให้การพัฒนาแนวทางรักษาเป็นเรื่องที่ท้าทาย พิษงูสามารถก่อให้เกิดผลทางพยาธิสภาพที่หลากหลาย เช่น พิษต่อระบบประสาท (neurotoxicity) ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเส้นประสาทและกล้ามเนื้อ พิษต่อระบบไหลเวียนโลหิต (hemotoxicity) ทำให้เกิดปัญหาการแข็งตัวของเลือด และพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) ซึ่งทำให้เกิดอาการบวม แผลพุพอง และเนื้อตายบริเวณที่ถูกกัด งูที่เป็นอันตรายร้ายแรงที่สุดมักมาจากวงศ์ Elapidae (เช่น งูเห่า งูแมมบา งูทะเล) และวงศ์ Viperidae (เช่น งูหางกระดิ่ง งูแมวเซา และงูเขี้ยวสั้น)

นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1894 เซรุ่มแก้พิษ (antivenom) ที่สกัดจากพลาสมาของสัตว์ได้รับการพัฒนาให้เป็นแนวทางรักษาหลักสำหรับภาวะพิษจากการถูกกัด กระบวนการผลิตเซรุ่มแก้พิษเริ่มจากการฉีดพิษเข้าไปในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดใหญ่ เช่น ม้า หรือแกะ เพื่อกระตุ้นให้สัตว์สร้าง antibody ชนิด IgG ซึ่งจะถูกสกัดและทำให้บริสุทธิ์ ในบางกรณี อาจมีการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ pepsin เพื่อให้ได้ F(ab') fragments ที่มี

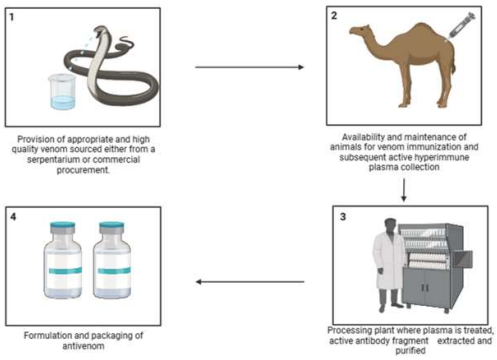
คุณสมบัติจำเพาะต่อพิษมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การเข้าถึงเซรุ่มแก้พิษยังคงเป็นปัญหาในหลายพื้นที่ เนื่องจากต้นทุนการผลิตที่สูง ความยุ่งยากในการสกัดพิษ และข้อจำกัดด้านการกระจายผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ เซรุ่มแก้พิษแบบดั้งเดิมยังมีส่วนผสมของ antibody ที่อาจไม่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านพิษของงูบางชนิด ทำให้ผลการรักษาอาจไม่เต็มที่

แม้ว่าปัจจุบัน เซรุ่มแก้พิษยังคงเป็นวิธีรักษาหลักสำหรับพิษงู ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีได้เปิดโอกาสให้มีการพัฒนาเซรุ่มแก้พิษรูปแบบใหม่ (next-generation antivenoms) โดยอาศัยแนวทาง เช่น เทคโนโลยี phage display, humanized antibody, การสร้างภูมิคุ้มกันด้วย DNA, SMTs และ nanobodies นอกจากนี้ในอนาคต การผลิตเซรุ่มแก้พิษอาจไม่จำเป็นต้องใช้พิษจากสัตว์โดยตรง แต่จะอาศัยความเข้าใจเกี่ยวกับองค์ประกอบและกลไกการออกฤทธิ์ของพิษในงูแต่ละชนิดแทน ซึ่งจะช่วยให้สามารถพัฒนาเซรุ่มแก้พิษที่มีความจำเพาะและมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ทำให้การรักษามีความปลอดภัยและเข้าถึงได้ง่ายขึ้นในอนาคต

ประเภทของ Antivenom ในปัจจุบัน

1. Traditional antivenom

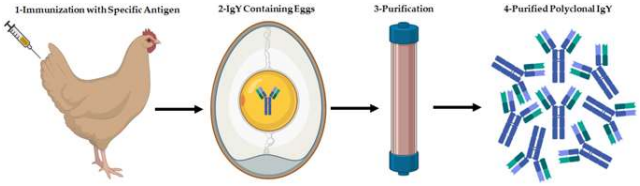
การทดลองการใช้เซรุ่มในการแก้พิษงูครั้งแรกพบว่า นกพิราบที่มีการสร้างภูมิคุ้มกันสามารถทนต่อพิษงูหางกระดิ่งที่ผสมกับ Glycerin ได้ถึง 6 doses ซึ่งทำให้เป็นหลักฐานแรกของการบำบัดด้วยเซรุ่มในการจัดการกับการถูกงูกัด และในปีค.ศ. 1894 ได้พิสูจน์การต้านพิษของเลือดสัตว์ที่ได้รับการสร้างภูมิคุ้มกันด้วยพิษจากงู Viperidae ซึ่งเซรุ่มแก้พิษแบบดั้งเดิม หมายถึง สารที่มีความเข้มข้นของ Immunoglobulin ซึ่งสกัดจาก plasma ของสัตว์ที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างสูงจากพิษของงูจำเพาะชนิด และในปัจจุบันมีการผลิต 3 รูปแบบโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ papain หรือ pepsin ได้แก่ Immunoglobulin G (IgG) (150 kDa), F(ab')2 fragments (100 kDa) และ Fab fragments (50 kDa) รูปแบบต่าง ๆ ของ antibody เหล่านี้มีขนาดและโครงสร้างที่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อความสามารถในการทำลายพิษและลักษณะทางเภสัชจลศาสตร์ในร่างกาย



2. Alternative approach to using immunoglobulin G antibody

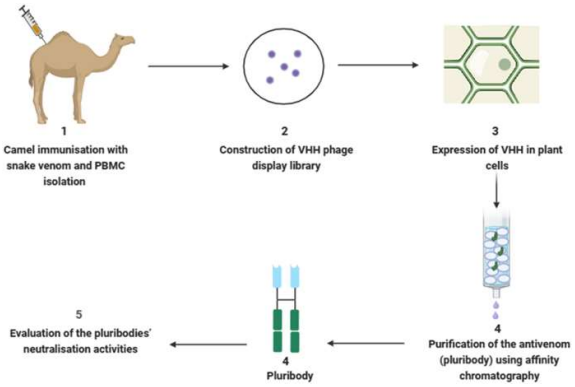
การปรับปรุงการบำบัดด้วยเซรุ่มปัจจุบันจึงมีความสำคัญต่อการลด SBE ทั่วโลก โดยการใช้สัตว์เป็น host ในการผลิต เช่น ไก่และนกกระจอกเทศสำหรับการผลิตเซรุ่ม IgY (Immunoglobulin Y) ซึ่งเป็น antibody ในกลุ่มเดียวกับ IgG (Immunoglobulin G) ที่พบในสัตว์ปีก โดยเฉพาะในไข่ไก่ การผลิต IgY-based antivenom จะเริ่มต้นด้วยการฉีดพิษจากสัตว์ที่มีพิษ เช่น งู เข้าไปในสัตว์ปีก ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์

จะตอบสนองด้วยการสร้าง antibody ซึ่งจะถูกเก็บจากไข่ไก่ที่ถูกผลิตขึ้นมา antibody เหล่านี้สามารถใช้ในการต่อต้านพิษจากสัตว์ที่มีพิษได้ ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่รุกรานและมีต้นทุนต่ำ ไม่กระตุ้นระบบ complement ซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยได้รับขนาดยามากขึ้น



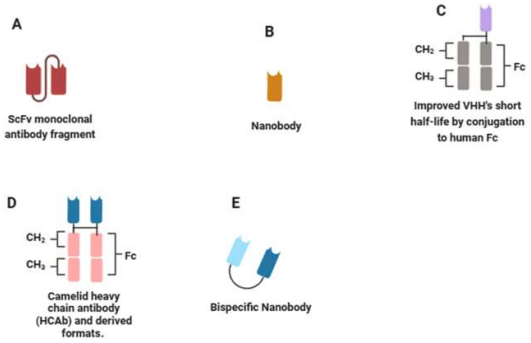
3. Pluribody technology

Pluribody technology คือ เทคโนโลยีที่ใช้พืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมในการผลิต antibody ชนิดต่าง ๆ ที่เรียกว่า pluribodies ซึ่งเลียนแบบ antibody ที่พบในอูฐที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (hyperimmunized camels) โดยมีการใช้กลไกทางธรรมชาติของพืชในการป้องกันไวรัสที่มีลักษณะของการยับยั้งการติดเชื้อซ้ำ (virus superinfection exclusion) ส่งผลให้พืชสามารถผลิต antibody ในรูปแบบที่หลากหลายและสม่ำเสมอในใบพืช การผลิต recombinant antibody ผ่านกระบวนการนี้ ใช้ข้อมูลพันธุกรรมจากเซลล์ภูมิคุ้มกันในอูฐสามารถเลียนแบบคุณสมบัติการจับพิษของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้อย่างแม่นยำ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้คล้ายกับการจับพิษที่พบใน antibody จากม้า



4. Humanized antibody technology

Humanized Antibody Technology เป็นกระบวนการปรับเปลี่ยน Antibody ที่ไม่ใช่มนุษย์ให้เข้ากันได้กับระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ ในขณะที่ยังคงความสามารถในการจับกับพิษของงู วิธีหลักที่ใช้คือ CDR

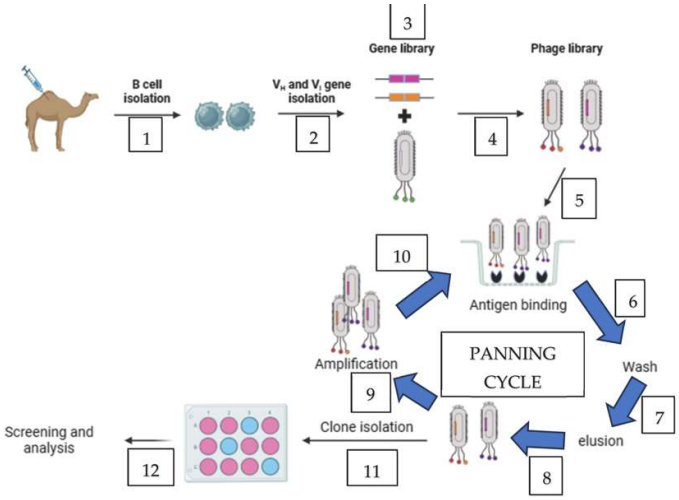


grafting ซึ่งเป็นการย้ายบริเวณที่จับ antigen (CDRs) จาก antibody ของสัตว์ไปยังโครงสร้าง antibody ของมนุษย์ และ framework engineering ซึ่งช่วยเพิ่มเสถียรภาพของโครงสร้าง antibody วิธีดั้งเดิมที่ใช้เซรั่มจากสัตว์มีข้อจำกัด เนื่องจากมีสิ่งเจือปนและ antibody ที่มาจากแหล่งที่ไม่ใช่มนุษย์ อาจกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันในผู้ป่วย จึงทำให้มีความสนใจเพิ่มขึ้นในการใช้ Human Monoclonal Antibodies (mAbs) นอกจากนี้ เทคโนโลยี phage display ยังสามารถใช้ตรวจหาคลัง antibody ของมนุษย์เพื่อหา antibody ที่มีความสามารถในการจับกับเป้าหมายได้สูงอีกด้วย

5. Phage display technology

เทคโนโลยี Phage display เป็นวิธีที่มีศักยภาพในการวิจัย antibody สำหรับยารักษาพิษ โดยไม่จำเป็นต้องใช้กระบวนการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการคัดกรองที่ซับซ้อน ซึ่งสามารถใช้แก้ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับพิษที่มีความรุนแรงสูงและภูมิคุ้มกันต่ำของโปรตีนเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทคโนโลยีนี้ใช้ประโยชน์จากการเชื่อมโยงระหว่าง genotype ของ antibody และ phenotype การเชื่อมโยงนี้เกิดขึ้นจากการแทรกยีน antibody โดยเฉพาะ single-chain variable fragments (scFvs) หรือ single-domain antibody fragments (VHHs หรือ Nanobodies) เข้าไปใน DNA ของ bacteriophages (phage) ที่ได้รับการดัดแปลง ซึ่ง bacteriophages เหล่านี้จะแสดงลำดับเปปไทด์ของ antibody บนผิวภายนอก ทำให้สามารถศึกษาและวิเคราะห์ antibody ของ phage ได้

กระบวนการคัดเลือกใน phage display จะเริ่มจากการสร้าง peptide ที่เชื่อมโยงกับโปรตีนเคลือบของ phage เมื่อทำการเลือกในหลอดทดลอง (in vitro selection) จะมีการติดเป้าหมายบนพื้นผิว และ phage ที่มีความสัมพันธ์กับเป้าหมายจะจับตัวกับมันได้ และสกัด phage ออกมา ขยายจำนวน และทำการเลือกซ้ำหลายรอบ จากนั้นจะมีการแยกและระบุ phage เหล่านี้ เพื่อทำการทดสอบการทำงานของโปรตีนหรือ peptide ที่ได้ และใช้วิธีการ deselection ในการขจัดการจับคู่ที่ไม่ต้องการออก เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการคัดเลือก ซึ่ง phage ที่ใช้ในการทำ phage display ชนิดต่าง ๆ เช่น T4, lambda, และ M13 โดยแต่ละแบบจะมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน และในช่วงหลายปีที่ผ่านมา phage M13 ได้รับการใช้งานอย่างกว้างขวางและเป็น phage ชนิดเดียวที่ได้รับการศึกษามากที่สุดในด้านพิษวิทยา



6. DNA immunization approach

DNA Immunization เป็นกลยุทธ์เชิงนวัตกรรมในการพัฒนาภูมิคุ้มกันต้านพิษ (Antivenom) วิธีนี้ประกอบด้วยการฉีดพิษงูในระยะเวลาสั้นหรือระยะเวลานาน เข้าไปในสัตว์โดยอ้างอิงตามลำดับกรดอะมิโน หรือใช้ plasmid ที่มียีนของพิษดังกล่าวเข้าสู่เซลล์สัตว์ผ่านเครื่อง Gene Gun วิธีเหล่านี้ช่วยกระตุ้น การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อพิษและกระตุ้นให้ B lymphocytes สร้าง antibody ออกมา การศึกษาทดลองเกี่ยวกับ cDNA ที่มียีนของพิษงู พบว่ามีผลลัพธ์ที่น่าพึงพอใจ นอกจากนี้ การสังเคราะห์ DNA ยังเป็นตัวเลือกที่มีต้นทุนต่ำกว่าการใช้ peptide หรือ Recombinant proteins ในการพัฒนาภูมิคุ้มกันต้านพิษ โดยมีการใช้ระบบวิเคราะห์เชิงคอมพิวเตอร์ทำนาย significant epitopes สำหรับผลิต antibody ต้านพิษ ทำให้สามารถคัดเลือก epitopes ที่สำคัญที่สุดและนำมาใช้ใน DNA construct เพื่อการสร้างภูมิคุ้มกัน

7. Small molecular therapeutics (SMTs)

Small Molecular Therapeutics (SMTs) ถูกออกแบบมาเพื่อจับกับเอนไซม์พิษงูแบบจำเพาะ ซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถใช้เป็นวิธีรักษาหลักได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ SMTs มีศักยภาพในการเป็นตัวเสริมการรักษา (adjunctive treatment) เป็นตัวเสริมฤทธิ์ของ hybrid antivenoms หรือใช้ช่วยเหลือเบื้องต้นในสถานพยาบาล พิษงูโดยเฉพาะจากงูตระกูล Viperidae มีองค์ประกอบของเอนไซม์ที่มีบริเวณออกฤทธิ์เฉพาะซึ่งมักต้องอาศัยกรดอะมิโนจำนวนเล็กน้อยในการทำงาน สารยับยั้ง SMTs อาศัยหลักการเลียนแบบพิษในธรรมชาติ หรือกำจัด co-factor ที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยมีการศึกษาพบว่า สารสังเคราะห์บางชนิดสามารถยับยั้งพิษงู ได้ โดยเฉพาะ snake venom metalloproteinases (SVMPs) และ phospholipase A2 (PLA2) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในพิษงู สารยับยั้งพิษงู เช่น chelating agents และ hydroxamate peptidomimetics สามารถลดความเป็นพิษของเอนไซม์เหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตัวอย่างเช่น Varespladib ได้แสดงผลว่าสามารถยับยั้งการทำงานของ PLA2 ในพิษงูได้

8. Single-domain antibodies (nanobodies) technology

Nanobodies (Nb) หรือที่เรียกกันว่า single-domain antibodies (sdAb) หรือ camelid antibodies เป็นโมเลกุล antibody ชนิดพิเศษที่ได้จากสัตว์ตระกูลอูฐ เช่น อูฐและอัลปากา antibodies ชนิดนี้ถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1993 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเบลเยียม ซึ่งพบว่า serum ของอูฐมี antibodies ที่ประกอบด้วย heavy-chain-only antibodies (HCAbs) โดย HCAbs มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 95 kDa จากโครงสร้างของ HCAbs บริเวณ constant region ของโมเลกุลมีส่วนของ crystallizable fragment (Fc) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ disulfide ประกอบด้วย hinge region และ domain CH2 , CH3 ในรูปแบบ dimer นอกจากนี้ HCAbs ยังมี 2 variable regions (VHH, หรือ VH domain ของ HCAb) ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของ Nanobodies

Nanobodies เป็น antibody ขนาดเล็กที่ได้จากบริเวณ VHH นี้ ทำให้เป็น antibody ที่มีโครงสร้างแตกต่างจาก single-chain variable fragments (scFv) โดย Nanobodies มีเพียง VHH domain เดียว และไม่มี light chain โครงสร้างที่เรียบง่ายนี้ช่วยลดความจำเป็นในการใช้ linker peptides เพื่อเชื่อม heavy

chainและ light chain เข้าด้วยกัน ด้วยน้ำหนักโมเลกุลเพียง 15 kDa Nanobodies จึงมีคุณสมบัติที่โดดเด่นในการพัฒนาเพื่อการรักษาและการตรวจวินิจฉัยต่างๆ

การศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพของ Antivenom

1. Traditional antivenom

การศึกษาการทดลองแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุมและการศึกษาติดตามผล เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ antivenom ในการป้องกันภาวะกล้ามเนื้อสลาย (myotoxicity) ในผู้ป่วยที่ถูกงู Red-bellied Black Snake (*Pseudechis porphyriacus*) กัด โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ antivenom ภายใน 6 ชั่วโมงหลังถูกกัดและกลุ่มควบคุม พบว่า antivenom สามารถลดความเสี่ยงของภาวะกล้ามเนื้อสลายได้อย่างมีนัยสำคัญ (อัตราผู้ป่วยที่มีค่าเอนไซม์ creatinine kinase สูงลดลงจาก 38% เป็น 17%) อย่างไรก็ตาม พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับ antivenom มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาภูมิไวเกินสูงถึง 36% และ 17% มีอาการแพ้อย่างรุนแรง (anaphylaxis) ทำให้แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการลดภาวะกล้ามเนื้อสลาย แต่ก็มีความเสี่ยงจากอาการไม่พึงประสงค์ที่ต้องพิจารณาในการใช้ antivenom ในการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากงูชนิดนี้

2. Alternative approach to using immunoglobulin G antibody

การศึกษาการผลิตและคุณสมบัติของ Antibody IgY จากไข่ไก่ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพิษงู โดยพบว่า IgY มีความเข้มข้นเฉลี่ย 79 mg/ไข่แดง ณ วันที่ 180 ของการให้ภูมิคุ้มกัน และในการทดสอบ ELISA พบว่า IgY สามารถจับกับ Antigen ของพิษงูได้อย่างจำเพาะ การทดสอบทางเภสัชวิทยาโดยใช้หนูเป็นสัตว์ทดลอง ระบุว่าพิษงูเห่ามีค่า LD50 ที่ 10 mg และพิษงูสามเหลี่ยมมีค่า LD50 ที่ 3 mg สำหรับหนูที่มีน้ำหนัก 18 g ในขณะที่ IgY สามารถต้านพิษได้ด้วยค่า ED50 ที่ 4.48 mg สำหรับงูเห่า และ 3.18 mg สำหรับงูสามเหลี่ยม อีกทั้งยังสามารถยับยั้งฤทธิ์การทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงและอาการบวมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า IgY อาจเป็นแนวทางใหม่ในการพัฒนาเซรุ่มต้านพิษงูที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ทางคลินิกในอนาคต

3. Pluribody technology

การพัฒนาเซรุ่มแก้พิษงูที่ได้จากพืช (plantivenom) โดยใช้ Pluribody technology ซึ่งใช้ B-Cell ที่ได้จาก PBMC ของมนุษย์ และผ่านการคัดเลือกแบบ in vitro ด้วยเทคนิค phage display เพื่อเพิ่มความจำเพาะต่อพิษงู *Bothrops asper* จากนั้นนำ antibody ที่ได้รับคัดเลือกไปใส่ใน *Nicotiana benthamiana* ทำให้ได้ enriched oligoclonal formulation (PEO_1) โดยผลการทดสอบ ELISA พบว่า PEO_1 มีความสามารถในการจับกับพิษงูเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ pluribody ที่ไม่ได้ผ่านการเพิ่มความเข้มข้น นอกจากนี้ PEO_1 สามารถจับกับ phospholipase (PLA_2), serine proteinases (SP), snake venom metalloproteinases (SVMP) และ L-amino acid oxidase (LAO) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่มีความสามารถจำกัดในการจับกับ disintegrins และพบว่า PEO_1 สามารถยับยั้งพิษที่ทำให้เกิดภาวะเลือดออก, PLA_2, proteinases และพิษที่ทำให้เสียชีวิตได้ โดยมีค่าขนาดยาที่ทำให้เกิดผลการรักษา 50% ของประชากรที่ได้รับยา (ED_{50}) เท่ากับ 43 mg plantivenom/mg venom (95% CI: 33–56 mg/mg) อย่างไรก็

ตาม PEO_1 ไม่สามารถยับยั้งการแข็งตัวของเลือดที่เกิดจากพิษงูใน in vitro ได้ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับเซรุ่มแก้พิษงูจากม้า ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าเซรุ่มแก้พิษงูที่ได้จากพืชอาจเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพในการรักษาพิษงู โดยอาจมีความเสี่ยงต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันน้อยกว่าวิธีดั้งเดิม

4. Humanized antibody technology

การศึกษาการทำ humanized antibody ช่วยลดความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายอย่างมีนัยสำคัญ โดย chimeric antibodies ซึ่งมีส่วน constant region ของมนุษย์แต่ยังคงมีส่วน variable region จากหนูสามารถกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายได้สูงถึง 40% ขณะที่ humanized antibodies ซึ่งมีทั้งส่วน constant region และ framework ของมนุษย์มีอัตราการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันลดลงเหลือเพียง 9% เท่านั้น แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยน framework ของ V region humanized antibodies สามารถลดการตอบสนองของ CD4+ T cells ได้อย่างชัดเจน

จากการทดลองที่ทำในอาสาสมัคร 87 คนสำหรับ peptide จาก Cetuximab และ 106 คนสำหรับ peptide จาก humanized antibody พบว่าการตอบสนองของ T cell CD4+ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ humanized antibody โดย peptide ที่มาจาก Cetuximab ที่สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ CD4+ T cells ได้สูงมีค่าเฉลี่ย Stimulation Index มากกว่า 1.5 ขณะที่ peptide จาก humanized antibody มีอัตราการตอบสนองที่ลดลงอย่างชัดเจน ทั้งนี้ จาก peptide ที่ถูกทดสอบทั้งหมด 364 peptide มีเพียง 2.5% (9 peptide) เท่านั้นที่ให้การตอบสนองที่มีนัยสำคัญ (Stimulation Index > 1.5) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า framework ของ V region ที่มาจากหนูเป็นปัจจัยหลักที่กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

5. Phage display

การศึกษาการยับยั้งพิษของ Myotoxin II ในร่างกายโดยใช้ peptide ที่ค้นพบผ่านเทคโนโลยี Phage Display โดยนักวิจัยคัดแยก phage เดี่ยว และทดสอบการจับกับ Myotoxin II และโปรตีนควบคุมโดยใช้ ELISA สำหรับ phage ที่มีการจับจำเพาะ จะถูกแยก ssDNA ออกมาและนำไปหาลำดับพันธุกรรม พร้อมวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพก่อนคัดเลือก เพื่อศึกษาต่อไป โดยการทดลองใน Myogenic C2C12 Cell ทดสอบ peptide 6 ชนิด (JB001–JB006) ที่ถูกค้นพบผ่านเทคโนโลยี phage display เพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งความเป็นพิษของ Myotoxin II พบว่า peptide JB006 แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งสูงสุด โดยสามารถยับยั้งความเป็นพิษได้เกือบทั้งหมดที่ความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 56 μM และการทดลองในหนูแสดงให้เห็นว่า JB006 สามารถลดความเป็นพิษของ Myotoxin II ได้ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดยา โดยที่ความเข้มข้น 900 μM สามารถป้องกันการปล่อยเอนไซม์ creatine kinase (CK) ที่เกิดจากความเสียหายของกล้ามเนื้อได้อย่างสมบูรณ์

6. DNA immunization approach

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดเลือดออกจากพิษงูของ antibody ที่ได้จาก DNA immunization โดยทำการทดลองในสัตว์แบบ preclinical โดยใช้วิธีการวัดขนาดรอยเลือดออกที่เกิดจาก minimum hemorrhagic dose assay โดยผู้ปฏิบัติที่ไม่ทราบข้อมูลตัวอย่าง (blinded operator) เป็นผู้

วัดผล โดยนำ antibody เหล่านี้ไปเปรียบเทียบกับ serum ที่ได้จาก whole venom โดยใช้กระต่ายสร้างภูมิต่อพิษของงู Echis ocellatus พบว่า antiserum ที่สร้างจาก EOC00024 MP domain ไม่สามารถยับยั้งเลือดออกที่เกิดจากพิษของงู E. ocellatus ได้ และ antiserum จาก EOC00024 DC and MPDC antisera ให้การป้องกันที่จำกัดและไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในการยับยั้งการเกิดเลือดออกจากพิษของงูชนิดนี้ ในทางตรงกันข้าม antiserum ที่สร้างจากสายโปรตีน EoSVMP (SVMP string) สามารถลดขนาดรอยเลือดออกได้ถึง 75% ($p = 0.04$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับ DNA vector placebo (pVaxSec) ซึ่งผลการทดสอบดีกว่า serum จากกระต่ายที่ได้รับการกระตุ้นภูมิด้วยพิษงู E. ocellatus แบบเต็ม ซึ่งลดได้เพียง 60% ($p = 0.08$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับ PBS โดยผล Bioinformatics analysis ได้รับการยืนยันทางการทดลอง โดย antiserum ดังกล่าวสามารถลดความรุนแรงของการเกิดเลือดออกในหนูทดลองจากพิษของ C. cerastes ได้ถึง 43% เมื่อเปรียบเทียบกับ serum จากกระต่ายที่กระตุ้นด้วยพิษงู E. ocellatus ซึ่งลดได้เพียง 34% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับ vehicle แต่ผลยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

7. Small molecular therapeutics (SMTs)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งผลต่อระบบประสาทที่เกิดจากพิษงูของ Varespladib (LY315920) และ Methyl Varespladib (LY333013) โดยกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับพิษงู O. scutellatus ในปริมาณ 3 เท่าของค่า LD50 (lethal dose 50%) เสียชีวิตภายใน 6 ชั่วโมง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับพิษในปริมาณ 12 เท่าของค่า LD50 เสียชีวิตภายใน 3 ชั่วโมง กลุ่มหนูที่ได้รับพิษขนาด 3 เท่า LD50 และได้รับยา LY315920 ทางหลอดเลือดดำ หรือ LY333013 ทางปาก ภายหลังการได้รับพิษในช่วงเวลา (a) ทันที (b) 30 นาที (c) 60 นาที (d) 90 นาที หรือ (e) ทันทีและซ้ำอีกครั้งที่ 240 นาที หลังจากได้รับพิษ พบว่าหนูทุกตัวรอดชีวิตตลอดช่วงสังเกตการณ์ 24 ชั่วโมง เมื่อกลุ่มหนูได้รับพิษขนาด 12 เท่า LD50 หนูที่ได้รับยาทันที, ที่เวลา 30 นาที, 60 นาที หรือทันทีและซ้ำอีกที่ 240 นาที ก็รอดชีวิตได้ตลอด 24 ชั่วโมง ยกเว้นหนึ่งตัวที่ได้รับ LY315920 ที่เวลา 60 นาที

การให้ตัวยาล่าช้าไป 90 นาที หนูสามารถรอดได้ถึง 3 และ 6 ชั่วโมงแรก แต่เสียชีวิตภายใน 24 ชั่วโมง เนื่องจากตัวยาสามารถป้องกันพิษจาก O. scutellatus ได้เต็มที่ในช่วง 24 ชั่วโมง จึงได้มีการประมาณค่า ID50 (inhibitory dose 50%) ของ LY315920 ให้ทางหลอดเลือดดำ โดยให้ตัวยาทันทีหลังจากฉีดพิษ 12 เท่า LD50 เข้าใต้ผิวหนัง โดยค่า ID50 ที่ได้คือ 5.94 mg/kg (95% confidence limits: 4.36–9.46 mg/kg) และพบว่าหนูทุกตัวรอดชีวิตตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับยาขนาด 10 mg/kg ทั้งนี้ โครงสร้างพิษงูแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน ส่งผลให้ความสามารถในการจับของยาและพิษงูต่างกัน จึงทำให้ฤทธิ์การยับยั้งของยาแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของงู

8. Single-domain antibodies (nanobodies) technology

การศึกษาทดสอบประสิทธิภาพของ nanobodies antibody ในการต้านพิษจากงูเห่าจีน (Naja atra) โดยใช้หนูทดลอง เพื่อประเมินความสามารถในการป้องกันการเสียชีวิตจากพิษงู เริ่มจากการหาค่าปริมาณพิษที่ทำให้หนูตายทั้งหมด (LD100) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับพิษขนาด 10 µg มีอัตรารอดชีวิตสูงถึง 89% โดยตายเพียงตัวเดียวภายใน 3 ชั่วโมง และไม่มีอาการผิดปกติ ส่วนกลุ่มที่ได้รับพิษขนาด 20, 30 และ 40 µg หนูทุกตัวตายภายใน 3 ชั่วโมง จึงสรุปว่า LD100 คือ 20 µg และใช้ค่านี้ในการทดลองต่อไป

โดยการทดสอบการต้านพิษแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การใช้ polyclonal antibody, monoclonal nanobodies และการใช้ monoclonal nanobodies หลายชนิดร่วมกัน สำหรับกลุ่ม polyclonal พบว่า IgG ที่ได้จากการฉีดกระตุ้นครั้งที่ 7 ให้ผลการป้องกันที่ดี มีอัตรารอดชีวิต 78% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ IgG ก่อนฉีดกระตุ้นและกลุ่มควบคุมที่ได้รับ PBS อย่างมีนัยสำคัญ แต่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับเซรุ่มต้านพิษ ซึ่งมีอัตรารอดชีวิต 100% ในการทดลองด้วย monoclonal nanobodies พบว่า antibody แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านพิษแตกต่างกัน โดย aNAH1 มีอัตรารอดชีวิตเพียง 11%, aNAH6 และ aNAH7 มีอัตรารอดชีวิต 22% ในขณะที่ aNAH6 มีผลดีที่สุด ด้วยอัตรารอดชีวิตถึง 67% ส่วน nanobody ที่ไม่เกี่ยวข้องกับพิษไม่สามารถป้องกันได้เลย และในการทดลองแบบผสมโดยใช้ nanobodies 4 ชนิดในปริมาณเท่ากัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับปริมาณรวม 4 mg มีอัตรารอดชีวิต 44% ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับเพียง 1 mg ไม่มีหนูรอดชีวิต แต่มีการยืดระยะเวลารอดชีวิตออกไปอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าการใช้ nanobodies ร่วมกันอาจเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านพิษได้ แต่อาจต้องปรับขนาดและวิธีการใช้ให้เหมาะสมยิ่งขึ้น

ข้อดีและข้อเสียของ Antivenom แต่ละประเภท

1. Traditional antivenom

- ข้อดี

เซรุ่มต้านพิษงูแบบดั้งเดิม (Traditional Antivenom) ถือเป็นวิธีการรักษาหลักที่ใช้กันมาอย่างยาวนานในการดูแลผู้ป่วยที่ถูกงูพิษกัด มีประสิทธิภาพที่ได้รับการพิสูจน์แล้ว เซรุ่มต้านพิษงูแบบดั้งเดิมได้รับการพัฒนาและใช้อย่างต่อเนื่องมานานกว่าร้อยปี ซึ่งจากประสบการณ์ทางคลินิกทั่วโลกแสดงให้เห็นว่าเซรุ่มชนิดนี้สามารถช่วยชีวิตผู้ป่วยได้จริง และมีความน่าเชื่อถือในทางการแพทย์ มีความสามารถในการต่อต้านพิษจากงูหลายชนิด โดยเฉพาะในกรณีของเซรุ่มแบบ polyvalent ที่ผลิตจากพิษของงูหลายสายพันธุ์ จึงสามารถใช้รักษาผู้ป่วยที่ไม่สามารถระบุชนิดของงูที่กัดได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้ เซรุ่มแบบดั้งเดิมยังสามารถผลิตได้ในปริมาณมากและมีต้นทุนที่เหมาะสม จึงยังคงเป็นแนวทางการรักษาที่มีความสำคัญและจำเป็น โดยเฉพาะในบริบทของประเทศกำลังพัฒนาที่ต้องการแนวทางการรักษาที่เชื่อถือได้ เข้าถึงได้ง่าย และคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

- ข้อเสีย

Traditional antivenom (Immunoglobulin G) มีข้อจำกัดในการรักษาความเสียหายของเนื้อเยื่อเฉพาะที่ เนื่องจากโมเลกุลมีขนาดใหญ่ ทำให้การแทรกซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อบริเวณที่ได้รับผลกระทบทำได้ไม่ดีนัก ส่งผลให้ผู้ป่วยบางรายอาจเกิดความบกพร่องในการเคลื่อนไหวที่ยาวนาน ในขณะเดียวกัน เซรุ่มต้านพิษงูในปัจจุบันยังไม่สามารถมุ่งเป้าเฉพาะพิษที่เป็นอันตรายได้ ส่งผลให้ต้องใช้ในปริมาณมากและเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ เช่น ภาวะแพ้รุนแรงหรือ serum sickness ซึ่งอัตราการเกิดผลข้างเคียงจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเซรุ่ม โดยพบว่าเซรุ่มรุ่นเก่ามีแนวโน้มก่อผลข้างเคียงมากกว่าเซรุ่มรุ่นใหม่ที่ใช้ $F(ab')_2$ หรือ Fab fragments ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่า

2. Alternative approach to using immunoglobulin G antibody

- ข้อดี

การผลิต IgY จากไข่ไก่เป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการพัฒนา Antibody สำหรับการรักษาหรือการพัฒนาวัคซีนต่าง ๆ เพราะเป็นวิธีที่ไม่รุกราน (Non-invasive) เนื่องจาก IgY สามารถเก็บจากไข่ไก่ได้โดยไม่จำเป็นต้องทำการเจาะเลือดหรือฆ่าสัตว์ อีกทั้งการเก็บ Antibody จากไข่ยังสามารถทำได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเครียดหรือบาดเจ็บแก่สัตว์ มีต้นทุนที่ต่ำและมีประสิทธิภาพ เพราะไก่สามารถผลิต IgY ได้จำนวนมากจากไข่ที่วางทุกครั้ง ซึ่งทำให้สามารถผลิต Antibody ในปริมาณมากได้ในราคาที่ต่ำกว่าการใช้สัตว์อื่น ๆ เช่น ม้า ซึ่งมีต้นทุนสูงในการดูแลและรักษา อีกทั้งมีความปลอดภัยจากผลข้างเคียง เนื่องจาก IgY จากไก่ไม่กระตุ้นระบบ complement ในร่างกายมนุษย์ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้หรือผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจาก Antibody ชนิดอื่น ๆ เช่น IgG ที่ได้จากม้า

- ข้อเสีย

IgY มีข้อจำกัดด้านความคงตัวเมื่อใช้ในร่างกายมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อให้ทางหลอดเลือดดำ เนื่องจาก IgY ไวต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์ในระบบไหลเวียนโลหิต และมีอายุการใช้งานในร่างกายที่สั้นกว่า antibody ชนิดอื่น เช่น IgG หรือ $F(ab')_2$ ทำให้ประสิทธิภาพในการต่อต้านพิษอาจลดลง นอกจากนี้ แม้ IgY จะมีความเป็นพิษต่ำและไม่กระตุ้นระบบ complement แต่ในบางกรณีหากใช้ซ้ำหลายครั้ง อาจกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน หรือในกรณีที่สารสกัดไม่บริสุทธิ์เพียงพอ ซึ่งอาจมีโปรตีนอื่นเจือปนและก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยได้

3. Pluribody technology

- ข้อดี

Pluribody technology มีความสามารถในการผลิต polyclonal antibodies ที่เลียนแบบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของอูฐได้อย่างแม่นยำ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านพิษงูที่ซับซ้อน นอกจากนี้ยังใช้พืชเป็นระบบการผลิต ซึ่งมีความปลอดภัย ต้นทุนต่ำ ขยายการผลิตได้ง่าย และลดการพึ่งพาสัตว์ ทำให้เป็นทางเลือกใหม่ที่ยั่งยืนในการผลิตเซรุ่มต้านพิษ โดยสามารถนำเทคโนโลยีชีววิทยาสังเคราะห์มาช่วยออกแบบและควบคุมกระบวนการผลิตให้แม่นยำยิ่งขึ้น

- ข้อเสีย

Pluribody technology ให้ผลผลิต antibody จากพืชที่ต่ำ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการผลิตระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ การเติมหมู่ glycosylation ของพืชมีความแตกต่างจากมนุษย์ อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของ antibody อีกทั้งความซับซ้อนของการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชมี cellulose และ lignin ทำให้กระบวนการซับซ้อนขึ้น และยังมีข้อจำกัดในการต้านพิษที่ซับซ้อน รวมถึงความท้าทายในการควบคุมกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้คุณภาพและปริมาณที่เหมาะสม

4. Humanized antibody technology

- ข้อดี

Humanized Antibody Technology ได้รับความสนใจในการพัฒนารักษาพิษจากสัตว์และโรคต่าง ๆ เนื่องจากมีความปลอดภัยในการรักษา การใช้ Humanized Antibody ช่วยลดความเสี่ยงจากปฏิกิริยาภูมิแพ้ที่อาจเกิดขึ้นจาก antibody ที่มาจากสัตว์ เนื่องจาก Humanized Antibody มีความเข้ากันได้ดีกับระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ และช่วยลดการกระตุ้นระบบ complement และไม่ทำปฏิกิริยากับ antibody จากสัตว์ เช่น HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies) ซึ่งเป็นสาเหตุของปฏิกิริยาภูมิแพ้ในผู้ป่วย ทำให้การรักษามีความปลอดภัยมากขึ้น อีกทั้ง Humanized Antibody สามารถกระจายไปทั่วเนื้อเยื่อในร่างกายได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ทำให้สามารถเข้าถึงและรักษาผู้ป่วยจากพิษหรือโรคต่าง ๆ ได้ดีขึ้น

- ข้อเสีย

แม้ว่า Humanized antibody technology จะมีข้อดีหลายประการ แต่ก็ยังมีข้อที่ต้องพิจารณาในการใช้งานและการพัฒนา เนื่องจากต้องมีค่าใช้จ่ายที่สูงในการพัฒนาโดยเฉพาะในขั้นตอนการวิจัย การทดลองและการปรับแต่ง antibody ให้มีคุณสมบัติที่ต้องการ นอกจากนี้ ความซับซ้อนในกระบวนการผลิตก็เป็นข้อที่ต้องพิจารณา เนื่องจากต้องใช้เทคโนโลยีที่ซับซ้อนและต้องการการควบคุมอย่างเข้มงวดในกระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์ เพื่อให้ได้ antibody ที่มีคุณภาพสูง

5. Phage display technology

- ข้อดี

Phage Display technology ใช้ในการค้นคว้าวิจัยและพัฒนา antibody หรือ peptide ซึ่งช่วยให้กระบวนการต่าง ๆ ง่ายขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยไม่ต้องใช้การสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์ ทำให้ลดเวลาและทรัพยากรในการทดลองได้อย่างมาก นอกจากนี้ Phage Display ยังสามารถคัดเลือก antibody ที่มี selectivity และ affinity ต่อ antigen ที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพผ่านการคัดเลือกแบบ panning ทำให้ได้ antibody ที่มีความแม่นยำสูง อีกทั้งยังสามารถสร้าง antibody libraries และ peptide libraries ที่หลากหลาย ซึ่งเพิ่มโอกาสในการค้นพบ antibody ที่ตรงกับเป้าหมายที่ต้องการได้ดี โดยทำการคัดเลือกแบบ in vitro ทำให้ไม่ต้องใช้สัตว์ทดลองหรือเซลล์มนุษย์ในการผลิต antibody จึงเป็นเครื่องมือที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนา antibody และการวิจัยทางชีววิทยาในหลากหลายด้าน

- ข้อเสีย

Phage display technology ใช้เวลานานและยุ่งยาก และมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจับคู่ของ VH และ VL chain อาจไม่ตรงกับการจับคู่ในร่างกายจริง ซึ่งอาจส่งผลต่อความแม่นยำของ antibody ที่ได้ นอกจากนี้ library phage อาจไม่สามารถแสดง antibody ทั้งหมดได้ เนื่องจาก phage บางตัวอาจไม่สามารถสร้างโปรตีนได้จากปัญหาพิษและการรบกวนในการประกอบ phage อีกทั้งยังมีปัญหาการสูญเสีย RNA หรือ DNA ในระหว่างการสร้าง library phage ซึ่งอาจทำให้บาง fragments ที่สำคัญสูญหายไป และการสุ่มตัวอย่าง antibody หลังการ panning ที่ไม่เพียงพออาจทำให้ fragments ที่เกี่ยวข้องบางตัวไม่ได้รับการตรวจพบ

6. DNA immunization approach

- ข้อดี

DNA immunization เป็นวิธีที่ใช้ในการพัฒนา antivenom โดยไม่ต้องใช้ peptide หรือ protein ในปริมาณมาก ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาในการผลิต อีกทั้งยังสามารถให้ผลลัพธ์ที่แม่นยำและมีประสิทธิภาพในกระบวนการพัฒนา antivenom โดยการใช้ computational pipeline ระบุ epitopes ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับพิษที่มีความซับซ้อนหรือยากต่อการสังเคราะห์ ทำให้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นสามารถรับมือกับพิษได้อย่างหลากหลายและมีประสิทธิภาพสูง

- ข้อเสีย

DNA immunization มีข้อจำกัดในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่ำ ต้องเพิ่มตัวกระตุ้นการตอบสนอง (enhancers) เช่น การปรับแต่งทางเคมีหรือทางกายภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จึงจำเป็นต้องให้วัคซีนซ้ำหลายครั้งเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันตามที่ต้องการ นอกจากนี้วิธีนี้ยังมีความเสี่ยงในการรวมตัวของ DNA plasmid กับ genome ของ host ซึ่งอาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่ไม่พึงประสงค์

7. Small molecular therapeutics (SMTs)

- ข้อดี

Small Molecular Therapeutics (SMTs) เป็นเครื่องมือที่น่าสนใจในการพัฒนา antivenom เพราะสามารถในการยับยั้งพิษจากเอนไซม์จำเพาะที่เป็นส่วนประกอบหลักของพิษงู การยับยั้งเอนไซม์จะช่วยลดความรุนแรงของพิษและสามารถบรรเทาผลกระทบจากพิษที่อาจทำลายเนื้อเยื่อหรือระบบอวัยวะในร่างกายได้ นอกจากนี้การผลิต SMTs มีต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับการผลิต antibidy หรือ recombinant proteins ซึ่งช่วยให้สามารถพัฒนา antivenom ได้ในระดับอุตสาหกรรมและลดค่าใช้จ่ายในการผลิต

- ข้อเสีย

Small Molecular Therapeutics ได้รับการออกแบบมาเพื่อมุ่งเป้าไปที่พิษจากเอนไซม์เฉพาะ ซึ่งทำให้ไม่สามารถใช้เป็นการรักษาเดี่ยวได้ จำเป็นต้องใช้การรักษาอื่นร่วมด้วย รวมถึงปัญหาในการดูดซึมและการกระจายตัวในร่างกาย (Bioavailability and Distribution) ในกรณีที่ต้องการการตอบสนองที่รวดเร็ว เช่น ในกรณีของพิษจากสัตว์พิษที่มีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว การดูดซึมที่ไม่ดีอาจทำให้การรักษาไม่ได้ผล อีกทั้งในปัจจุบันยังไม่มีสารยับยั้งโมเลกุลขนาดเล็กที่สามารถใช้ได้ในเชิงพาณิชย์ที่ออกแบบมาสำหรับการรักษาการถูกพิษจากงู

8. Single-domain antibodies (nanobodies) technology

- ข้อดี

Single-domain antibodies หรือ nanobodies เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการพัฒนาเซรุ่มต้านพิษงูในอนาคต เนื่องจากมีขนาดเล็กสามารถแทรกซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็วและเข้าถึงตำแหน่งของ antigen ที่ antibody ทั่วไปอาจเข้าถึงไม่ได้ มีคุณสมบัติในการจับกับเป้าหมายอย่างแข็งแรงและเฉพาะเจาะจง และมี

ความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ในระดับต่ำ โดย nanobodies มีความสามารถในการผลิตโดยใช้จุลชีพ เช่น E. coli ทำให้สามารถผลิตได้ในปริมาณมากและมีต้นทุนต่ำ

- ข้อเสีย

Single-domain antibodies มีข้อจำกัดจากปัญหาในด้านความเสถียรต่ำ การละลายไม่ดี และความสามารถในการจับ antigen ต่ำ รวมถึง nanobodies มีขนาดเล็ก (~15 kDa) จึงถูกขับออกทางไตอย่างรวดเร็ว มากกว่า 50% ของโมเลกุลจะถูกกำจัดภายใน 1 ชั่วโมง ทำให้มี half-life สั้น และต้องให้ในปริมาณมากหรือให้ซ้ำบ่อย ๆ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการต้านพิษลดลง ต้องมีการดัดแปลงพันธุกรรมเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มความแรงในการจับหรือเพิ่ม half-life เช่น การทำ multivalent nanobodies หรือการเชื่อมกับ Fc fragment ทำให้มีความยุ่งยากและใช้ต้นทุนสูงในการผลิต และปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาประสิทธิภาพในการนำมาใช้ทางคลินิก

การวิจัยและพัฒนาต่อยอด Antivenom

การปรับปรุงประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และความสามารถในการเข้าถึงของเซรุ่มแก้พิษงู (antivenoms) เป็นหนึ่งในเป้าหมายหลักในการพัฒนาการรักษาโรคจากพิษสัตว์ที่พบมากในผู้ป่วยยากจนในพื้นที่ชนบทของเขตร้อน อาจมีความเป็นไปได้ที่จะนำผลิตภัณฑ์เซรุ่มรุ่นใหม่ที่ผลิตจาก recombinant producted antibody หรือ small molecule inhibitor มาใช้ อย่างไรก็ตาม ยังคงมีความจำเป็นในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ในปัจจุบัน โดยการใช้แนวทางการสร้างภูมิคุ้มกันแบบใหม่ที่ไม่ต้องอาศัยพิษโดยตรง ซึ่งสามารถปรับใช้ได้อย่างรวดเร็วและเข้ากันได้กับกระบวนการผลิตเซรุ่มที่มีอยู่เดิม อีกทั้งยังช่วยลดปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงสัตว์และการเก็บพิษบางส่วนได้ด้วย

การพัฒนาเซรุ่มโดยใช้แนวทางการสร้างภูมิคุ้มกันแบบใหม่นี้เป็นไปได้เนื่องจากความรู้ที่เพิ่มขึ้นเกี่ยวกับองค์ประกอบและความเป็นพิษของพิษงู จากการใช้เทคโนโลยีโอมิกส์ (omics) และเครื่องมือทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น epitope mapping และ recombinant expression แนวทางเหล่านี้สามารถนำมาใช้เพิ่มประสิทธิภาพของเซรุ่ม เช่น เพิ่มระดับ antibody ที่สามารถใช้รักษาได้สูงขึ้น และเพิ่มความครอบคลุมในการต้านพิษจากสายพันธุ์ที่ปัจจุบันยังไม่มีเซรุ่มที่ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การปรับปรุงในลักษณะนี้อาจนำไปสู่การลดต้นทุนการรักษาของผู้ป่วย เนื่องจากอาจใช้ปริมาณเซรุ่มน้อยลง แต่ได้ antibody ในระดับที่เพียงพอมากขึ้น

ในอนาคต อาจมีการผสมผสานระหว่างวิธีการสร้างภูมิคุ้มกันแบบใหม่กับการใช้สัตว์ดัดแปลงพันธุกรรมที่สามารถผลิต antibody ของมนุษย์ได้ ซึ่งถึงแม้อาจไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพหรือทำให้ serum เข้าถึงได้ง่ายขึ้น แต่สามารถเพิ่มความปลอดภัยได้ เพราะ antibody ที่ได้จะมีต้นกำเนิดจากมนุษย์แทนที่จะมาจากสัตว์ การเพิ่มความปลอดภัยนี้อาจช่วยให้สามารถให้เซรุ่มแก่ผู้ป่วยได้เร็วขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่ผลการรักษาและการฟื้นตัวที่ดีขึ้น เนื่องจากความเสี่ยงในการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จะลดลง

บทสรุป

เซรุ่มแก้พิษ (antivenom) ที่สกัดจากพลาสมาของสัตว์ ยังคงเป็นวิธีการรักษาหลักสำหรับผู้ที่ถูกสัตว์มีพิษกัด เนื่องจากมีประสิทธิภาพที่ได้รับการพิสูจน์และมีการใช้ในผู้ป่วยจริงมาอย่างยาวนานและได้รับการยอมรับในทางการแพทย์ อีกทั้งยังสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก และมีต้นทุนที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีใหม่ เช่น humanized antibody และ nanobodies มาใช้ในการรักษา ซึ่งช่วยเพิ่มความปลอดภัย ความจำเพาะต่อพิษ และลดผลข้างเคียงจากการใช้ antibody ที่มาจากสัตว์โดยตรง แต่เทคโนโลยีเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดบางประการ เช่น ต้นทุนที่สูง ขั้นตอนการผลิตที่ซับซ้อน และ half-life สั้น จึงจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Albulescu LO, Kazandjian TD, Slagboom J, Bruyneel B, Ainsworth S, Alomran N, et al. A therapeutic combination of two small molecule toxin inhibitors provides pancontinental preclinical efficacy against viper snakebite. Nat Commun. 2024;15(1):510. Available from: https://mdpi-res.com/d_attachment/toxins/toxins-15-00510/article_deploy/toxins-15-00510.pdf?version=1692353948
2. Laustsen AH, Gutiérrez JM, Knudsen C, Clement H, Arbey E, Yang C, et al. Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development. Toxins (Basel). 2018;10(10):452. Available from: https://mdpi-res.com/d_attachment/toxins/toxins-10-00452/article_deploy/toxins-10-00452.pdf?version=1541157238
3. Ferreira RS Jr, Sciani JM, Arantes EC. Advances in snake antivenom development. iScience. 2024;27(5):107687. Available from: https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2405-8440%2824%2901562-7
4. Isbister GK, Jenkins S, Downes MA, Fakes K, Buckley NA. A randomized controlled trial and prospective cohort investigating antivenom for red-bellied black snake envenomation. Clin Toxicol (Phila). 2024;62(6):343-351. doi:10.1080/15563650.2024.2367677
5. Meenatchisundaram S, Michael A, Parameswari G, Ramalingam S. Neutralization of the pharmacological effects of Cobra and Krait venoms by chicken egg yolk antibodies. Toxicon. 2008;52(2):221-227.
6. Sanz L, Escolano J, Ferres M, Fernández J, Albulescu LO, Gutiérrez JM, et al. Inhibition of snake venom metalloproteinases by batimastat and marimastat: preclinical evaluation of effectiveness. Front Pharmacol. 2018;9:727. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5814581/pdf/PBI-16-727.pdf

7. Knudsen C, Ledsgaard L, Dehli RI, Ahmadi S, Sørensen CV, Laustsen AH. Engineering and design considerations for next-generation antivenoms. Toxins (Basel). 2022;14(6):379. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9096979/
8. Khunsap S, Rojnuckarin P, Suttisri R, Intragumthornchai T, Noiphrom J, Ratanabanangkoon K. A novel strategy for antivenom production using recombinant immunogens. PLoS Negl Trop Dis. 2024;18(3):e0011332. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11337809/
9. de Castro F, Fernandes FCF, Portaro FCV, Oliveira D, Laustsen AH, Pucca MB. Phage display-derived alpaca nanobodies as potential therapeutics for Naja atra snake envenomation. Toxins (Basel). 2020;12(2):131. Available from: https://www.mdpi.com/2072-6651/12/2/131