眼鏡蛇毒對大白鼠皮質腦波的效應

郭東益　　吳京一

摘　要

本實驗之目的在瞭解臺灣眼鏡蛇(Naja naja atra)所分離之眼鏡蛇毒（ Cobra venom)對中樞神經系統之致毒作用。本實驗採靜脈及腦室注入方式，就其對大白鼠(Sprague-Dawley)皮質腦波之影響加以探討。同時記錄血壓、心跳、呼吸運動、血液之 pH， PCO_2 ， PO_2 及肛溫等，以探討引起腦波變化之機制。結果發現：

1. 自靜脈注入蛇毒液 0.4μg /g 體重時，記錄之腦波最後呈現平直，這可能是因間接受到蛇毒液內 Neurotoxin 作用於呼吸肌運動終板，而使呼吸停止後，血液內氣體成分改變而引起之影響。
2. 自腦室注入蛇毒液 0.04μg/g 體重，引發腦皮質細胞不正常放電，但最後會回復至注入前之波型。若注入蛇毒液 0.2μg/g 體重時，引發腦皮質細胞不正常放電後，因呼吸停止而死亡；死亡原因與自靜脈注入毒液時頗相似。

緒　言

蛇毒之神經毒素(Neurotoxin, NTX)見於蝙蝠蛇科（ Elapidae ）及海蛇科（ Hydridae ）所分泌之毒液內（ Lee,1972,Boquet 等人、 1972），大致可分成突觸前作用羣和突觸後作用羣；前者如乙型雨傘節神經毒素（ β-Bungarotoxin ）（ Boquet 等人， 1972 ），後者如眼鏡蛇神經毒素（ Cobrotoxin ），甲型雨傘節神經毒素（ α - Bungarotoxin ） 和海蛇神經毒素（ Erabutoxin)。神經毒素作用主要的是遮斷神經肌肉間化學物質所擔任之工作，而使動物產生呼吸性麻痺而死亡（ Chang 等人， 1972, 1973 Lee 及 Chang, 1966，Wang 等人， 1978 ）。眼鏡蛇毒（ Cobra venom ）內除含NTX外，尚含心臟毒素（ Cardiotoxin,CTX ）及磷酯酶 A_2 （ Phospholipase A_2 ,PLA_2 ）二種主要成分。此三種毒素之作用互異；NTX 有類似箭毒（ Curare-like toxin ）之致毒作用，主要作用於運動神經終板。以 I^{131} 標幟的NTX可發現此種毒素對運動神經終板上的乙醯膽鹼受器(Acetylcholine receptor)有高度之親和性(Winster 及 Spooner 1966)。CTX是一種鹼性多胜肽，毒性強且具多種作用如影響心跳速度、會使心跳停止（ Cardiac arrest)(Ho 等人 1975, Lin 等人 1975, Yu 1977)對大白鼠腦皮質神經鍵體（ Synoptosome ）及粒線體之 $Na^+ - K^+ -$ ATPase、Mg^{+2} - ATPase 活性有明顯之抑制作用（ Lin 等人 1979, Lin 及 Fu 1983 ），而其活性可被 Ca^{2+}、Mg^{2+}、K^+、Na^+ 等陽離子所拮抗（ Lin 等人 1976, Lin 等人 1977、Lin 等人 1977 ）。PLA_2 之致毒機制尚未了解，惟可使老鼠血壓產生短暫性低血壓（ transient hypotension ）、並使離體心房收縮變大、心跳變快等作用（ Ho 及 Lee,1981）。外， PLA_2 可協同 CTX，直接或間接經由水解細胞膜之產物，使致毒於雞胚之心臟血管系統上（

國立臺灣師範大學生物研究所

Lin 等人 1977)。Napias 及 Heilbrown (Napias 及 Heilbrown, 1980) 發現此類毒素對大鼠(Wistar rat)大腦皮質內之神經鍵體(Synoptosome)、粒線體、髓質體(Myelin)之細胞膜引起溶解。由上述可知，蛇毒是一種複雜而具多方面毒性的混合物。

本實驗爲瞭解蛇毒對中樞神經系統之毒害性，採股靜脈及腦室注入方法，藉由腦波圖(Electroencephalogram , EEG)之變化加以探討。一般認爲腦波即表示其電極附近之神經細胞興奮性變遷之統合者，且神經細胞之興奮性又易受血液成分之影響(Okuma, 1963)，故腦波受呼吸作用的影響大(Fuh 1977)，與血液中氧分壓(Harel 等人 1969, Meyer 及 Gotch 1960 , Voitinsky 及 Bondarev 1972)，二氧化碳分壓 (Gill,1969.Meyer 及 Gotch 1962)，酸鹼度(Cobb 等人 1939, Meyer 及 Gotch 1960) 及體溫之升降(Cabral 等人 1977, Fuh 1977) 等關係亦極密切，故本文同時探討蛇毒對血液氣體、血壓、心跳、呼吸運動等之影響，以瞭解蛇毒在體內引發改變腦波之機制。

NTX 作用於運動神經終板上的乙醯膽鹼受體， Lee 等(Lee 等人 1972)認爲此種結合是可逆的，因結合後之NTX可與抗膽鹼酯酶(Anti-cholinesterase)藥物之一的Neostigmine 可競爭(Com petitive) 。惟其所做實驗是在離體狀況，且用精製之 Cobrtoxin 的情況下所得結論，若改用眼鏡蛇的原毒(Crude venom)，且在活體內(in vivo)情況下，是否有相同結果這裡也是本實驗之主要目的之一。

材料與方法

一、實驗製備及記錄法

(一) 實驗製備

以 43 隻 320 ± 50公克的大白鼠爲實驗動物。先以Atropine 1 mg / kg腹腔注射，以預防呼吸道過度分泌黏液。30 分鐘後，繼以 α-Chloralose 70 mg / kg 腹腔注射麻醉。之後進行氣管插管，左右股動脈、右股靜脈插管，以便進行抽血、測血壓及注入蛇毒之用。以溫度計測定肛溫，並以紅外燈保持體溫 36 ± 1 °C 。將頭部保定於腦定位儀，除去右側頂葉頭蓋骨，直至露出軟腦膜，以微量注射針頭(micro syringe)依腦解剖圖(Mc Gill 1969)，插入右側腦室 (A = 5.8, L = 1.7, H = + 2.8)，作爲腦室注入蛇毒之用。

(二) 實驗裝置及記錄法

腦波(EEG) : 以銀線單極電極置於頂葉軟腦膜上 ， 參考電極置於鼻骨，採單極記錄法，將訊號經由腦波傳入箱送至腦波記錄儀(EEG-5109 ; High Cut off,Low Cut 0.3 sec) 之第 1 頻道，並經腦波頻率分析儀(EEG frequency analyzer ; MAF － 5 ，日本光電)，將訊號加以分析。腦波頻率分析儀係以每 10 秒內所輸入之腦波做爲一個單位時間，積分並成五羣腦波(0.5 － 3 ，4 － 7 ，8 － 13 ，14 － 20, 21 － 30Hz) ，將其結果依積分值的振幅大小描成積分波，並同時於腦波儀之第 2 ， 3 ， 4 ， 5 ， 6,頻道上記錄 。呼吸運動傳送器置於胸部，經由傳入箱，將訊號送至腦波儀上第 7 頻道，記錄胸部之呼吸率及呼吸深度。以電測壓計，將股動脈的血壓變爲電荷，通過增幅器，將訊號送至腦波儀上 8 頻道上記錄血壓。以針電極經由增幅器，將訊號傳至腦波儀上第 9 頻道，記錄第一導的心電圖 (ECG)。腦波記錄儀之速度以 0.3 cm / sec 爲主，分別記錄皮質腦波、積分值、五種腦波瞬間分析圖、呼吸運動、血壓值及心電圖。抽取股動脈血液時，採①定時或② EEG 型式改變時之兩種方式。每次抽取 0.2 C.C, 以血液氣體分析儀測定血液中 pH, PCO_2 , PO_2之值。

二、實驗處理

爲減少動物之腦波因麻醉不足或過量所受的干擾，處理前，動物皆在呼吸淺而平靜，腦波呈現同期化(Synchronization)，振幅在 200 μV 左右之輕度麻醉下(Kiersey, 1954, Okuma, 1963)才開始做實驗。

(一) 靜脈注射：自右股靜脈注入 0.3C.C 生理鹽水所記錄者當對照組。蛇毒 0.4μg / g 及 0.6 μg / g二種濃度，以蒸餾水稀釋至總量爲

0.3 C.C後，以0.01 C.C／sec之速度自右股靜脈注入；動物在呼吸未完全停止且EEG未有變化前，(1)加以人工呼吸，以保持呼吸運動，或(2)在呼吸深度開始減少時，接受$2.2\times10^{-2}\mu g/g$體重之Neostigmine 0.2 C.C。若呼吸深度繼續下降，再追加注入0.2 C.C之Neostigmine。

(二) 腦室內（Intracerebral ventricle, I.C.V）:注入前，先以微量注射針自右腦室抽出10μl 之腦脊髓液（Cerebrospinal fluid）後注入10μl生理鹽水所記錄者當對照組。注入蛇毒0.04 μg或0.2 μg／g體重（分別爲0.4 μg／g 體重的十分之一及二分之一）．總量各爲10 μl，以0.2 μl／sec 的速度注入之。

實驗結果

動物在α-Chloralose 麻醉下，連續記錄3小時。由腦波分析儀分析結果可知在10 秒鐘內五羣腦波之振幅出現0.5-3 Hz 波有26-30μV，4-7Hz 波有17-23μ，8-13 Hz波有10-13 μV, 14-20 Hz 波有4-7 μ，21-30 Hz 波有2-4 μ。以t-test 分析，各波羣在3小時內並無變化(P＜0.05）。右股靜脈內若注入蒸餾水0.3C.C或腦室注入生理鹽水10μl，其各羣腦波及血壓、呼吸率、心跳次數等亦均無變化。實驗組之結果如下：

(一) 腦波

1. 靜脈注入蛇毒：靜脈內注入蛇毒後10分鐘，呼吸深度開始減小，並隨著時間之增加而減小，經過約60分鐘，遂趨於平坦；惟腦波則當呼吸趨於停止時,振幅才有顯著變化（P＜0.05)（Fig 1A, Table 2A）,注入0.6 μg／g 體重之蛇毒後約10分鐘，呼吸深度減小，並隨時間繼續減小（Fig 1B）約50分鐘時，已趨於平坦，腦波振幅則當呼吸深度即將平坦時才有顯著變化。若注射蛇毒同時加以人工呼吸，即血壓、心跳沒有引起變化，腦波亦不變。但注入0.6 μg／g 體重之蛇毒，即加以人工呼吸，大白鼠還會死亡（Table 1）。先有心跳不規則，最後則心跳停止。若注入0.4 μg或0.6 μg／g 體重之蛇毒後，給與 Neostigmine，呼吸深度仍隨着時間繼續減小，最後呼吸停止。從注入蛇毒到呼吸停止之時間上，與未給 Neostigmine 處理之間，並無差異（P＞0.05 Table 1）

2. 側腦室注入蛇毒（Fig 2A, Table 2B)靜脈注射所使用之$\frac{1}{10}$量（0.04μg／g I.C.V）注入右側腦室後，經過約30分鐘，腦波開始出現高振幅之銳波（Sharp wave），並逐漸增高，在47-52分鐘時，振幅達到最高。此時五羣腦波之振幅；0.5-3Hz有49 μV，4-7Hz 有39μV, 8-13Hz 有16μV, 14-20Hz 有9μV, 21-30Hz 有6μV（Table 2B），而後逐漸減小，在70 分鐘後恢復未注入前的振幅高(Fig 2A)。若以0.4 μg／g 的二分之一注入右側腦室，經過約30分鐘，腦波開始出現高振幅之銳波，並逐漸增高，在第90至第150分鐘後,振幅至最高。此時五羣腦波之振幅0.5-3Hz 有134μV, 4-7Hz 有83μV, 8-13Hz 有53 μV, 14-20Hz 有28μV, 21-30Hz 有12μV（Table 2B）。然後再逐漸減小，直至第180分鐘，此時呼吸即將停止（Fig 2B），直到呼吸停止，振幅才降爲零（Table 2B）。

(二) 呼吸率、血壓、心跳次數及肛溫:(Table-3）

呼吸率：自靜脈注入蛇毒後，經過10至15分鐘，呼吸深度減小，並隨著時間繼續減小，最後呼吸停止。自腦室注入蛇毒0.4 μg／g 體重（0.4 μg／g體重的十分之一），經過50分鐘，開始顯著上升（P＜0.05, Table 3B, Fig 2A），此種上升現象持續2小時以上。若注入0.2 μg／g體重（0.4 μg／g體重的二分之一），呼吸率亦上升，但經過150分鐘後,呼吸深度減小（Fig 2B），大約經過180分鐘時呼吸停止。

血壓：自靜脈注入蛇毒時，血壓曾下降，但在2至3分鐘內恢復，恢復後一直至呼吸停止爲止無多大變化。（P＞0.05, Table 3A）。自腦室注入蛇毒0.04 μg／g體重後，3小時內無變化（P＞0.05, Table 3B）；若注入0.2 μg／g 體重，在150分鐘之內，無多大變化（P＞0.05），經過180分鐘後，因呼吸的停止

而下降。(Table 3B)

心跳次數：自靜脈注入蛇毒至呼吸完全停止之前，心跳次數無變化($P>0.05$,Table 3A)。自腦室注入蛇毒 0.4 μg／g 體重，經過50分鐘，開始很顯著的上升($P<0.01$ ，Table 3B)，此種上升現象持續至少 2 小時，若注入 0.2 μg/g 體重，心跳次數亦上升，一直到呼吸停止後才下降(Table 3B)。

肛溫：自靜脈注入或自腦室注入蛇毒後。一直到呼吸停止，肛溫無顯著變化($P>0.05$ ，Table 3)。

(三) 血液中 pH ， PCO_2， PO_2:(Table 3)

血液之 pH 、 PCO_2、PO_2，隨著呼吸率的變動而改變。自靜脈注入蛇毒時， 無多大變化 ($P>0.05$)，直到呼吸即將停止時才有顯著地變化($P<0.05$)。自腦室注入蛇毒，腦波呈現高振幅放電時，因呼吸率增加，呈現過度換氣現象(hyperventilation)，使 pH、PCO_2 、PO_2改變，若注入 0.2 μg／g 體重，則因呼吸停止，使 PCO_2 上升， PO_2 下降，導致死亡。

討 論

對腦波有影響之藥物大致區分爲(1)痙攣劑(Convulsant)或中樞神經刺激劑(stimulant)，如 pentylenteterazol 、 caffein 、 strychnine (2)中樞神經抑制劑(depressant)如麻醉劑(ether,barbital, α-chloralose)、鎮痛藥(morphine)(3)自主神經系藥，如 adrenaline , acetylcholine , scopolamine (4)迷幻藥 mescaline 等(Fuh 1977,Okuma 1963)。麻醉藥既屬中樞神經抑制劑，故腦波之變動隨麻醉過程而有階段性變化，例如 barbiturate 對腦波之影響可分深淺五個階段，其第三階段有 burst 波出現； scopolamine 則有睡眠式之腦波出現；α-chloralose 則介於 scopolamine與 barbiturate 二者之間，且可保持身體同一狀況至少 6 小時，並對心臟血管、呼吸中樞之作用輕微(Winster 及 Spooner 1966)，對動脈平均動脈壓(mean arteral pressure),心輸出指數(cardiac index)、血液 pH、PCO_2、PO_2 無顯著影響，呼吸率亦甚穩定(Arfors 等 1971)，故本實驗選用 α-chloralose 當麻醉劑。

Lee 與 Chen 將蛇毒內三種主要成分 NTX，CTX，PLA_2 分離出後，分別自靜脈注入鼠體內時，發現以 NTX 毒性最強， CTX 次之， PLA_2 最弱，致死劑量比爲 NTX：CTX：PLA_2＝1：4：10 ，但若直接注入腦室時則反之，比值爲 NTX：CTX：PLA_2＝15：10：1，唯致死時間差異大，NTX 約 90 分鐘，CTX 約需 6 小時至 4 天，PLA_2 須 2 至 14 小時。故認爲 NTX 對周圍神經系統之毒性最大， CTX 次之， PLA_2最小；對中樞神經系統之毒性則以 PLA_2 最大， CTX次之，NTX 最小(Lee 及 Chen 1977)。本實驗以未經分離的原毒(crude venom)注入鼠體，藉由腦波之變化，以觀察對中樞神經系統之影響。結果發現自靜脈注入蛇毒時，最先受到影響的是呼吸運動之被抑制，而後才有血壓及心電圖之改變，最後才引起腦波振幅及頻率之改變，腦波隨着呼吸深度開始變小而減小，最後呼吸停止，腦波則平直。若呼吸運動未完全停止，腦波不會有變化，如果再接上人工呼吸儀，以保持其呼吸頻率與通氣量，使血液內 PCO_2，PO_2 維持在常態，則腦波亦能持續其電壓(振幅)，故腦波平直是由於 Cobrotoxin 作用於肋間肌或橫隔膜，使運動終板被遮斷，而引起呼吸停止。

自腦室注入蛇毒後，引起腦波開始出現高振幅銳波之閾值量爲 0.04 μg／g 體重，其潛伏期約 30 分鐘，五羣腦波之振幅在最高時之增加率爲 0.5-3Hz 113％，4-7Hz 103％，8-13Hz 60％，14-20Hz 57％，21-30Hz 68％，此種高振幅維持大約 5 分鐘後，逐漸恢復到原有振幅，並且維持 120分鐘以上。注入較高濃度之蛇毒(0.2 μg／g 體重)，引起腦波開始出現高振幅銳波之潛伏期亦爲 30 分鐘，並隨時間而遞增，大約在第 90 分鐘時增至最高，此時振幅之增加率爲 0.5-3Hz 456％，4-7Hz 290％，8-13Hz 33％，14-20Hz 311％，21-30Hz 106％，此種高振幅持續 60 分鐘後，再漸漸回復至開始出現高振幅銳波時之高度。此高度延續至呼吸運動停止後才平直。呼吸停

止現象與自靜脈注入蛇毒時相同，即由呼吸深度之逐漸減小終至完全停止，故致死原因亦可能是 Cobrotoxin 所引起。

蛇毒無論是自靜脈或腦室注入鼠體後，皆最先作用於神經肌肉運動終板上，與乙醯膽鹼受體結合,使呼吸肌不再接受運動神經末梢所分泌之乙醯膽鹼。此現象隨著被注入之蛇毒量或注入後之時間成正比。蛇毒與乙醯膽鹼受體之結合，是屬於無競爭性（ Non-competitive ）結合，故給與多量之抗膽鹼酯酶亦無法使之回復呼吸運動；給與大白鼠人工呼吸時，注入0.4 $\mu g/g$ 之蛇毒可延長其中毒作用時間，但不能阻止中毒作用，此亦證明蛇毒對運動終板之無競爭性。Lee 認為動物經蛇毒作用後死亡之原因為呼吸運動肌肉之麻痺，同時也認為CTX可以引起天竺鼠心肌之不可逆性之膜電位減少（ Lee,1971 ）。由心肌內電位記錄法實驗結果顯示心房膜電位之減少（王夕堯1983)。本實驗雖然未做心肌電生理學方面之研究，但依其中毒之步驟來看，先有呼吸運動之被抑制而後有心電圖之改變及腦波型式之改變，因此可認為腦波振幅之被抑制為次級性影響（ Secondary effect ）。

結　論

1. 自靜脈注入蛇毒時，對腦波在開始時無直接影響，記錄之腦波最後呈現平直，這可能是因間接受到 NTX 之作用於運動神經終板，使呼吸停止後，血液內氣體成分改變而影響。
2. 自腦室注入 0.04 $\mu g/g$ 體重蛇毒液時，引發腦細胞不正常放電後，仍能使腦波回復注入前之波型與振幅；若注入 0.2 $\mu g/g$ 體重蛇毒液時，引發腦細胞不正常放電後，因呼吸停止而死亡；死亡現象與自靜脈注入蛇毒液時相同。
3. 蛇毒使五羣腦波呈現長期高振幅效應，（ 0.5 ～3，4～7，8～13，14～20，21～30 Hz）且為逐漸增加方式,但未對某羣腦波有特殊效應。
4. Neostigmine不能阻抗 NTX 之作用于運動神經終板。

參考資料

Arfors ,K. E. ,G. Arturson and P. Malnberg . 1971. Effect of prolonged chloralose anesthesia on acid-base balance and cardiovascular functions in dogs. Acta Physiol. scand. 81 47-53.

Cabral ,R. ,P.F. Prios ,D.F. Scott and J.B. Brierley 1977. Reversible profound depression of cerebral electrical activity in hypothermia. Electroenceph. Clin. Neurophysiol.,42:697-701.

Chang ,C.C. T.F. Chen and C.Y. Lee . 1973. Studies of the presynaptic effect of β-bungarotoxin on neuromuscular transmission. J. Pharmacol. Exp. Ther.,184 39-345.

Cobb ,S. , W.W. Sargant and R.S. Schwab . 1939. Simultaneous respiratory and electroencephalograph recording in case of Petit mal. Arch. Neurol.and Psychiat,42:1189-1191.

Fuh ,L.F. 1977. Animal hypothermia and their electroencephalogram pattern. M.S. Thesis, NTNU.

Harel ,D. ,D. Kerem and S.Lavy. 1969. The influnce of high oxygen pressure on the electrical activity of the brain. Electronceph. Clic. Neurophysiol., 26:310-317.

Ho ,L.C. ,C.Y. Lee and H.H.Lu. 1975. Electrophysiological effects of cobra cardiotoxin on rabbit heart cells. Toxicon., 13,437.

Ho, C.L. and C.Y. Lee . 1981. Cardiovascular effects of phospholipase A_2 purified from various snake

venoms. Proc. Natl. Sci Counc. B, ROC 5(2) 181-189.
Kiersey ,D,K. ,A.J. Faulconer and R.G. Biacforod .1954.Automatic electroencephalogram control of thiopental anesthesia. Anesthesiology 15:356-364.
Lee ,C.Y. and C.C. Chang .1966. Mode of action of purified toxins from Elapid venoms on neuromuscular transmission. Mem. Inst. Buantan Simp. Internac.,33,555-572.
Lee ,C.Y. 1971. In"Neuropoisons : Their Patholophysiological Action." Vol.1.ed. by Simpson,L.L.,Plenum Press, New York-London, p,21-70.
Lee ,C.Y.C.C. Chang and Y.M. Chen .1972.Reversibility of neuromuscular blockade by neurotoxins from Elapid and sea snakes. J.Formosan Med. Assoc.,71 344-349.
Lee ,C.Y.1972. Classification of polypeptide toxins from Elapid and sea snake venoms according to their pharmacological properties and chemical structure. J. Formosan Med. Assoc., 71, 311-317.
Lee,C.Y. and Y.M. Chen .1977. Central neurotoxicity of cobra neurotoxin,cardiotoxin and phospholipase A_2. Toxicon, Vol. 15,pp.395-401.
Lin -Shiau,S.Y. ,M.C.Huang and C.Y. Lee.1976. Mechanism of action of cobra cardiotoxin in the skeletal muscle. J.of Pharm and Exp. Ther. 196:758-770 .
Lin-Shiau,S.Y.and J.C.Chow. 1977. Effects of cardiotoxin and phospholipase A_2 on the development of the chick embryo and the toxicity to the baby chick. J.Formosan Med. Assoc. 76, 182-191.
Lin-Shiau ,S.Y. ,C. Liao and C.Y.Lee .1977. Mechanism of anti-cholinesterase activites of cardiotoxin ,protamine and polylysine. Biochem. J. 161.229-232.
Lin-Shiau ,S.Y. ,Fu and C.Y. Lee . 1979. Comparative studies on the action of cobra cardiotoxin, ouabain and protoveratrine A on the frog heart. Proc. Natl. Sci. Counc. ROC Vol.3(2), pp.187-194.
Lin-Shiau ,S.Y. ,H.C. Huang and C.Y.Lee .1979. Effect of cardiotoxin on ATPase activity of synaptosome and mitochondria of the rat brain. J. Formosan Med. Assoc. 78(2) 90-97.
Lin-Shiau,S.Y.and W.M.Fu . 1983. Effects of cardiotoxin on ATPase activities of the normal and tumor cells. Natl.Sci. Counc. Monthly, ROC 11 (12-1) 1165-1176.
Mc.Gill .1969 A stereotaxic atlas of the rat brain. Univ. Montreal. Canada.
Meyer ,J.S.and F. Gotch .1960. Regional cerebral blood flow and metabolism in vivo. Arch. Neurol. 7:560.
Napias, C. and E. Heilbronn . 1980. Phospholipase A_2 activity and substrate specificity of snake venom presynaptic toxin. Biochemistry 19, 1146-1151.
Okuma, J.1963. " Clinical EEG ". Nanzando ,Tokyo ,Japan .
Boouetp .,Y.Izard and A.M. Ronsseray . An attempt to

classify by serolological techniques on the toxic proteins of low molecular weight. J. Formosan Med. Assoc., 71、307-310.

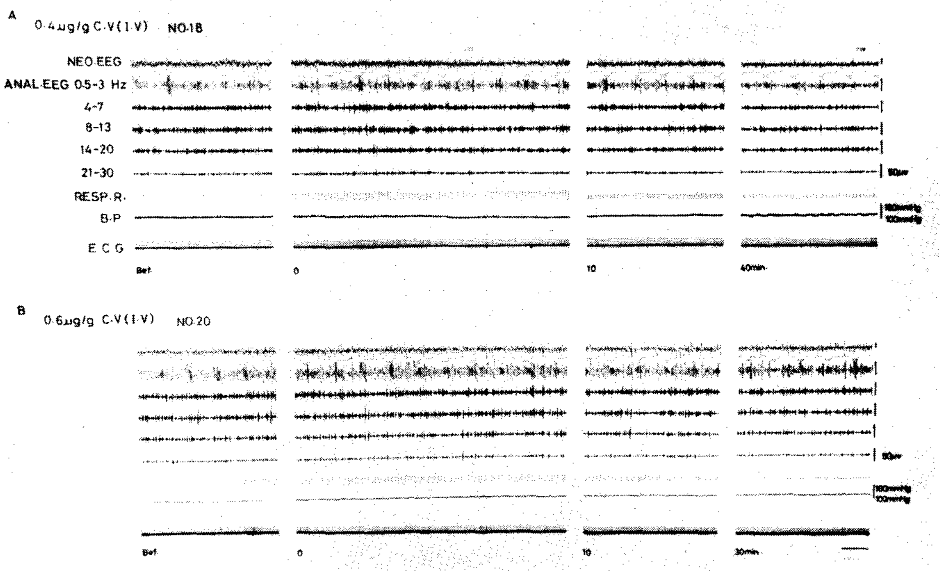
Voitinsky ,E. and V.N.Bondarev. 1972. Study of cerebral electrical activity and oxygen tension in rabbit with experimental encephalitis. Electroencephalo, Clin. Neurophysiol. 31:365-372.

Wang ,C.Y.,S.W.Chen ,L.C.Ho and K.T.Wang .1978. synthesis of cobra neurotoxin. Proc. Natl. Sci. Council, ROC Vol.2, pp.149-153.

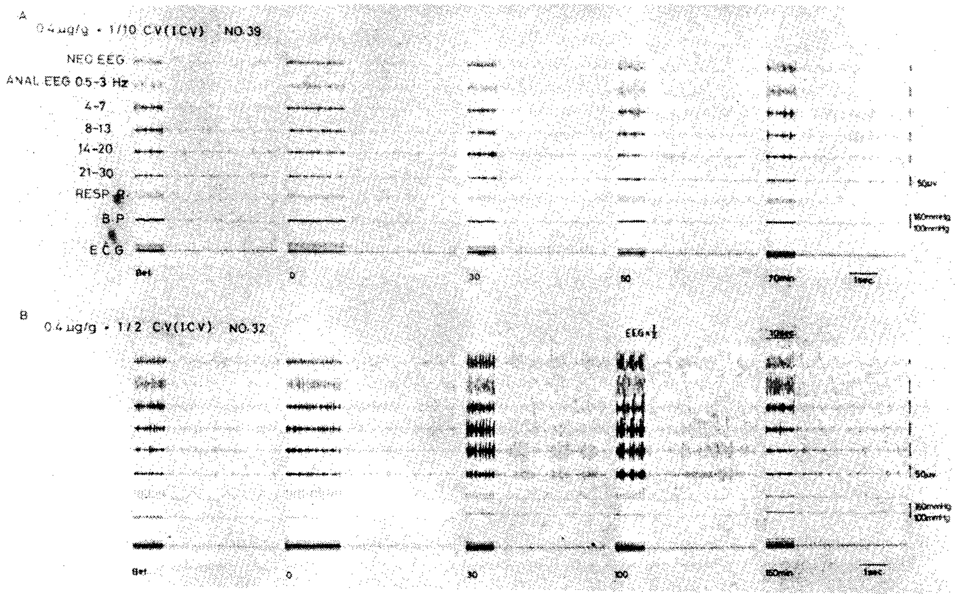
Winster ,W.D. and C.E.Spooner. 1966. A neurophysiological comparison of alphachloralose with gamma-hydroxybutyrate in cats. Electroencephalo. Clinc. Neurophysiol., 20:83-90.

Yu ,Y.C. 1977. Hemodynamic study of effect of cobra venom on the circulation in the dog by the dye dilution method. 北醫學報 p.43-49.

王夕堯；眼鏡蛇毒對大白鼠血流力學之效應（師大生物研究所碩士論文，民國72年）。



第一圖：老鼠靜脈注射蛇毒時之腦波、腦波分析、呼吸運動、血壓及心電圖之變化。
上圖爲0.4 μg / g 體重，下圖爲0.6 μg / g 體重靜脈注射。
NEO.EEG： 皮質腦波。
ANAL.EEG：原腦波分析，即原腦波（第一頻道）中分析的0.5～3, 4～7， 8～13, 14～20, 21～30Hz 以其瞬間値表示之。
Resp.R ：呼吸頻率、B．P血壓、ECG：心電圖。
BEF：注入前 0 ：注入時 10 ；注入後10分鐘 40及30 ：注入後40分或30分鐘。



第二圖：老鼠腦室內注入蛇毒時,其皮質腦波、腦波分析、呼吸運動、血壓及心電圖之變化。
上圖爲 0.4 μg × $^{1}/_{10}$（即 0.4 μg/g 體重）
下圖爲 0.4 μg× ½（即 0.2 μg/g 體重）
圖中簡寫與圖一同。

Table-1 : The time interval from Cobra venom I.V. injection to the cease of EEG.

C.V. (dose)	Treatment							
	Cont.	n	Cont.+NST	n	Cont.+A.R.	n	Cont.+NST+A.R	n
0.4 μg/g	42.3±8.7	5	51.3±14.6	4	d	4	d	4
0.6 μg/g	25.7±3.1	5	32.0± 5.0	4	20.0±4.3	4	19.3±4.8	4

Cont. : Control , NST: Neostigmine (2.2×10^{-2} μg/g), n : number of rats
A.R. : Artificial Respiration, 所有資料是Mean ± S.D., Time : minutes
t-test:$p>0.05$, “ d ” 腦波之活性 (activity) 可延遲至 4 小時以上。

Table-2: The change of EEG amplitude by Cobra venom (C.V.) treatmeat.

(A) I.V

Treatment	n	Time (min.)	EEG (UV/10sec) 0.5 — 3 Hz	4-7 Hz	8-13 Hz	14-20 Hz	21-30 Hz
Dis.wat. (0.3.c.c)	5	Bef.	27.9±3.1	21.3±2.5	10.9±1.3	4.9±0.8	2.5±0.6
		0	28.3±2.5	22.1±2.7	11.5±2.3	4.8±1.4	2.4±0.6
		10	27.8±3.7	20.6±2.4	10.3±2.8	4.1±1.4	2.3±0.7
		40	26.7±1.4	21.5±2.0	11.5±1.5	5.1±0.2	2.1±0.5
		100	28.1±1.5	21.7±2.6	11.6±1.9	5.1±0.5	2.7±0.5
C.V. (0.4μg/g)	5	Bef.	27.8±2.5	20.8±2.9	11.3±2.1	5.1±1.4	2.8±0.9
		0	27.7±2.1	20.4±1.2	11.3±1.9	4.4±1.5	2.7±0.7
		10	24.2±2.3	19.7±1.9	10.6±3.3	4.7±1.8	2.5±0.9
		30	24.4±5.2	17.7±4.4	9.2±2.6	3.9±1.5	2.1±0.6
		40	6.7±2.7 **	4.8±2.0 **	2.8±1.3**	1.4±1.1 *	1.0±0.8
		42	0	0	0	0	0
C.V. (0.6μg/g)	5	Bef.	26.4±2.2	18.0±0.9	10.6±1.5	4.9±0.9	2.5±0.8
		0	27.5±1.4	19.2±1.3	10.9±1.2	4.8±0.8	2.4±0.1
		20	22.9±0.8	14.8±2.9	7.9±1.1	3.5±0.9	2.0±0.2
		30	7.1±1.9 **	4.1±1.9 **	3.1±1.9**	1.6±0.9 *	1.4±0.4
		32	0	0	0	0	0

(B) I.C.V

Treatment	n	Time (min.)	0.5 — 3 Hz	4-7 Hz	8-13 Hz	14-20 Hz	21-30 Hz
Dist.wat. (10 μl)	4	Bef	28.3±1.9	20.5±2.1	12.1±1.9	5.2±0.5	2.9±0.7
		0	26.9±1.6	20.9±2.1	12.1±2.9	5.0±0.5	2.8±0.9
		30	26.3±3.2	20.9±2.7	11.1±1.4	5.0±0.7	2.6±0.6
		60	27.5±2.2	21.6±1.7	12.1±1.1	5.4±1.1	2.7±0.7
		120	25.7±1.7	20.3±2.6	11.1±2.7	4.6±1.2	2.4±0.7
		180	26.5±2.0	21.3±1.7	13.3±1.4	4.9±0.8	2.6±0.7
C.V. (0.4μg/g × 1/10)	4	Bef.	28.9±2.0	19.9±2.7	10.7±3.2	5.6±1.7	3.6±1.0
		0	27.7±2.3	19.7±2.4	10.0±2.1	5.1±1.9	3.5±1.3
		30	37.4±3.9 *	25.4±3.1 *	16.4±4.3*	10.8±4.3 *	7.1±1.6 *
		50	49.9±9.6 *	38.5±9.6 *	15.6±4.3*	8.8±3.6 *	5.8±2.6
		70	28.7±4.5	19.5±1.0	11.6±0.6	5.4±0.2	3.8±0.1
		180	25.7±0.3	17.3±1.2	9.1±0.3	4.7±0.1	1.9±0.4
C.V. (0.4μg/g × 1/2)	3	Bef	28.1±3.5	21.2±2.8	12.3±0.6	6.7±0.3	3.7±0.3
		0	27.6±2.2	20.0±2.1	11.5±1.2	5.2±0.4	3.5±1.1
		30	59.9±9.8 **	46.7±8.3 **	41.5±5.6**	24.6±4.7 ***	12.9±3.4***
		100	133.6±9.9 ***	82.6±4.7 ***	52.8±9.1**	27.7±8.5 ***	11.8±0.3***
		150	60.1±5.4 **	41.2±9.3 **	18.0±2.2*	9.1±1.2 *	6.3±1.0 *
		180	7.8±1.3 ***	5.5±0.7 ***	4.0±1.1***	3.0±0.8 *	2.0±0.2 **

t-test: *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$ ***: $p < 0.001$ n: number of rats. I.V.: Intravenous
I.C.V.: Intracerebral ventricle Dist.wat.: Distilled water. Bef.: Before

Table-3 : The analysis value for experimental condition and blood gas.

(A) I.V

Treatment	n	Time (min)	Experimental Condition: B.P. (mmHg)	H.R. (min)	R.R. (min)	A.T. (°C)	Blood Gas: pH	Pco (mmHg)	PO_2 (mmHg)
Dis. wat. (0.3cc)	5	Bef	117.9±6.4	380.5±15.5	69.3±3.3	35.8±0.2	7.41±0.02	31.3±2.5	86.8±1.8
		10	116.8±6.3	385.5±10.6	58.0±6.5	35.8±0.2	7.40±0.02	31.9±1.9	85.9±0.8
		20	115.1±5.3	385.6±10.6	70.8±6.2	36.1±0.2	7.41±0.02	31.3±1.2	86.3±1.3
		40	116.4±3.9	375.8±15.3	71.5±3.6	35.1±0.5	7.39±0.05	32.5±1.8	85.8±1.7
C.V. (0.4μg/g)	5	Bef.	118.4±5.2	380.7±18.4	71.5±2.4	36.2±0.3	7.41±0.04	30.5±2.2	86.0±3.4
		10	119.5±4.3	385.5±15.7	71.3±2.9	36.3±0.2	7.41±0.07	30.0±2.7	88.7±4.9
		30	121.2±3.7	410.8±12.3	76.8±5.9	36.0±0.2	7.41±0.07	38.7±2.1	61.9±8.9
		40	114.1±4.0	350.5±18.2	65.8±4.8	35.9±0.2	7.33±0.02 *	36.5±3.4	72.9±6.1*
C.V. (0.6μg/g)	5	Bef.	121.5±1.1	375.5±11.2	71.8±2.9	35.9±0.3	7.37±0.03	34.9±1.5	86.9±1.9
		10	118.5±5.4	380.5±14.9	72.8±4.9	35.6±0.2	7.36±0.03	34.4±2.6	82.4±3.4
		30	121.2±7.4	350.5±17.9	64.8±7.9	35.4±0.3	7.27±0.04 *	40.2±1.8 *	71.4±3.0*

(B) I.C.V.

Treatment	n	Time (min)	B.P. (mmHg)	H.R. (min)	R.R. (min)	A.T. (°C)	pH	Pco (mmHg)	PO_2 (mmHg)
Dis. wat. (10μl)	4	Bef.	117.9±8.1	390.5±18.2	70.3±5.6	35.7±0.3	7.39±0.02	31.9±2.1	86.8±0.3
		30	115.7±3.8	370.3±14.7	71.3±6.9	35.7±0.4	7.38±0.03	33.3±1.3	86.3±1.6
		60	116.4±5.5	380.5±10.8	71.3±8.5	36.2±0.1	7.36±0.02	32.4±2.1	85.5±2.7
		120	115.4±3.7	385.4±13.1	70.7±6.4	35.5±0.4	7.38±0.02	33.8±1.1	85.6±1.8
		180	116.4±5.5	385.5±10.5	70.3±4.7	35.7±0.5	7.37±0.03	33.5±2.1	85.8±1.7
C.V. (0.4μg/g × 1/10)	4	Bef.	121.6±5.0	385.5±10.0	74.5±3.5	36.3±0.4	7.37±0.02	31.5±1.3	86.0±2.6
		30	118.3±1.7	395.8±16.5	72.5±7.5	36.4±0.8	7.37±0.03	33.6±1.2	85.9±3.5
		50	123.5±3.3	420.5±12.5 *	84.3±9.0*	35.5±0.2	7.38±0.06	28.3±3.2	94.4±5.8*
		70	122.5±7.5	470.5±15.5 **	85.5±7.5*	35.2±0.3	7.37±0.02	27.5±2.9 *	95.2±4.5*
		180	120.5±2.5	480.5±11.5 **	85.2±8.3*	35.1±0.1	7.39±0.04	29.0±1.8	95.3±4.4*
C.V. (0.4μg/g × 1/2)	3	Bef.	118.9±5.1	385.5±10.5	69.5±2.5	36.7±0.4	7.41±0.02	31.1±1.6	84.2±2.9
		30	123.5±1.5	405.6±10.2	71.5±3.5	36.5±0.4	7.40±0.01	31.6±1.8	85.7±2.6
		100	125.5±6.5	515.5±18.5 **	88.5±4.5**	36.2±0.2	7.46±0.02 *	27.7±1.5 *	94.2±5.1*
		150	124.5±5.5	490.5±12.9 **	95.5±3.4**	35.9±0.2	7.48±0.02 *	25.7±2.4 *	100.7±5.5**

Note: B.P : Mean Blood pressure; H.R : Heart Rate ; R.R. : Respiration Rate ; A.T : Anal Temperature
C.V: Cobra Venom ; n: Number of Rat ; Values = Mean ± S.D ; t-test : *$p < 0.05$ **$P < 0.01$

The Effect of Cobra Venom on the Cortical Electroencephalogram in the Rat

T. Y. Kuo and C. Y. Wu

Abstract

In order to throw light on the toxic action of cobra venom (C.V) on the central nervous system, the effects of C.V. administered intravenonsly and intraventricularly on the electroencephalogram (EEG) changes were investigated in rats. Simultaneonsly, respiratory rate, blood pressure, ECG, anal temperature and the blood pH, PCO_2, PO_2 were also observed. Furthermore, the mechanism which induced the changes of EEG were discussed. The results are summarized as follows:

1. The EEG was not initially changed but it became finally flat. The flat EEG might be induced by the cease of respiration caused by C.V.
2. The injection of 0.04 μg/g b.w. of C.V into the rat's cerebral ventricle caused the abnormal dischargeof cerebral cortex. After wards, it returned to its original pattern. After injection of 0.2 μg/g b.w. of C.V, the abnormal discharge was induced, then the rat was dead by respiratory paralysis. This paralysis caused by the intravenous injection of C.V might be the same reason as that of intracerebroventricular injection of C.V.

*Institute of Biological Sciences, National Taiwan Normal University.