บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาถึงผลของแคดเมียมต่อหัวใจตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่าแคดเมียมผลต่อทั้ง electrical และ mechanical activity ของหัวใจ ดังเช่นการศึกษาของ Kleinfeld และคณะ (1965) แสดงให้เห็นว่า $CdCl_2$ (0.01 mg/ml) มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจที่แยกออกมาจากกบ โดยจะมีผลมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และในที่สุด cardiac output จะลดลงมากกว่า 50% เช่นเดียวกับการศึกษาในหัวใจห้องบน (atrium) ที่แยกจากหนูขาว โดย Kleinfeld และ Stein (1968) พบว่า $CdCl_2$ (45 μM) มีผลทำให้ action potential duration สั้นลง รวมทั้งแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนก็ลดลงด้วย Toda (1973a) ได้ศึกษาผลของแคดเมียม ต่อ electrical activity ของ sinoatrial nodal pacemaker fiber ของกระต่าย และรายงานว่า $CdCl_2$ (0.1 และ 0.5 mM) มีผลลด maximal diastolic potential และ threshold potential รวมทั้งลดค่า slope of diastolic depolarization ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะหัวใจเต้นช้าลง ซึ่งผลการลดลงนี้แก้ไขได้ด้วย cysteine แต่ $CaCl_2$ (4.4 mM) แก้ไขภาวะนี้ได้ไม่สมบูรณ์ ส่วนผลการศึกษาในหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกระต่ายโดย Toda (1973b) $CdCl_2$ (0.02 และ 0.1 mM) มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจแต่ก็สามารถแก้ไขได้โดย cysteine และ $CaCl_2$ ในความเข้มข้นที่สูงมากเกินพอ

ในปี 1982 Pilati, Ewing และ Paradise รายงานว่า $CdCl_2$ มีผลลดแรงบีบตัวของ papillary muscle ของหัวใจลูกแมว (kitten heart) โดยมีลักษณะเป็น dose dependent รวมทั้งแสดงให้เห็นว่า แคดเมียมเป็นทั้ง competitive antagonist ของแคลเซียม และยังมีกลไกที่เป็น noncompetitive ด้วย ต่อมา Pater และ Sauviat (1988) ได้ศึกษาผลของแคดเมียมในกล้ามเนื้อหัวใจที่แยกจากกบ พบว่า $CdCl_2$ (5 μM) มีผลลด slow inward current ในลักษณะที่เป็น voltage dependent และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคล

เซียมภายนอกเซลล์ ผลการศึกษาได้ชี้แนะว่า แคดเมียมแข่งขันกับแคลเซียมที่ตำแหน่งเดียวกันใน calcium channel และในปี1991 Shepherd และคณะ ได้ศึกษาในเซลล์หัวใจห้องบนของ bullfrog ซึ่งได้รายงานว่า แคดเมียมในความเข้มข้นระดับ micromolar มีผลปิดกั้น (block) ที่ calcium channel (ชนิด L) ส่วนแคดเมียมในระดับ millimolar จะมีผลลดแรงบีบตัวของเซลล์หัวใจที่อีกบริเวณหนึ่ง

การศึกษาครั้งนี้ใช้หัวใจห้องบนซ้ายและขวาที่แยกจากหนูขาว โดยเลือก $CdCl_2$ ในความเข้มข้น 40 μM ซึ่งเป็นความเข้มข้นในช่วงที่เห็นผลลดการทำงานของหัวใจได้ ดังรายงานข้างต้น จากผลการศึกษาพบว่า $CdCl_2$ (40 μM) มีผลต่อหัวใจห้องบนซ้าย และห้องบนขวาในลักษณะที่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาที่ 1 พบว่า $CdCl_2$ มีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจห้องบนซ้ายอย่างรวดเร็วตั้งแต่นาทีแรก หลังจากนั้นจะลดลงอีกเล็กน้อยจนค่อนข้างคงที่ ส่วนในหัวใจห้องบนขวา อัตราการเต้นจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป อย่างไรก็ตามเมื่อครบเวลา 15 นาที แล้วทั้งอัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวา และแรงบีบตัวของหัวใจห้องบน ซ้ายก็ลดลงในระดับที่ใกล้เคียงกัน การที่ผลการศึกษาเป็นเช่นนี้อาจจะอธิบายได้ว่า เป็นเพราะความแตกต่างกันในการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ (myocardium) และเนื้อเยื่อ pacemaker (เช่น SA node, AV node) ซึ่ง Fleckenstein (1983) รายงานว่ากระบวนการ excitation-contraction coupling ของกล้ามเนื้อหัวใจจะอาศัยแคลเซียมเป็นหลัก ซึ่งส่วนใหญ่แล้วแคลเซียมจะผ่านเข้าสู่เซลล์โดยผ่านทาง calcium channel เมื่อแคลเซียมเข้าสู่เซลล์แล้วจะจับกับ troponin และมีการหดตัวตามมา จากรายงานของ Pilati และคณะ (1982), Pater และ Sauviat (1988) รวมทั้ง Shepherd และคณะ(1991) ได้ชี้ชัดแล้วว่ากลไกหนึ่งของแคดเมียมคือ การแข่งขันกับแคลเซียมที่ calcium channel ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์ได้น้อยลง การทำงานของหัวใจจึงลดลง นอกจากนี้ Toda (1973b) ยังเสนอว่า แคดเมียมมีผลจับกับ sulfhydryl group ของโปรตีนที่ผิวเซลล์ ซึ่งอาจเป็นโปรตีนที่ควบคุมการขนส่งของโซเดียม และแคลเซียม รวมทั้งแคดเมียมยังมีผลจับกับ sulfhydryl group ของโปรตีนที่ควบคุมการหดตัว (contractile protein) ซึ่งก่อนหน้านี้ Blum (1962 a, b) ได้รายงานว่าแคดเมียมลดการทำงานของเอ็นซัยม์ adenosine triphosphatase ที่ใช้ในการทำงานของ myosin และ actomyosin โดยจับกับ sulfhydryl group เช่นกัน

จะเห็นว่าแคลเซียมมีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจเป็นอย่างมาก ดังนั้นการที่แคดเมียมลดปริมาณแคลเซียมที่เข้าสู่เซลล์ และมีผลกับโปรตีนในเซลล์ จึงลดการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจได้อย่างรวดเร็ว ส่วนในเนื้อเยื่อ pacemaker นั้น Fleckenstein (1983) รายงานว่าการทำงานของ pacemaker อาศัยการผ่านของทั้งแคลเซียมและโซเดียมทาง calcium channel ซึ่งทั้งแคลเซียมและโซเดียมมีผลร่วมกันในการกำหนดคุณสมบัติ automaticity ของ SA node การที่ระดับของแคลเซียม และ/หรือ โซเดียมลดลงต่างก็ทำให้ SA node ทำงานลดลง ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้เมื่อให้แคดเมียมกับหัวใจห้องบนขวาแล้วอัตราการเต้นของหัวใจค่อย ๆ ลดลง อาจมีสาเหตุจากแคดเมียมมีผลแข่งขันกับแคลเซียมที่ membrane channel (Toda,1973a; Hinkle, Kinsella and Osterhoudt, 1987) แต่มีผลน้อยมากในการแข่งขันกับโซเดียม และเมื่อเวลาผ่านไปแคดเมียมมีผลในการปิดกั้น calcium channel มากขึ้น จึงทำให้โซเดียมผ่านเข้าเซลล์ได้น้อยกว่าในช่วงแรก อัตราการเต้นของหัวใจจึงลดลงมากขึ้น นอกจากผลของแคดเมียมต่อ calcium channel แล้ว Toda (1973a) ซึ่งศึกษาผลของแคดเมียมใน sinoatrial nodal pacemaker fiber ของกระต่าย ยังเสนอว่าแคดเมียมมีผลจับกับ Sulfhydryl group ของโปรตีนที่ผิวเซลล์ ซึ่งส่งผลลดการนำแคลเซียมและโซเดียมเข้าสู่เซลล์

จากผลการศึกษาทั้งหมดชี้แนะว่า แคดเมียมมีผลลดปริมาณของแคลเซียมภายในเซลล์ ซึ่งส่งผลให้หัวใจทำงานลดลง ดังนั้นการแก้ไขผลของแคดเมียมวิธีหนึ่งน่าจะทำได้โดยการเพิ่มปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์ เป็นที่ทราบกันแล้วว่าในหัวใจมี β-adrenoceptor อยู่เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง β_1-receptor ผลการกระตุ้น β_1-receptor จะมีการเพิ่มของทั้งแรงบีบตัวและอัตราการเต้นของหัวใจ ดังนั้นในการศึกษาถึงการแก้ไขผลที่แคดเมียมลดการทำงานของหัวใจจึงเลือกใช้สารที่มีฤทธิ์กระตุ้น β_1-receptor คือ isoproterenol, norepinephrine และ epinephrine จากการศึกษาพบว่า isoproterenol ($1x10^{-8}$M, 3×10^{-8} M, 1×10^{-7} M และ 3×10^{-7} M), norepinephrine 3×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 3×10^{-7} M และ 1×10^{-6} M) และ epinephrine (1×10^{-7} M, 3×10^{-7} M และ 1×10^{-6} M) สามารถแก้ไขผลที่แคดเมียมลดอัตราการเต้นหัวใจได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการแก้ไขผลของแคดเมียมต่อแรงบีบตัวของหัวใจนั้นพบว่าเฉพาะ isoproterenol

(3×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 3×10^{-7} M) และ epinephrine (1×10^{-8} M) เท่านั้นที่แก้ไขภาวะดังกล่าวได้สมบูรณ์ ส่วน norepinephrine ในทุกความเข้มข้นที่ใช้แก้ไขภาวะนี้ได้ไม่สมบูรณ์ทั้งสิ้น จากผลการศึกษาดังกล่าวพอจะสรุปได้ว่าสารทั้งสามตัวมีผลแก้ไขฤทธิ์ของแคดเมียมที่ลดอัตราการเต้นของหัวใจได้เป็นอย่างดี ในขณะที่แก้ไขผลของแคดเมียมที่ลดแรงบีบตัวของหัวใจได้ไม่ดีนัก อย่างไรก็ตามผลการแก้ไขของสารทั้งสามตัวมีลักษณะเป็นความสัมพันธ์แบบ dose-response ยกเว้น isoproterenol เพราะพบว่า isoproterenol(3×10^{-7}M) มีผลให้ทั้งอัตราการเต้น และแรงบีบตัวของหัวใจลดลง (รูปที่ 8, 9) ซึ่งอาจเป็นเพราะการกระตุ้น β_1-receptor มากเกินไป เพราะ isoprote renol มีสัมภรรคภาพ (affinity) ต่อ β_1-receptor มากกว่า norepinephrine และ epinephrine ซึ่งสังเกตได้จากผลการทดลองว่า isoproterenol ในความเข้มข้นเพียง 1×10^{-8} M และ 3×10^{-8}M ก็สามารถแก้ไขให้แรงบีบตัว และอัตราการเต้นของหัวใจกลับสู่ปกติได้ตามลำดับ ในขณะที่ norepinephrine และ epinephrine ต้องใช้ความเข้มข้นสูงขึ้น

ในการหาเหตุผลเพื่ออธิบายถึงความแตกต่างกัน ในการแก้ไขผลของแคดเมียมที่ลดอัตราการเต้น และแรงบีบตัวของหัวใจโดย catecholamines นั้น สามารถอธิบายโดยอาศัยความรู้พื้นฐานจาก Fleckenstein (1983) เมื่อมีการกระตุ้น β_1-receptor จะทำให้มีระดับของ c-AMP เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ adenylate cyclase ทำงานมากขึ้น c-AMP จะกระตุ้นการทำงานของ protein kinase A ส่งผลให้มีการ phosphorylate ของโปรตีนในเซลล์เพิ่มขึ้น โปรตีนตัวหนึ่งที่ถูก phosphorylate คือโปรตีนของ calcium channel การ phosphorylate โปรตีนตัวนี้ จะทำให้แคลเซียมผ่านเข้าทาง calcium channel ได้มากขึ้น ระดับของแคลเซียมในเซลล์ก็เพิ่มสูงขึ้น จึงเป็นทางหนึ่งที่แก้ไขผลของแคดเมียมได้ แต่เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับการทดลองแก้ไขผลของแคดเมียมโดยการเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์ (รูปที่ 12 และ 13) ผลการศึกษาชี้ชัดว่า $CaCl_2$ (3×10^{-3} M) สามารถแก้ไขผลที่แคดเมียมลดแรงบีบตัวของหัวใจได้สมบูรณ์ในขณะที่แก้ไขผลของแคดเมียมต่ออัตราการเต้นของหัวใจได้เพียงเล็กน้อย ผลการศึกษานี้ตรงกันข้ามกับการใช้ catecholamines อย่างไรก็ตามผลที่ได้นี้ก็สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Kleinfeld และ Stein (1968), Toda (1973b) รวมทั้ง Pater และ Sauviat (1988) ซึ่งทั้งหมดรายงานว่าการเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์ให้มาก

เกินพอ สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมต่อแรงบีบตัวของหัวใจได้ ในขณะที่ Pilati และคณะ (1982) ซึ่งทำการศึกษาใน papillary muscle ที่แยกจากหัวใจลูกแมว ได้รายงานว่าการเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์ไม่สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมต่อแรงบีบตัวให้กลับเป็นปกติได้ ส่วน Toda (1973a) พบว่าการเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์ ไม่สามารถแก้ไขผลที่แคดเมียมลดการทำงานของ sinoatrial nodal pacemaker fiber ได้

จากผลการศึกษาโดย catecholamines และ $CaCl_2$ สามารถยืนยันให้เห็นถึงความแตกต่างในการทำงานระหว่างกล้ามเนื้อหัวใจ และเนื้อเยื่อ pacemaker ได้เด่นชัดขึ้น ผลการศึกษาชี้แนะว่าการที่ catecholamines มีผลแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจที่รับแคดเมียมได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่การเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์มีผลแก้ไขน้อยมาก อาจจะเป็นเพราะ

1. แคดเมียมมีผลทำให้โซเดียมผ่านเข้าเซลล์น้อยลง เมื่อได้รับแคดเมียมเป็นระยะเวลานานขึ้น ดังนั้นลำพังการเพิ่มระดับแคลเซียมภายนอกเซลล์จึงไม่ ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นมากนัก เพราะการทำงานของ SA node ต้องอาศัยโซเดียมด้วย
2. การทำงานของเนื้อเยื่อ pacemaker น่าจะอาศัยการ phosphorylate ของโปรตีนอื่นด้วย เช่นโปรตีนที่ทำหน้าที่นำโซเดียมเข้าเซลล์ ไม่ใช่เฉพาะโปรตีนของ calcium channel เท่านั้น ดังนั้นการเพิ่มระดับแคลเซียมภายนอกเซลล์จึงแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจที่รับแคดเมียมได้ไม่ดีเท่า catecholamines

และเมื่อพิจารณาถึงผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจที่รับแคดเมียม ผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่า catecholamines แก้ไขภาวะนี้ได้ไม่ดีนัก ส่วนการเพิ่มระดับแคลเซียม ภายนอกเซลล์สามารถแก้ไขได้ดี ซึ่งอาจเป็นเพราะ

1. การทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจอาศัยการผ่านของแคลเซียมทาง calcium channel เป็นหลัก ดังนั้นการเพิ่มระดับแคลเซียมจึงมีผลเพิ่มการทำงานอย่างมาก

2. กล้ามเนื้อหัวใจมีโปรตีนชื่อ phospholamban ซึ่งนับเป็นโปรตีนที่อยู่ที่ membrane ของ SR การเพิ่มระดับของ c-AMP ทำให้มีการ phosphorylate ที่ phospholamban ด้วย ซึ่งทำให้มีการ uptake ของแคลเซียมที่ SR มากขึ้นด้วย (Fleckenstein, 1983) เป็นการเพิ่มปริมาณแคลเซียมใน SR หรืออีกนัยหนึ่งลดปริมาณแคลเซียมใน cytosol (อย่างไรก็ดีเมื่อปริมาณแคลเซียมใน SR เพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อมีการกระตุ้นก็จะมีแคลเซียมหลั่งออกมาได้มากเช่นกัน แรงบีบตัวจะเพิ่มได้มากขึ้นด้วย)

อย่างไรก็ตามผลการแก้ไขโดย $CaCl_2$ และ catecholamines ก็ไม่ได้แตกต่างกันโดยสิ้นเชิงเหมือนในกรณีการแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจ เพราะ isoproterenol ($3x10^{-8}$ M, 1×10^{-7} M และ 3×10^{-7} M) และ epinephrine (1×10^{-6} M) ก็มีผลแก้ไขเช่นเดียวกับ $CaCl_2$ (3×10^{-3} M) จะมีก็เพียง norepinephrine เท่านั้นที่แก้ไขผลของแคดเมียมต่อแรงบีบตัวของหัวใจไม่ได้

เพื่อเป็นการยืนยันผลการศึกษาข้างต้น จึงทดลองแก้ไขผลของแคดเมียมโดยใช้ dibutyryl c-AMP ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ c-AMP ที่ต้านต่อ phosphodiesterase พบว่าถ้าให้ dibutyryl c-AMP หลังจากแคดเมียมลดการทำงานของหัวใจแล้ว จะมีผลการแก้ไขเหมือนกับการให้ catecholamines คือ dibutyryl c-AMP (1×10^{-4} M และ 3×10^{-4} M) สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมต่ออัตราการเต้นของหัวใจได้ดีกว่าผลต่อแรงบีบตัวของหัวใจ เพียงแต่จะเห็นผลช้ากว่า catecholamines เนื่องจากต้องรอเวลาให้ระดับของ dibutyryl c-AMP ในเซลล์มีความเข้มข้นสูงพอก่อน และสำหรับผลของ dibutyryl c-AMP ต่ออัตราการเต้นของหัวใจนั้น พบว่าในระยะแรกจะทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลงไปอีก (รูปที่ 24) ซึ่งก็ไม่ทราบสาเหตุ อย่างไรก็ตามผลที่ได้นี้ก็เหมือนกับการศึกษาของ Yamasaki, Fujiwara และ Toda (1974)

เมื่อทดลองให้ dibutyryl c-AMP (1×10^{-4} M) กับหัวใจก่อนเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงให้แคดเมียมตาม พบว่าอัตราการเต้นของหัวใจลดลงน้อยกว่าหัวใจปกติ อย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ (รูปที่ 28) ในขณะที่แรงบีบตัวของหัวใจที่ได้รับ dibutyryl c-AMP หลังจากรับแคดเมียมแล้วกลับลดลงได้เหมือนกับหัวใจปกติที่ได้รับแคดเมียม (รูปที่ 29) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้นี้ก็ช่วยยืนยันสิ่งที่ได้อภิปรายในตอนต้นได้เป็นอย่างดี ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าถึงจะให้สารที่ช่วยเพิ่มการทำงานของหัวใจก่อน ก็ยังไม่สามารถป้องกันผลของแคดเมียมได้ซึ่ง Toda (1973a) ก็พบว่า $CdCl_2$ (0.02 และ 0.1mM) มีผลลดการทำงานของ sinoatrial nodal pacemaker fiber ที่ได้รับ norepinephrine ก่อนได้เช่นกัน

นอกจากแคดเมียมจะมีผลแข่งขันกับแคลเซียมที่ calcium channel แล้ว ก็ยังมีผลในการจับกับ sulfhydryl group ของโปรตีนทั้งที่ภายในเซลล์และผิวเซลล์ด้วย โดย Blum (1962a,b) ได้ทำการศึกษาใน myosin และ actomyosin ที่แยกจากกล้ามเนื้อของกระต่าย พบว่าแคดเมียม (6.9×10^{-4} M) มีผลลดการทำงานของ adenosine triphosphatase (ATPase) ที่ใช้ในการทำงานของ myosin และ actomyosin ซึ่งเอ็นไซม์นี้ประกอบด้วย sulfhydryl group อย่างน้อย 2 กลุ่ม ที่มีหน้าที่แตกต่างกัน และ cysteine (1×10^{-2} M) แก้ไขภาวะดังกล่าวได้ไม่สมบูรณ์ ในปี 1965 Kleinfeld และคณะ ได้ศึกษาผลของแคดเมียมในหัวใจที่แยกจากกบ พบว่าการให้หัวใจได้รับ cysteine (0.005 - 0.01 mg/ml) เป็นเวลา 20 นาที ก่อนรับแคดเมียมไม่สามารถป้องกันผลพิษของแคดเมียมได้ ในทำนองเดียวกันการให้ cysteine (0.01 mg/ml) หลังจากรับแคดเมียมก็ไม่สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมต่อหัวใจได้ ต่อมา Toda (1973b) ซึ่งศึกษาผลของแคดเมียมในหัวใจห้องบนซ้ายที่แยกจากกระต่าย พบว่า cysteine (1 mM) และ glutathione (1 mM) สามารถแก้ไขผลที่แคดเมียม (0.02 mM) ลดแรงบีบตัวของหัวใจได้ ส่วนผลที่แคดเมียมกด action potential นั้นสามารถแก้ไขได้ด้วย cysteine (1 mM), glutathione (1 mM) และ dithiothreitol (1 mM) จากผลการศึกษานี้ชี้แนะให้เห็นว่า แคดเมียมน่าจะมีความชอบพอกับ thiols มากกว่า sulfhydryl group ของโปรตีน ซึ่งจากผลการศึกษาของ Toda (1973a) ที่พบว่า cysteine แก้ไขผลของแคดเมียมที่ลดการทำงานของ SA node ได้ก็ช่วยยืนยันว่าแคดเมียมมีความชอบพอกับ thiols มากกว่า sulfhydryl group ของโปรตีน

จากผลการศึกษาในครั้งนี้เมื่อให้ DTT และ cysteine เพื่อแก้ไขผลที่แคดเมียมลดการทำงานของหัวใจ พบว่า DTT (1×10^{-5} M และ 3×10^{-5} M) ให้ผล แก้ไขแรงบีบตัวของหัวใจที่ลดลงได้ดีกว่าการแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจ (รูปที่ 18 และ 19) ซึ่งเมื่อใช้ cysteine ก็พบว่ามีรูปแบบการแก้ไขเช่นเดียวกัน (รูปที่ 16 และ 17) ผลการศึกษานี้ชี้แนะว่าแคดเมียมมีผลต่อ sulfhydryl protein ของกล้ามเนื้อหัวใจ และ เนื้อเยื่อ pacemaker ไม่เท่ากันโดยแคดเมียมมีผลต่อทั้งโปรตีนที่ควบคุมการขนส่งสารที่ผิวเซลล์และโปรตีนที่ควบคุมการหดตัว (contractile protein) ในกล้ามเนื้อหัวใจ (Blum 1962a, b ; Toda 1973b) ส่วนในเนื้อเยื่อ pacemaker แคดเมียมมีผลต่อโปรตีนที่ควบคุมการขนส่งสารที่ผิวเซลล์ (Toda, 1973a) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ DTT เป็น 1×10^{-4} M และ3×10^{-4} M พบว่า DTT สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมต่ออัตราการเต้น และแรงบีบตัวของหัวใจได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเป็นเพราะ DTT ออกฤทธิ์ ป้องกัน sulfhydryl group ได้มากเกินพอ นอกจากนี้จากผลการศึกษายังมีข้อสังเกตที่น่าสนใจอีก 2 ข้อ คือ

1. DTT สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมได้ดีกว่า cysteine ซึ่ง Toda (1973b) ก็ได้กล่าวอ้างว่า DTT เป็นตัวรีดิวซ์ที่แรงมากสำหรับ disulfide group และจากการที่แคดเมียมมีความชอบพอกับ thiols มาก จึงเป็นไปได้ว่าแคดเมียมจะทำปฏิกิริยากับ DTT ซึ่งเป็น dithiols ได้ดี ผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับ Toda (1973b) ที่ทำในหัวใจห้องบนซ้ายของกระต่าย แต่ก็สอดคล้องกับ Kleinfeld และคณะ(1965) รวมทั้ง Blum(1962a, b) อย่างไรก็ตาม Kleinfeld และคณะ (1965) ซึ่งทำการศึกษาในหัวใจที่แยกจากกบ ใช้ความเข้มข้นของ cysteine เพียง 0.053 mM ซึ่งน้อยมาก จึงอาจไม่เห็นผลในการแก้ไข ส่วน Blum (1962a, b)ใช้ความเข้มข้นของ cysteine ถึง 1×10^{-2} M ก็ยังคงเห็นผลการแก้ไขเพียงเล็กน้อย ซึ่งผลการศึกษาทั้งหมดทำให้บอกได้ว่าอาจมีความแตกต่างกันในการตอบสนองผลของ cysteine โดยสัตว์ทดลองแต่ละประเภท
2. เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ DTT และ cysteine เป็น 1×10^{-3} M กลับเห็นผลการแก้ไขลดลง ซึ่งอาจเป็นเพราะเกิดการรีดิวซ์ disulfide group ของโปรตีนอื่น ๆ และส่งผลรบกวน หรือรบกวนการทำงานของเซลล์

ในส่วนของการศึกษาผลของแคดเมียมต่อหัวใจ ในสภาพที่ขาดสารสื่อประสาทของระบบประสาทซิมพาเธติก ซึ่งทำโดยการให้ tyramine หรือ reserpine พบว่าแคดเมียมมีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจในสภาพนี้ได้มากกว่าหัวใจปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 31) ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจก็ลดลงเช่นกัน แต่น้อยกว่าการลดลงของแรงบีบตัวของหัวใจ (รูปที่ 30) เป็นที่ทราบกันว่า สารสื่อประสาทระบบประสาทซิมพาเธติก คือ norepinephrine ในสภาวะปกติ norepinephrine กระตุ้น β_1-receptor ทำให้มีการเปิดของ calcium channel (Fleckenstein, 1983) เมื่อขาด norepinephrine การเปิดของ calcium channel ก็ลดลงปริมาณแคลเซียมที่เคลื่อนเข้าในเซลล์ก็ลดลงจากการอภิปรายในขั้นต้น ทราบว่าแคลเซียมมีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจเป็นอย่างมาก ในขณะที่เนื้อเยื่อ pacemaker อาศัยทั้งแคลเซียม และโซเดียม ดังนั้นแคดเมียมจึงมีผลลดแรงบีบตัวของหัวใจที่ขาด norepinephrine ได้มากกว่าการลดลงในอัตราการเต้นของหัวใจ และเมื่อทดลองการแก้ไขผลของแคดเมียมโดยใช้ DTT พบว่า DTT เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจหนูที่ขาด norepinephrine ได้น้อยกว่าหัวใจหนูปกติ ส่วนในการแก้ไขแรงบีบตัวของหัวใจนั้น DTT (1×10^{-4} M, 3×10^{-4} M และ 1×10^{-3} M) สามารถเพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจที่ขาด norepinephrine ได้ดีกว่าหัวใจปกติ (รูปที่ 33, 35) ซึ่งก็ไม่ทราบสาเหตุ อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ก็ช่วยสนับสนุนว่าแคดเมียมมีผลต่อ sulfhydryl protein ของกล้ามเนื้อหัวใจและเนื้อเยื่อ pacemaker ไม่เท่ากัน หรืออีกนัยหนึ่ง sulfhydryl protein มีความสำคัญต่อการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ และเนื้อเยื่อ pacemaker ไม่เท่ากัน

สำหรับการแก้ไขผลของแคดเมียมต่อหัวใจโดยใช้ amrinone พบว่าไม่ได้ผลในหนูขาวแต่แก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจที่ลดลงเนื่องจากแคดเมียมในหนูตะเภาได้ (ตารางที่ 2-6) amrinone เป็นตัวยับยั้งที่เฉพาะเจาะจงของ phosphodiesterase III ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อ c-AMP (Hayes et al, 1984) ทำให้มีระดับของ c-AMP เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งส่งผลให้มีการนำแคลเซียมเข้าเซลล์มากขึ้น และมีการ uptake ของแคลเซียมที่ SR มากขึ้นด้วย (Morner and Wohlfart, 1990) ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้ควรจะเหมือนกับการศึกษาโดยใช้ dibutyryl c-AMP แต่ที่ได้ผลการศึกษาตามที่รายงานข้างต้น อาจเป็นเพราะหนูขาวไม่ตอบสนองต่อ amrinone หรืออาจเป็นเพราะใช้ปริมาณยาน้อยเกินไป เพราะ Shalid

และ Roger (1989) รายงานว่าค่า EC_{50} ของ amrinone ในการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจห้องบนขวาของกระต่ายเท่ากับ 295 $\pm$ 68 μM ส่วน EC_{50} ในการเพิ่มแรงบีบตัวของ papillary muscle ที่แยกจากหัวใจกระต่ายเท่ากับ 3400 $\pm$ 700 μM อย่างไรก็ดี Sys, Boels และ Brutsaert (1987) รายงานว่า amrinone (30 μM - 300 μM) มีผลเพิ่มแรงบีบตัวของ trabecular muscle ที่แยกจากหัวใจสุนัข ส่วน Earl, Linden และ Weglicki (1986) รายงานว่า amrinone ในความเข้มข้นสูงมีผลลดการทำงานของ c-AMP dependent protein kinase ซึ่งทำให้หัวใจทำงานลดลง ดังนั้นผลการศึกษาโดยใช้ amrinone นั้นต้องทำการศึกษาต่อไป

Serotonin สามารถเพิ่มแรงบีบตัว และอัตราการเต้นของหัวใจได้ แต่ก็พบว่าแก้ไขผลที่แคดเมียมลดการทำงานของหัวใจได้ไม่สมบูรณ์ Sakai และ Akima (1979) ได้ทำการทดลองในหัวใจหนูขาวโดยวิธี blood perfusion และรายงานว่าแรงบีบตัวของหัวใจที่เพิ่มเนื่องจาก serotonin เกิดจากการกระตุ้นที่ serotonin receptor โดยตรง ส่วน Higgins และคณะ(1981a,b) ทำการทดลองทั้งในหัวใจที่แยกออกจากหนูขาวและในเซลล์ของหัวใจ พบว่าการเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจโดยserotonin เกิดจากกลไกร่วมระหว่างการออกฤทธิ์โดยตรงที่ receptor ของ effector cell กับการกระตุ้นให้มีการหลั่ง norepinephrine สำหรับแรงบีบตัวที่เพิ่มโดยserotoninนั้นเกิดจากฤทธิ์กระตุ้นที่ specific receptor ที่ postsynaptic site โดยไม่มีการหลั่งหรือปลดปล่อย norepinephrine แต่อย่างใด จากรายงานดังกล่าวร่วมกับผลการศึกษาที่ได้พบว่ามีความสอดคล้องกัน โดย serotonin สามารถแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจที่ลดลงเนื่องจากแคดเมียมได้ดีกว่าการแก้ไขในแรงบีบตัวของหัวใจเพราะมีการหลั่งของ norepinephrine ด้วย ซึ่งจากการอภิปรายในขั้นต้นแสดงว่า norepinephrine มีผลแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจได้ดีถ้ามีปริมาณสูงพอ

สำหรับการใช้ ouabain เพื่อแก้ไขผลของแคดเมียมต่อหัวใจนั้น พบว่า ouabain แสดงทั้งฤทธิ์โดยตรงและฤทธิ์โดยอ้อมต่อหัวใจ ฤทธิ์โดยตรงเกิดจากการยับยั้ง sodium pumpซึ่งส่งผลให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์มากขึ้น ส่วนฤทธิ์โดยอ้อมนั้นจะเกี่ยวข้องกับระบบประสาทอัตโนมัติที่มาเลี้ยงหัวใจ โดย ouabain ในความเข้มข้นระดับ 10^{-7} M ถึง 10^{-6} M มักจะทำให้

เกิดภาวะหัวใจเต้นช้าลง (Gillis and Quest, 1980) โดยจากผลการศึกษาของ Gaffney และคณะ (1958)ร่วมกับ Toda และ West (1966) แสดงให้เห็นว่า ouabain ทำให้ SA node ไวต่อ acetylcholine มากขึ้น ในทำนองเดียวกัน Mendez และ Mendez (1957) รายงานว่า ouabain มีผลกระตุ้น (excite)เส้นประสาท vagus รวมทั้ง เส้นประสาทอัตโนมัติอื่น นอกจากนี้การศึกษาของ Mendez และคณะ (1961) เสนอว่า ouabain มีฤทธิ์ antiadrenergic ซึ่งต่อมา Ten Eick และคณะ (1967) ก็ยืนยันผลนี้ การศึกษาทั้งหมดช่วยสนับสนุนผลการศึกษาที่ปรากฏ คือ ouabain (1×10^{-6} M และ 3×10^{-6} M) มีผลเสริมกับแคดเมียม ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลงมากขึ้น แต่ ouabain (3×10^{-5}M และ 1×10^{-4} M) สามารถเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจที่รับแคดเมียมได้ โดยเฉพาะ ouabain (1×10^{-4} M)สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมได้อย่างสมบูรณ์ Gillis และ Quest (1980) ได้รวบรวมผลการศึกษาเกี่ยวกับ ouabain และ รายงานว่า ouabain (10^{-4} ถึง 10^{-3} M) สามารถเพิ่มการหลั่งของ norepinephrine ได้ ดังนั้นจากการที่ ouabain (1×10^{-4} M) สามารถแก้ไขผลของแคดเมียมได้อย่างสมบูรณ์นั้น น่าจะเป็นผลจากการเพิ่มการหลั่งของ norepinephrine เพราะจากการอภิปรายข้างต้นชี้แนะว่า ลำพังการเพิ่มปริมาณของแคลเซียมในเซลล์โดยผลโดยตรงของ ouabain ไม่น่าจะแก้ไขผลของแคดเมียมได้สมบูรณ์ ส่วนการแก้ไขผลที่แคดเมียมลดแรงบีบตัวของหัวใจนั้น พบว่า ouabain ($1x10^{-4}$ M) สามารถแก้ไขผลดังกล่าวได้สมบูรณ์ ซึ่งก็คงเป็นผล เนื่องจากการเพิ่มการหลั่งของ norepinephrine เช่นกัน จากผลการศึกษาทั้งหมดชี้แนะว่า ผลการแก้ไขของแคดเมียมมาจากทั้งฤทธิ์โดยตรง และฤทธิ์โดยอ้อม ซึ่งถ้าต้องการศึกษาถึงฤทธิ์โดยตรงก็ทำได้โดยการให้ ouabain ร่วมกับ β-Blocker หรือ anticholinergic drug

จากรูปที่ 20-23 ซึ่งทดลองแก้ไขผลของแคดเมียมโดยใช้ $CaCl_2$ หรือ isoproterenol ร่วมกับ DTT โดยความเข้มข้นของสารทั้งสามตัวอยู่ในระดับที่แก้ไขผลของแคดเมียมได้ไม่สมบูรณ์ การศึกษาชี้แนะว่า DTT (3×10^{-5} M) เสริมฤทธิ์กับ isoproterenol (3×10^{-9} M) หรือ $CaCl_2$ (3×10^{-3} M) ในการแก้ไขอัตราการเต้นของหัวใจที่รับแคดเมียมในลักษณะ synergism ผลการศึกษานี้ช่วยสนับสนุนสมมุติฐานของ Toda (1973a) ที่ว่า sulfhydryl protein ที่ผิวเซลล์มีผลเกี่ยวข้องกับการขนส่งของโซเดียมที่ผิวเซลล์ตาม

ที่ได้อภิปรายแล้วในข้างต้น ส่วนการแก้ไขผลที่แคดเมียมลดแรงบีบตัวของหัวใจนั้น พบว่า DTT (3×10^{-5} M) เสริมฤทธิ์กับ isoproterenol(1×10^{-8} M) หรือ $CaCl_2$ (1×10^{-3} M) ได้สมบูรณ์เช่นกัน แต่ผลการศึกษาไม่สามารถชี้ได้ว่าเป็นการเสริมฤทธิ์แบบใด ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไปอีก เพราะการแก้ไขผลของแคดเมียมโดยใช้สารสองชนิดในความเข้มข้นต่ำน่าจะมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียวในความเข้มข้นสูง

จากผลการศึกษาที่ปรากฏในรูปที่ 36,37 และตารางที่ 7,8 แรกทีเดียวต้องการทราบว่าแคดเมียมมีผลยับยั้งการหดเกร็งที่ถูกชักนำโดย caffeine (caffeine induced contracture) หรือไม่ Endo (1985) เสนอว่า caffeineในความเข้มข้นสูงกว่า 25 mM กระตุ้นให้ SR หลั่งแคลเซียมออกมาได้จนเกือบหมด ทั้งการศึกษาใน skinned fiber และกล้ามเนื้อปกติ แคลเซียมที่หลั่งออกมามีผลเพิ่มการทำงานของ contractile protein ส่งผลให้เกิดภาวะการหดเกร็ง (contracture) ของกล้ามเนื้อ จากการศึกษาของ Blum (1962a,b) แสดงให้เห็นว่า adenosine triphosphatase ที่ควบคุมการทำงานของ myosin และ actomyosin มี sulfhydryl group ในโครงสร้าง ซึ่งแคดเมียมอาจมีผลยับยั้งการหดเกร็งโดยจับกับ sulfhydryl group แต่จากผลการศึกษาพบว่าการหดเกร็งกลับเพิ่มมากขึ้นในหัวใจที่ได้รับแคดเมียม (40 μM) ก่อนเป็นเวลา 15 นาที ซึ่งดูเหมือนกับว่ามีระดับของแคลเซียมภายในเซลล์สูงขึ้น ผลการศึกษาเช่นนี้อาจจะอธิบายได้ด้วยการวิจัยของ Verbost, Senden และ Van Os (1987) ซึ่งพบว่าแคดเมียมในระดับความเข้มข้น 10^{-9} M มีผลยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่ควบคุมการขนส่งแคลเซียมที่ผิวเซลล์ (Ca^{2+}-pumping ATPase) ซึ่งเอ็นไซม์นี้ทำหน้าที่ pump แคลเซียมออกนอกเซลล์ ถ้ามีระดับของแคลเซียมในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งเอ็นไซม์นี้มี sulfhydryl group ในโครงสร้าง นอกจากนี้ในปี 1989 Verbost และคณะศึกษาพบว่าแคดเมียมมีผลยับยั้ง Ca^{2+}-pumping ATPase ของเซลล์เม็ดเลือดแดงเช่นกัน จากผลการศึกษาทั้งสองจึงเป็นไปได้ว่า การที่ค่าการหดเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจที่รับแคดเมียมมีค่าสูงขึ้นน่าจะเกิดจากการที่แคดเมียมยับยั้งการทำงานของ Ca^{2+}-pumping ATPase ที่ผิวเซลล์ ทำให้มีระดับของแคลเซียมในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่ง Verbost และคณะ (1987, 1989) ก็ชี้แนะว่าแคดเมียมมีสัมภรรคภาพ (affinity) กับ Ca^{2+}- pumping ATPase เป็นอย่างมาก

จากการศึกษาทั้งหมดพอจะกล่าวโดยสรุปได้ว่า แคดเมียมมีผลลดการทำงานของหัวใจ โดยการปิดกั้น calcium channel และลดการทำงานของ sulfhydryl protein เช่น contractile protein และโปรตีนที่ควบคุมการขนส่งสารที่ผิวเซลล์ ในการแก้ไขผลของแคดเมียมต่อหัวใจนั้น catecholamines ดูเหมือนจะแก้ไขผลที่แคดเมียมลดอัตรา การเต้นของหัวใจได้เป็นอย่างดี ส่วนในการแก้ไขแรงบีบตัวของหัวใจที่ลดลงเนื่องจาก แคดเมียมสามารถใช้การเพิ่มระดับของแคลเซียมภายนอกเซลล์แก้ไขได้ ผลการศึกษาบางส่วนชี้แนะว่า สามารถใช้ catecholamines หรือ $CaCl_2$ ร่วมกับ DTT หรือ cysteine แก้ไขผลของแคดเมียมได้ อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาในหัวใจห้องบนซ้าย และ ขวาที่แยกจากหนูขาว ส่วนในร่างกายนั้น พบว่าแคดเมียมมักไม่มีผลโดยตรงกับหัวใจ แต่จะมีผลต่อไต และหลอดเลือดซึ่งอาจส่งผลให้เกิดความดันโลหิตสูง และมีภาวะหัวใจโตตามมาได้ ดังเช่นการศึกษาของ Smetana และ Glogar (1986) พบว่าผู้ป่วยหัวใจโต (idiopathic dilated cardiomy opathy) 43 คน มีระดับของแคดเมียมในเลือดสูงกว่าคนปกติ นอกจากนี้แคดเมียมที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมก็อยู่ในระดับต่ำ ดังนั้นแคดเมียมอาจไม่ได้ออกฤทธิ์กับ calcium channel (ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นระดับ 10^{-6} M) แต่ไปมีผลต่อ sulfhydryl protein ที่ควบคุมการขนส่งสารที่ผิวเซลล์ เช่น Ca^{2+}-pumping ATPase ซึ่งมี affinity สูงต่อแคดเมียม ดังนั้นผลการศึกษาในครั้งนี้คงมีประโยชน์ต่อการศึกษาพิษวิทยาระดับเซลล์ของแคดเมียมในขั้นต่อไป มากกว่าที่จะมีผลต่อการประยุกต์เพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ นอกจากนี้ผลการศึกษายังชี้แนะว่า แคดเมียมอาจมีประโยชน์ในการนำไปใช้เป็น pharmacological tool เพื่อศึกษาถึงกลไกและบทบาทของ sulfhydryl group ในการทำงานของ calcium channel ได้