

Terapötik Potansiyeye Sahip Venom Peptidleri

İlker Kelle

ÖZET

Farmazootikler doğal kaynaklardan elde edilen az sayıdaki ilacı tanımlamada kullanılan bir terimdir. Söz konusu doğal kaynaklar bitkiler ve zehirli yılan, akrep, örümcek, kurbağa, kertenkele ve deniz canlısı türleri olarak sayılabilirler. Zehirin peptid yapılı bileşenleri iyon kanalları ve reseptörler gibi çeşitli farmakolojik hedefler üzerinden etkilerini gösterirler. Bu tarz etkilerinden dolayı zehir bileşimindeki peptidler başlangıçta, memeliler gibi organizmaların fizyolojik, biyokimyasal ve immünolojik faaliyetlerinin tanımlanmasında kullanılmıştır. Son dönemde yapılan çalışmalarda peptid bileşenlerinin otoimmün, kronik enflamatuvar, kardiyovasküler, nörolojik ve tümöral hastalıkların tedavisinde de etkili olabildiği gösterilmiştir. Bu bakımdan özellikle klinik uygulamalarda venom peptidlerine ya da sentetik türevlerine, gösterdikleri yüksek potensin yanında düşük yan etki potansiyellerinden dolayı günümüzün klasik ilaçlarının yerini alacakları gözüyle bakılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Farmazootikler, Peptid Yapılı Zehir Bileşenleri, Yüksek Potens, Düşük Yan Etki.

Therapeutical Potential of Venom Peptides

SUMMARY

The term of pharmazooticals is known as a few amount of drugs derived from natural sources such as plants, venomous species of snakes, spiders, scorpions, frogs, lizards and cone snails. Peptide components of venoms are directed against wide variety of pharmacological targets such as ion channels and receptors. At the beginning, a number of these peptides have been used in experimental studies for defining the physiological, biochemical and immunological activities of organisms like mammalians. In recent studies, it has been shown that venom peptides can be valuable in treatment of acute and chronic pain, autoimmune and cardiovascular diseases, neurological disorders and chronic inflammatory and tumoral processes. Therefore particularly in clinical approaches, these peptide molecules or their synthetic analogues are considered as alternative agents that can be used instead of classical drugs for many clinical disorders due to their potent activity besides very few side effects.

Key Words: Pharmazooticals, Venom Peptides, Potent Activity, Few Side Effects.

Terapötik potansiyeye sahip venom peptidleri

Farmazootikler, doğal kaynaklardan elde edilen az sayıdaki ilacı tanımlamada kullanılan bir terimdir. Sığır veya domuz pankreası, at idrarı, yılan, örümcek ve akrep zehiri ile gila kertenkelesinin tükrük salgısı, yaşam kurtarıcı bir takım ilaçların geliştirilmesi sürecine

doğrudan yada dolaylı katkıda bulunan hayvansal kaynaklar olarak sayılabilirler (1).

Toksinler bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda savunma ve beslenme süreçlerinin idamesine katkıda bulunmak üzere üretilen peptid ve non – peptid yapısındaki



moleküllerin özel karışımlarıdır. Peptid ve non-peptid yapıları bileşenlerinin potans ve stabilite bakımından sergilediği sıradışı özellikleriyle bu karışım, günümüzde insan ve diğer memeli türlerinde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin tanımlanmasına ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır. Araştırmalar biyotoksin kaynağı olarak deniz salyangozları ve yumuşakçaları, örümcekler, akrepler, kurbağalar, yılanlar ve Gila kertenkelesi üzerinde yoğunlaşmış durumdadır (1).

Sayılan canlılar ve benzerleri üzerinde terapötik amaçlı ilaç geliştirilmesine yönelik kapsamlı çalışmalar ilk olarak 1921 yılında başlamıştır. Bu tarihte insülini ve kan şekerini düşürücü etkisini keşfeden Kanada'lı cerrah Frederick G. Banting, Nobel ödülüyle onurlandırılmıştır. Frederick G. Banting'in bu keşfi, milyonlarca diabet hastasının yaşamını kurtarmakla kalmamış, aynı zamanda Tıp, Moleküler Biyoloji, Hücre Biyolojisi, Genombilim ve benzeri alanlardaki bilimsel çalışmalara da büyük katkılar sağlamıştır (1).

Teknolojik açıdan bugün gelinen yer itibarıyla hayvansal ve/veya bitkisel kaynaklı bir maddenin izole edilmesi, tanımlanması, biyolojik sistemlerle etkileşimi ve hepsinden önemlisi terapötik açıdan farmakolojik özelliklerinin ortaya konulması şeklinde özetlenebilecek ilaç geliştirilmesine yönelik çalışmalar, daha gerçekçi ve verimli bir şekilde yapılabilmektedir. Bu sürecin başlangıcında yaşanan ilaç niteliğindeki zehir bileşenlerinin insanlarda ve diğer memeli türlerinde doğal halleriyle uygulanması zorunluluğu artık ortadan kalkmıştır. Laboratuvar ortamında molekülün kimyasal yapısında küçük değişiklikler oluşturularak elde edilen sentetik türevlerin, farmakolojik anlamda doğal moleküle göre yapıca kararlılık, yüksek potans ve düşük yan etki sıklığı ve şiddeti gibi avantajlarıyla klinikte pek çok hastalıkta etkili olabildiği görülmüştür (2).

Zehir bileşenlerinin tanımlanması

Sayılan canlıların salgıladığı zehirin bileşimindeki peptidlerin ayrıştırılmasında kullanılan ilk yöntem, geleneksel denemeyanılma yöntemidir. Zehirler üzerindeki ilk çalışmalarda kullanılmış olan bu yöntem

zaman içerisinde yerini peptidlerin ayrıştırılması ve tanımlanmasının yanısıra hedef dokularla etkileşimini de ortaya koyabilen moleküler biyoloji (Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Kütle spektrometrisi) ve nükleer tıp tekniklerine (Radyoizotop ile işaretlenme) bırakmıştır (2).

Son dönemde kullanılmaya başlanan ALPHA (Amplified Luminescent Proximity Homogenous Assay) görüntüleme yöntemi sayesinde çok küçük miktarda zehir kullanılarak bileşenlerin spesifik iyon kanalları ve reseptörler ile olan etkileşimi ve sayılan yapılara ait alt-tiplerin tanımlanması mümkün olmuştur (3).

Yeni bir floresans bazlı tanı yöntemi olan Image Trak[™] ile hücre içerisinde Ca⁺⁺ iyonuyla ilgili süreçler görüntülenebilmektedir (3).

HydroGel gibi kompleks moleküler yapıları substratlar, zehir bileşimindeki peptidleri tanımlamak amacıyla geliştirilmiştir. HydroGel'in aynı zamanda, sitokin araştırmaları, çeşitli enzimatik faaliyetler ve peptidlerin hedef yapılarla olan etkileşimlerinin tanımlanmasına yönelik çalışmalarda oldukça faydalı bir yöntem olduğu ifade edilmektedir (3).

Zehirlerin bileşimi

Zehirin bileşimindeki peptidlerin bir çoğu biyolojik açıdan aktif moleküllerdir. Biyoaktif molekül çeşitliliği bakımından deniz salyangozları, bazı balıklar ve diğer deniz yumuşakçaları ayrı bir başlık altında incelenirler. Yaklaşık 500 farklı türde deniz canlısının salgıladığı zehirin bileşimindeki konotoksin ve konopeptidler, küçük moleküllü olmaları, kolaylıkla sentezlenebilmeleri, hedef seçiciliği göstermeleri ve kararlı bir yapı sergilemeleri gibi özellikleriyle farmakolojik açıdan özel ajanlar olarak nitelendirilmektedir. 50000'in üzerinde konopeptid türü bulunmaktadır ancak bunun sadece %0,1'lik bir kısmı farmakolojik açıdan tanımlanabilmiştir. Konopeptidler deniz canlılarının yanısıra daha büyük moleküler yapıda olmak kaydıyla örümcek, yılan ve akrep zehrinde de bulunabilir (2).

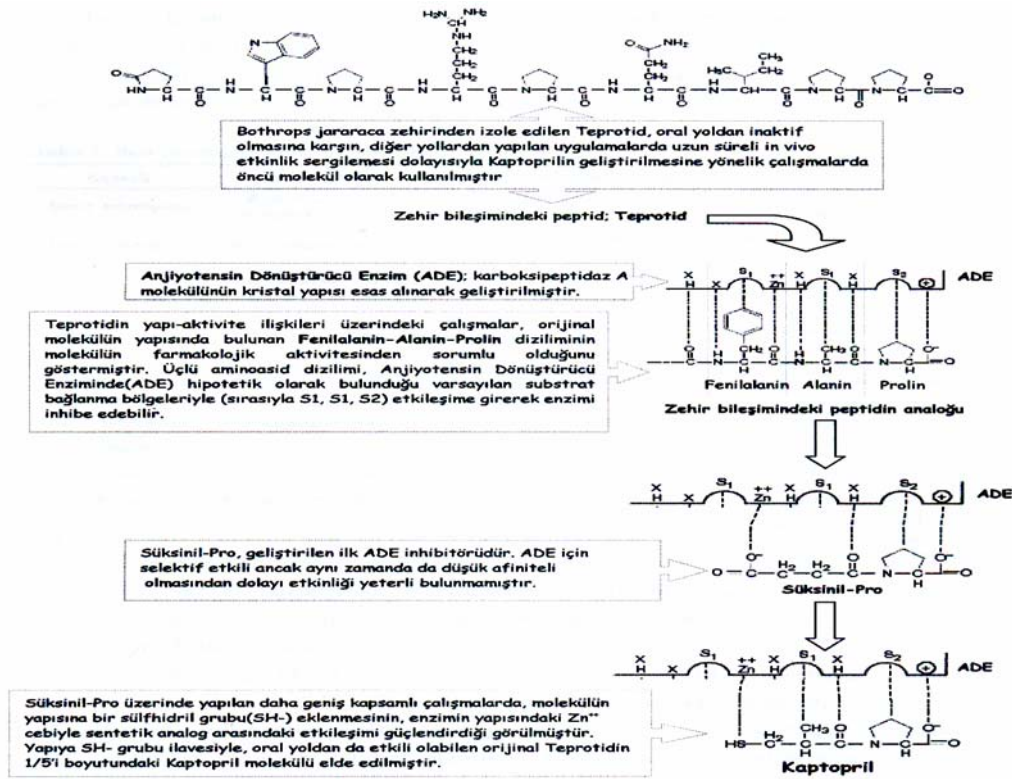
Zehir bileşimindeki peptidler, kimyasal ve enzimatik yıkıma karşı oldukça dirençli moleküllerdir. Normal vücut ısısında kararlı bir yapı sergilerler. Peptidlerin bu özelliği



kazanmalarında, sentezlenmeleri sonrasında uğradıkları post-translasyonel modifikasyon (PTM) işlemi ve/veya molekül içi disülfid bağlarının oluşumu rol oynamaktadır. PTM'ye örnek olarak amidasyon, hidrosilasyon, karboksilasyon ve D-amino asitlere izomerizasyon verilebilir. Bununla birlikte zehir bileşenlerinin kararlı bir yapı sergilemeleri ve hedef dokular üzerinde seçici etkiler oluşturmaları her zaman terapötik amaçlı kullanımları için yeterli olmayabilir. Formülasyon güçlüğü ve üretim maliyetlerinin yanısıra yapıcı kararlılık, seçici etkinlik ve etki mekanizmaları gibi bazı konulardaki belirsizlikler, peptidlerin terapötik amaçlı kullanımlarını sınırlamaktadır. Ayrıca görece büyük molekülü ve hidrofilik yapıyı olmaları nedeniyle peptidler, kan – beyin bariyeri gibi epitelyal engelleri güçlükçe aşabilirler. Zira 10-40 amino asitli peptid moleküllerinin oral biyoyararlanımı oldukça düşük seyretmektedir. Bu durum, söz konusu ajanların terapötik amaçlı kullanımlarında etkileşime girecekleri hedef dokulara ulaşabilmeleri için intravenöz, intratekal, intraperitone-

al, intramuskuler, subkutan ya da epidural enjeksiyon yoluyla uygulanmalarını gerektirirler (2).

Ancak peptidlerin sentetik türevlerinin kullanılması, doğal peptidler için geçerli olan sayılan sınırlayıcı durumları terapötik uygulamalar lehine değiştirebilir. Bu tarz bir yaklaşım bilhassa konakçının bağışıklık yanıtından kaçamayacak derecede büyük moleküler yapıli peptid bileşenleri için kullanışlıdır. Laboratuvar ortamında orijinal molekül üzerinde yapılan çok küçük değişiklikler sentetik analoga doğal peptidde bulunmayan bazı özellikler kazandırır. Örneğin bağışıklık yanıtını uyarmadan biyolojik membranları aşabilme özelliği kazanan sentetik analogların oral biyoyararlanımları da belirgin olarak artar. Ancak bu durumda da santral sinir sisteminde etkili olması istenen bir sentetik ajanın periferik yan etkilerinde artış gözlenir. Buna göre bir sentetik türevin molekülünde yapılacak değişikliklerin terapötik amaca uygun nitelikte olması, tedavinin başarısını belirleyecek en önemli husus olarak kabul edilmektedir (Şekil 1)(2).



Şekil 1. Bir biyotoksinden ilaç geliştirilmesi sürecinin en tipik örneği, ADE İnhibitörü olan Kaptopril'dir (2, 4).

Venom peptidlerinin farmakolojik özellikleri

Zehir bileşenleri etkilerini, hücre membranında bulunan protein yapısındaki kanallar ve reseptörler üzerinden oluştururlar. Örneğin konopeptidler, memelilerde ağrı duyusu ile ilgili yollarda bulunan nikotinik asetilkolin reseptörleri (α -konotoksinler), norepinefrin geri-alım pompası (χ -konopeptidler), sodyum kanalları (μ - ve μ O-konotoksinler), kalsiyum kanalları (ω -konotoksinler), NMDA reseptörleri (konantokinler) ve nörotensin reseptörleri (kontulakinler) gibi yapılara karşı yüksek afinite gösterirler. Kanal ve reseptörlerin sergilediği yapısal farklılıklar, peptidlerin ve/veya analoglarının oluşturduğu etkilerin çeşitliliğinde anahtar rol oynamaktadır (Tablo 1) (2, 4, 5).

Tablo 1. Bazı venom peptidlerinin farmakolojik özellikleri (2,4,5)

Kaynak	Peptid molekülü	Hedef yapı üzerindeki etki	Terapötik etkinlik
Deniz salyangozu	Konotoksin α -GI Konotoksin α -GID	N_M ACh reseptör antagonisti N_N ACh reseptör antagonisti	Kürar-benzeri kas gevşemesi Analjezik etki
Deniz salyangozu	Konotoksin μ -PIIIA	TTX-S Na^+ -kanal (VSCC) inhibitörü	Serebrovasküler olay, Epilepsi, Nöropatik ağrı ve Aritmiler
Deniz salyangozu	Konotoksin ω -MVIIA Konotoksin ω -CVID	$Ca_v2.2$ (N-tipi Ca^{++} kanalı) inhibitörü	Nöropatik ağrıda analjezik etki
Deniz salyangozu	Konotoksin χ -MrlA	Noradrenalin geri alım inhibitörü	Antidepresan ve/veya psikostimulan etki aracılı analjezik etki, Üriner inkontinans tedavisi
Deniz salyangozu	Konotoksin ρ -TIA	α 1-adrenoseptör inhibitörü	Hipertansiyon tedavisi
Deniz salyangozu	Konantokin G	NMDA reseptör inhibitörü	Analjezik etki
Deniz salyangozu	Kontulakin G	Nörotensin reseptör agonisti	Analjezik etki
Örümcek	GsMTx4	Mekanosensitif kanal inhibitörü	Atriyal fibrilasyon tedavisi
Akrep	Klorotoksin	Cl^- kanalı inhibitörü	Bein tümörleri (Gliomalar)
Akrep	Margatoksine (MgTX)	K^+ , 1.1, 1.2, 1.3 kanal blokeri	İmmüno-supresif etki
Deniz anemону	ShK	K_v 1.1, 1.3 kanal blokeri	Multipl skleroz ve Tip I DM, Psöriazis ve Romatoid artrit gibi diğer otoimmün hastalıklar

Sinir ve kas hücrelerinde elektriksel sinyallerin oluşumunda voltaj bağımlı iyon kanalları başlıca sorumlu tutulan yapılardır. Spesifik iyon kanalları üzerine olan etkilerinden ötürü biyotoksinler, hücrelerin elektriksel aktivitesinin tanımlanmasına yönelik çalışmalarda da yaygın olarak kullanılan maddeler haline gelmiştir. Bu yöndeki çalışmaların sonuçlarına göre biyotoksinler, sayılan yapılar üzerindeki selektif bloke edici etkileriyle pek çok otoimmün, enflamatuvar, tümöral, kardiyovasküler ve nörolojik hastalığın tedavisinde de değerli olabilirler. Zira bazı epilepsi, sağırılık ya da kardiyak aritmi tipleri protein yapısındaki iyon kanallarında mutasyonlarla ilişkili fonksiyon bozukluklarından ileri gelmektedir (Tablo 1) (4).

Biyotoksinler ve ağrı

Sinir uçlarında nörotransmitter salınımının tetikleyicisi, voltaja duyarlı Ca^{++} kanalları (VSCC) aracılığıyla hücre içine giren Ca^{++} iyonudur. VSCC, elektrofizyolojik ve farmakolojik özelliklerine göre 6 gruba ayrılırlar ve L-, N-, P-, Q-, T- ve R- tipi kanallar olarak adlandırılırlar. Farklı nöronal yapılardan nörotransmitterlerin salınım sürecinde, değişik Ca^{++} kanal tipleri görev almaktadır. ω -konotoksinler, değişik nöronal VSCC tiplerinin fizyolojik özelliklerinin incelendiği çalışmalarda seçici inhibitör etkileriyle tanısal anlamda başarılı olmuş ajanlardır. Deniz salyangozu, örümcek ve yılan zehirinde de VSCC üzerine etkili çeşitli peptidler bulunmaktadır (2, 4).

Çıkan ağrı yollarında varlığı gösterilmiş olan N-tipi VSCC ($Ca_v2.2$) ile bu kanalların $\alpha 2\delta 1$ alt tiplerinin sayıları kronik ağrı olgularında artış gösterir. ω -konotoksinler, N-tipi VSCC'na spesifik olan ajanlardır ve söz konusu kanalları bloke etmek suretiyle potent bir analjezi sağlarlar. ω -konotoksinler ile ilgili yapı-aktivite çalışmaları sonucunda elde edilen ω -CVID ve ω -MVIIA gibi sentetik analogların, N-tipi VSCC'na karşı spesifitelerinin diğer VSCC tiplerine göre 100 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. ω -CVID, aynı zamanda, yine ağrı duyusunun santrale iletiminde görev aldığı ifade edilen para-



sempatik sinir uçlarındaki, blokaja nispeten daha dirençli R-tipi VSCC'ını da inhibe edebilir. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, özellikle çıkan ağrı yollarındaki spesifik VSCC (özellikle $\alpha 2\delta 1$ alt birimlerinden oluşanlar) üzerine etkili inhibitörler daha hafif yan etkiler oluşturarak analjezik etkinlik sağlamaktadır. ω -CVID ve ω -MVIIA'nın subnanomolar dozlarda intratekal bolus enjeksiyonları sonrasında enflamatuvar ve nöropatik ağrı modellerinde 24 saat süreli güçlü bir analjezik etki elde edilmiştir. ω -CVID'in terapötik indeksi ω -MVIIA'den daha yüksektir. ω -MVIIA (SNX111 / Ziconotide / Prialt; Elan Pharmaceuticals) Faz III; ω -CVID (AM336; AMRAD) ise Faz II denemeler aşamasındadır (2, 4-6).

Sinir sisteminin fonksiyonlarında VSCC'ın yanısıra voltaja duyarlı Na^+ kanalları (VSSCs) da önemli roller üstlenir. VSSCs, tetrodotoksin (TTX) ile blokaja karşı gösterdiği hassasiyete göre TTX'e duyarlı (TTX-S) ve TTX'e dirençli (TTX-R) olmak üzere iki grupta incelenir. Her iki grubun amino asid dizilimi ve moleküler yapısı büyük benzerlikler gösterir. TTX-S VSSCs, tipI ($Na_v1.1$), tipII ($Na_v1.2$), tipIII ($Na_v1.3$), PN1($Na_v1.7$) ve PN4($Na_v1.6$) kanalları ile çizgili kaslarda bulunan TTX-S $\mu 1$ ($Na_v1.4$) kanallarından oluşur. TTX-R grubunda ise, TTX'e kısmen dirençli olan kardiyak H1 ($Na_v1.5$) kanalları ile PN3 ($Na_v1.8$) ve PN5 ($Na_v1.9$) kanalları bulunur. Yapılan çalışmalarda sayılan VSSC alt tiplerinin ağrı, inme ve epilepsi gibi klinik durumların patojenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Örneğin TTX-R PN3 ($Na_v1.8$) kanalı, nöropatik ağrı duyusunu taşıyan duyuşal nöronlarda bulunur (2, 7).

Santral ve periferik sinir sisteminde önemli görevler üstlenen VSSCs, örümcek, akrep, deniz anemonu ve salyangozu gibi canlıların salgıladığı zehir bileşenlerinin hedefi durumdadır. Ağrı yollarında VSSCs dışında Aside duyarlı iyon kanalları (ASICs)* grubunda yer alan H^+ (proton) bağımlı Na^+ kanalları da bulunmaktadır. Bu kanalların örümcek zehrindeki bazı peptid bileşenleri tarafından spesifik

olarak bloke edilmesi sonucunda güçlü bir analjezik etki geliştiği ifade edilmektedir (2, 8).

Ağrı duyusunun merkezi sinir sistemine (MSS) iletiminde periferik sinir uçlarında bulunan N_NACh reseptörleri, NMDA reseptörleri, nörotensin reseptörleri ve norepinefrin taşıyıcısı (NET) gibi yapılar da görev almaktadır. Nitekim yapılan çalışmalarda deniz salyangozlarının zehirinden izole edilen χ -konopeptid (NET inhibitörü), α -konotoksin (N_NACh reseptör blokörü), konantokin G (NMDA reseptör inhibitörü) ve kontulakin G (Nörotensin reseptör agonisti) gibi peptid bileşenlerinin de ω -konotoksinlere benzer şekilde bağımlılığa ya da ciddi bir yan etkiye yol açmadan güçlü bir analjezi oluşturabildiği gösterilmiştir (2, 6).

Analjezik etki oluşturmak amacıyla kullanılan diğer biyotoksin kaynakları yılanlar ve tropikal iklim kuşağında yaşayan kurbağalardır. Kurbağa derisinden izole edilen epibatidin (ABT594) ile kobra yılanının zehrinde bulunan kobroksin ve niloksinin morfinden çok daha güçlü bir analjezik etki oluşturabildiği gösterilmiştir (1).

Siklotidler, Rubiaceae ve Violaceae familyasına ait tropikal bitkilerde bulunan sirküler yapıda proteinlerdir ve organizmanın savunma sisteminde önemli görevler üstlenirler. Siklotidlerin fonksiyonları antitümöral aktivite, antibakteriyel ve antiHIV etkinlik, insektisidal etki ve nörotensin inhibisyonu olarak sayılabilir. Bu moleküller, deniz salyangozları gibi deniz canlılarının salgıladığı zehrin bileşimindeki konotoksinler ile yapıca büyük benzerlik göstermektedir. Bu açıdan siklotidlerin moleküler yapıları esas alınarak geliştirilecek sentetik türevlerin sayılan in vitro ve in vivo deneysel başarılarının yanısıra konotoksinler gibi analjezik etkiler de oluşturabileceği ifade edilmektedir (9, 10).

Biyotoksinler ve diabet

Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1); ince ve kalın barsaktaki endokrin hücrelerden gıda alımına bağlı olarak salıverilen insülinotropik bir hormondur. GLP-1, mide boşalmasını ve

*Periferik duyuşal nöronlarda bulunan Aside duyarlı iyon kanalları (ASICs), mekanoreseptörlerin fonksiyonlarına ve aynı zamanda da ağrı ile tat duyusunun santrale taşınmasına aracılık eder. Santral sinir sisteminde ise ASICs (retinal gangliyon hücreleri gibi yapılarda), proton(H^+) bağımlı sinirsel iletiminin gelişiminden sorumludur. Bu fonksiyonu ASICs grubunda yer alan H^+ bağımlı Na^+ kanalları gerçekleştirir (2,8).

gıda alımını inhibe ederek kan glukoz seviyelerinin kontrol edilmesine katkıda bulunur. GLP-1 benzeri bir peptid olan Gila kertenkelesi kaynaklı eksendin-4'ün kan glukoz seviyeleri üzerinde in vivo etkili olabildiği görülmüştür.

Günümüzde tedaviye rağmen kan şekeri düzeyleri yüksek seyreden Tip II DM olgularının tedavisinde Gila kertenkelesi tükrüğünden izole edilen eksendin-4 bileşiğinin bir sentetik türevi denenmektedir. Exenatide adı verilen bileşiğin kan şekeri regülasyonuna olumlu yöndeki katkılarına ilaveten kilo verdirici etkilerinin de bulunduğu ifade edilmektedir.

Amylin Pharmaceuticals, metabolik bozukluklar ile biyotoksinler gibi öncü moleküllerin biyolojik sistemlerle olan etkileşimleri üzerinde araştırmalar yapan bir firmadır. Amylin Pharmaceuticals'ın geliştirdiği 39 aminoasitli bir peptid olan AC2993 (Exenatide), GLP-1 benzeri etkisiyle insülin salınımı uyurabildiği gibi gıda alımı sonrasında mide boşalma hızını regüle ederek, sindirim ürünü olan mono ve disakkaridlerin kontrollü bir şekilde kana karışmasını sağlar. Diabetik deney hayvanı modellerinde, oral, sublingual, pulmoner, trakeal ve nazal yolla yapılan uygulamalar sonrasında da AC2993'ün terapötik aktivite sergileyebildiği görülmüştür. Ajan halen Faz III denemeler aşamasındadır (2, 5).

Biyotoksinler ve otoimmün hastalıklar

K^+ kanalları, düz kas ve nöronal eksitabilite, hücre proliferasyonu, elektrolit sekresyonu ve volüm regülasyonu gibi pek çok hüresel fonksiyonda görev alan geniş bir protein ailesidir. K^+ kanal blokajı, klinikte rastlanılan bir çok bozukluğun fizyopatolojisinde rol oynayabileceği gibi bazı durumlarda da terapötik değere sahip olabilir. K^+ kanal blokajı ile terapötik etkinlik sağlanabilen durumlara örnek olarak multipl skleroz (MS), Tip II DM olguları, atrial fibrilasyon, transplant rejeksiyonu ve Tip 4 aşırı duyarlılık reaksiyonu (ADR) verilebilir.

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, voltaj bağımlı $K_v1.3$ kanallarının blokajı ile T_{hc} proliferasyonunun ve tüberkülin deri testinde izlenen Tip 4 aşırı duyarlılık reaksiyonunun (ADR) inhibe olduğu görülmüştür. Dolayısıyla günümüzde $K_v1.3$ kanalları, yeni nesil immünosupresiflerin potansiyel hedefi olarak

kabul edilmektedir (2).

Peptid yapıları K^+ kanal blokerleri arasında kanal proteininin hücre dışı kısımlarına bağlanabilenlerin, diğer K^+ kanal blokörlerine karşı bir takım üstünlükleri bulunmaktadır. Bu peptidler, yüksek bir seçicilik ve potens ile belirli K^+ kanal tiplerine bağlanırlar. Bağlanma hücre dışı yapılarla gerçekleştiğinden hücre metabolizmasında herhangi bir bozukluk ya da yan etki gelişmez. Klinik anlamda ilk test edilen peptid, potent bir $K_v1.1$, $K_v1.2$ ve $K_v1.3$ blokörü olan akrep zehiri (*Centruroides margaritatus*) kaynaklı margatoksin (MgTX)'dir. Deney hayvanlarında MgTX'in T-lenfositlerinin proliferasyonunda ve membran potansiyellerinin kontrolünde rol oynayan $K_v1.3$ kanallarını bloke etmek suretiyle tüberküline bağlı Tip 4 ADR'nu önleyebildiği görülmüştür. Söz konusu inhibisyon enjeksiyon bölgesinde gelişen endürasyonun boyutlarında ve T_{hc} infiltrasyonunda azalma şeklinde gerçekleşmiştir. MgTX'in etkisi potens bakımından bir diğer immünosupresif olan FK 506 (Tacrolimus)'ninki ile yakın bulunmuştur. Deneyler sırasında MgTX'in kesintisiz infüzyonuna bağlı gelişen diyare ve hipersalivasyon dışında önemli bir yan etkiyle karşılaşmamıştır. Buna karşılık plazma konsantrasyonunu 10 nM ve üzerine çıkaran İV bolus enjeksiyonu sonrasında MgTX, deney hayvanlarında olasılıkla yine beyin dokusunda bulunan $K_v1.1$ ve $K_v1.2$ kanallarıyla etkileşime girdiğini düşünderecek şekilde bir hiperaktivasyon haline yol açmıştır. MgTX'in santral yan etkileri özellikle immünosupresif hastalarda önemli olabilir, zira bu grup hastalarda bütünlüğü bozulan kan-beyin bariyeri, santral sinir sisteminde $K_v1.1$ ve $K_v1.2$ kanallarının MgTX'e ile blokajına bağlı epizodik ataksi ve myokimi sendromu benzeri hiperaktivasyon tablosu gelişimine zemin hazırlayabilir. K^+ kanalları üzerindeki spesifik inhibitör etkinliğiyle margatoksinin, otoimmün ve kronik enflamatuar bozuklukların tedavisinde veya tedavisine yönelik yeni ajanların geliştirilmesinde yararlı olabileceği belirtilmektedir (2, 11, 12).

Multipl skleroz (MS), otoimmün orijinli, ataklar ve iyileşme dönemleriyle seyreden bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Beyin ve



medulla spinaliste nöronal yapılarda demiyelinizasyon gelişimi ile karakterizedir. Bu konudaki çalışmaların sonuçlarına göre, MS ve diğer otoimmün hastalıkların patojenezinden $K_v1.3$ kanalları sorumlu tutulmaktadır (2).

Tekrarlayan antijenik stimülasyonlar sonucunda myelin kılıfına reaktif ensefalitöjenik sıçan T-lenfositlerinin hücre yüzeylerinde yüksek miktarlarda $K_v1.3$ kanallarının ekspres olduğu görülür. Nitekim bu T-lenfositlerinin sıçana nakledilmesi sonucunda deneysel otoimmün ensefalomyelit tablosu gelişebilmektedir. Deniz anemonu zehiri kaynaklı bir peptid olan ShK'nın deney hayvanında oluşturulan MS modelinde $K_v1.1$ ve $K_v1.3$ kanallarını bloke ederek ensefalomyelit gelişimini engelleyebildiği görülmüştür. ShK'nın moleküler yapısı MgTX ve benzeri peptid yapıları akrep zehiri bileşenlerinden farklılık gösterir; buna karşılık etki kalıbı MgTX'e benzer niteliktedir. Üç boyutlu yapısıyla ShK, $K_v1.3$ kanalının hücre-dışı kısmına bağlanarak kapanmasını sağlar (2, 13).

MS'lu insanlar üzerindeki çalışmalarda da myeline reaktif T-hücrelerinde deney hayvanındakilere benzer değişiklikler görülmüştür. ShK'nın T-hücrelerinin proliferasyonunu baskılayıcı yöndeki etkisinin klinik olgularda da ortaya konulması, ajanın Tip I DM, psöriazis ve romatoid artrit gibi diğer otoimmün orijinli hastalıkların tedavisinde de başarılı olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 1). ShK'nın MS ve diğer otoimmün hastalıklarda terapötik amaçlı kullanımı hususundaki çalışmalar devam etmektedir (2, 13).

Akrep zehiri bileşenlerinin romatoid artrit, multipl skleroz ve lupus gibi 60'tan fazla otoimmün bozukluğun tedavisinde faydalı olabileceği ifade edilmektedir. Akrep zehiri bileşimindeki peptidler ve türevleri, sayılan kronik enflamatuar süreçlerde T-lenfositlerinin fonksiyonlarını baskılayarak etkili olurlar (14).

Biyotoksinler ve kanser

Yılan zehiri üzerindeki araştırmalar, zehir bileşenlerinin kanser, nörolojik bozukluklar ve enflamatuar süreçler gibi günümüzün sık karşılaşılan hastalıklarında da etkili olabileceğini göstermektedir. Bunun bir örneği de yine engerek yılanı zehiri kaynaklı kontortrostatin'dir. Ajanın sitolitik aktivitesi yoktur, buna

karşılık meme kanserinde sergilediği sitostatik etkinlik ile kanser hücrelerinin çevre dokulara adezyonunu ve invazyonunu önleyebilmektedir. Yine engerek yılanı türlerinden elde edilen atroporin ve kaotreenin kansere karşı aşılama stratejisinde değerli olabileceği ifade edilmektedir. Sayılan ajanların pek çok adenokarsinom ve sarkom modelinde in vivo antitümör etki oluşturabildiği gösterilmiştir (15, 16).

TM601 (klorotoksin), akrep zehiri bileşenlerinden türetilmiş antitümör etkili bir ajandır ve bir beyin tümörü olan gliomalarda terapötik değere sahiptir. TM601 antitümör etkisini, sağlıklı hücreler üzerinde herhangi bir yan etkiye yol açmadan glioma hücreleri üzerinde eksprese olan Cl^- kanallarını bloke ederek gösterir (2, 17).

Lösemi ve lenfoma tedavisinde etkili olabilen ARA-C, deniz süngeri kaynaklı sentetik bir ajandır. ET743, bir tür deniz yumuşakçası zehirinden elde edilen sentetik bir analogdur. Ajan günümüzde over Ca ile yumuşak doku sarkomlarında denenmektedir (1).

Biyotoksinler ve nörodejeneratif hastalıklar

Mamba yılanının zehirinden türetilen dendrotoksinin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif bozukluklarda etkili olduğu gösterilmiştir. Peptid yapısındaki dendrotoksin etkisini, nöronlar arasındaki sinaptik aşırımı güçlendirerek gösterir. Bu etkinin gelişiminde zehir bileşenlerinin nöronal yapılardaki inhibitör etkili K^+ kanallarını bloke etmeleri rol oynar. Araştırmacıların belirttiğine göre K^+ kanalları, beyin faaliyetlerinde, kalp hızının düzenlenmesinde ve hormon sekresyonunda başlıca düzenleyici yapıdır. Nöronal yapılarda bulunan K^+ iyon kanalları sinir hücrelerinin uyarılabilirliğini ve nörotransmitter salınımı süreçlerini kontrol etmektedir (5).

Bunun dışında Gila kertenkelesi kaynaklı eksendin-4 ile GLP-1 benzeri diğer bir peptid olan karadul örümceği kaynaklı α -latrotoksinin yapısal açıdan büyük benzerlik gösterirler. Yapılan çalışmalarda her iki ajanla da Alzheimer hastalığının tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (2).

Alzheimer hastalığına karşı kullanılacak bir diğer ajan akrep zehiri bileşenlerinden olan TS-8F'dir. Son dönemde yapılan

çalışmalarda glutamaterjik nöronlarda görülen fonksiyon bozukluğunun hafıza kapasitesinde azalma ile karakterize bir süreç olan Alzheimer hastalığının patojenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. TS-8F, MSS'de glutamaterjik nöronlardan glutamat salınımını artırmak suretiyle deneysel anlamda öğrenme ve bellek fonksiyonlarını güçlendirebilmektedir. Bununla birlikte TS-8F'in, hipokampusta nöronal dejenerasyona ve aynı zamanda da konvülsiyonlara yol açıyor olması münasebetiyle Alzheimer olgularının tedavisinde doğal haliyle kullanılması pek olası görünmemektedir. TS-8F'in yan etki profili daha düşük sentetik türevlerinin geliştirilmesi ile bu sorunun aşılabileceği ifade edilmektedir (18).

Biyotoksinler ve enflamatuvar hastalıklar

Kobra zehiri kaynaklı bir sentetik türev olan mokaşajinin, enflamatuvar hastalıkların tedavisine yönelik yeni ilaçların geliştirilmesine öncülük edebileceği ifade edilmektedir. Mokaşajin etkisini, enflamatuvar süreçlerde lökositler için reseptör işlevi gören P-selektin (CD62) adezyon moleküllerini inhibe ederek gösterir (5, 19).

Biyotoksinler ve enfeksiyon hastalıkları

Kurbağa derisinden elde edilen magainin-2'nin, günümüzde enfeksiyon hastalıklarında en büyük sorun olarak nitelendirilen bakteriyel direnç gelişimine karşı etkili bir çözüm olabileceği ifade edilmektedir. Magainin-2, direnç geliştirmeden antibakteriyel etkinlik gösterebilen yeni bir sentetik ajandır (1).

Akrep zehiri ile ilgili çalışmalar, zehir bileşiminde yer alan özellikle Na⁺ ve K⁺ kanallarına etkili nörotoksinler üzerinde yoğunlaşmıştır. Akrep zehiri bileşenleri arasında son olarak hücre yüzeylerinde por oluşturan peptidler tanımlanmıştır. Bu peptidler 2 grupta incelenir. İlk grupta lineer, görece daha basit yapılı, sistein rezidüsü içermeyen peptid molekülleri bulunur. İkinci grupta ise daha kompleks yapılı sisteinden zengin peptidler yer alır. Her iki grup peptid de mikroorganizmalara

karşı savunma fonksiyonuna sahiptir. Deneysel çalışmalarda por oluşturan peptidlerin in vivo antibakteriyel ve antifungal etkinlik sergilediği ve aynı zamanda da etkilerine karşı direnç gelişmediği görülmüştür. Sayılan özellikleriyle akrep zehirinden izole edilen yeni ajanların, klinikte büyük problem yaratan dirençli hastane enfeksiyonlarıyla mücadelede değerli seçenekler olabileceği ifade edilmektedir (20).

Biyotoksinler ve kardiyovasküler sistem hastalıkları

Yılan zehirleri son dönemde yapılan çalışmalarda, antiagregan ve antikoagülan etkili yeni ajanların geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Yılan zehirinin bileşimindeki peptidler, fibrinojen gibi endojen ligandların aktive plateletler üzerinde bulunan integrin α IIb β 3 (Glp_{2b3a}) reseptörlerine bağlanmasını kompetitif şekilde antagonize ederler. Glp_{2b3a} reseptörlerine en spesifik etkili ajan siklik heptapeptid yapısındaki Eptifibatid'dir. Eptifibatid, diğer integrin ve disintegrin moleküllerinin yapısında rastlanılan RGD* motifinden farklı olarak KDG** motifi taşıyan yüksek seçiciliğe sahip barburinin (yılan zehiri kaynaklı bir disintegrin molekülü) etkilerini taklit etmek üzere geliştirilmiş bir sentetik analogdur (2).

Eptifibatid ve küçük moleküler yapılı RGD-mimetik Tirofiban (Aggrastat; Merck), klinikte antiagregan etki oluşturmak amacıyla İV solüsyonlar formunda kullanılmaktadır. Ancak şu ana kadar, aspirine karşı belirgin bir üstünlükleri gösterilememiştir. Yine yılan zehiri bileşenlerinden olan Ankrod ve Batroksobin, enzimatik yolla fibrinojeni parçalayarak etki gösteren peptid yapılı sentetik analoglardır ve strok olgularında erken evrede kullanılmaları halinde nörolojik sekel gelişme olasılığını düşürdükleri gösterilmiştir (2, 5).

İntegrilin (Eptifibatid), çingiraklı yılan zehirinden türetilmiş bir ajandır. 1998'de Schering-Plough ve COR Therapeutics firmaları, integrilinin akut koroner sendromlu (AKS) ve koroner anjiyoplasti endikasyonu konulan

İntegrinler, transmembranal matriks reseptörleridir. α - ve β - olmak üzere iki alt birimden oluşurlar. α -altbirim aktiviteden; β -altbirim hücreye bağlanmadan sorumludur. İntegrinler, hücre içindeki aktin iskeletini hücrelerarası matrikse bağlamak suretiyle adezyon molekülü işlevi görürler. Hücre dışındaki ligandları fibronektin, fibrinojen, trombosit yüzeyindeki Glp_{2b3a} reseptörleri ve laminin'dir. Disintegrinler, yılan zehirinde bulunan moleküllerdir ve integrinler üzerinden gerçekleşen hücre dışındaki yapılarla olan bağlanmayı bozarlar (21).

*RGD motifi; disintegrin ve integrin molekülünün yapısında bulunan Arginil-Glisil-Aspartik asid dizilimidir (21-23) ve hücre dışı ligandların integrin ve/veya disintegrin molekülü üzerinde etkileşime girdiği yapıdır.

**KDG motifi; disintegrin molekülünde bulunan 5-keto-4-deoksi-D-glusarat yapısıdır (24).

hastalarda antikoagulan amaçlı kullanımına yönelik ruhsat başvurusunda bulunmuşlardır. İzleyen dönemde dünya genelinde gerçekleştirilen çalışmalarla integrilinin iskemik kalp hastalığındaki terapötik değeri net bir şekilde ortaya konulmuştur (5).

İlk çalışma olan Pursuit'te, AKS'lu hastalarda platelet Gp_{2b3a} reseptörlerinin integrilin ile inhibe edilmesi halinde myokard infarktüsü ve ölüm insidansının belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Pursuit'i takiben gerçekleştirilen Impact II çalışmasında, platelet agregasyonunu ve tromboz gelişimini önlediği bilinen integrilin bu kez de koroner anjiyoplasti aday hastalardaki etkililiği ve güvenliliği incelenmiştir. Sonuçlar, ajanın antiiskemik etkinliği yönünden bir önceki Pursuit çalışmasından elde edilenlere benzer niteliktedir (5).

Bilindiği üzere AKS patojenezinden bir aterosklerotik plak üzerinde gelişen trombosit agregasyonu ve takiben pıhtı oluşumu sorumlu tutulmaktadır. İskemik kalp hastalığının karakteristiği olan anjina ise, koroner damar duvarındaki aterom plağının rüptüre olması ve bunun zemininde lümen tromboz gelişimine bağlı myokard perfüzyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır. Integrilin bu süreci, Gp_{2b3a} reseptör inhibisyonu oluşturmak suretiyle daha başlangıç aşamasında yani platelet agregasyonu safhasında bloke eder (Şekil 2) (2, 5).

Bir diğer Gp_{2b3a} reseptör inhibitörü de Merck firmasının geliştirdiği engerek yılanı zehiri kaynaklı Aggrastat (Tirofiban)'tır. Aggrastat antiagregan etki amaçlı geliştirilen ilk ajandır ve AKS'lu hastalarda heparin ve aspirin ile kombine edilmesi koşuluyla kullanılmaktadır. Bu ajanın AKS'lu hastalarda ölüm riskini, yeni myokard infarktüsü ve refrakter iskemi gelişimini %43'e varan oranda düşürebildiği görülmüştür (2, 5).

Aggrastat, integriline benzer şekilde trombosit agregasyonunu inhibe eder, dolayısıyla trombolitik etkinliği yoktur. Buna karşılık trombolitik etkinlik bakımından heparin ve antiagregan etkili aspirin halen standart tedavideki güncelliğini korumaktadır(5).

Aggrastatin sayılan ajanların etkilerini güçlendirme anlamında oldukça kullanışlı bir ilaç olduğu ifade edilmektedir (5).

Biyotoksinler ve strok

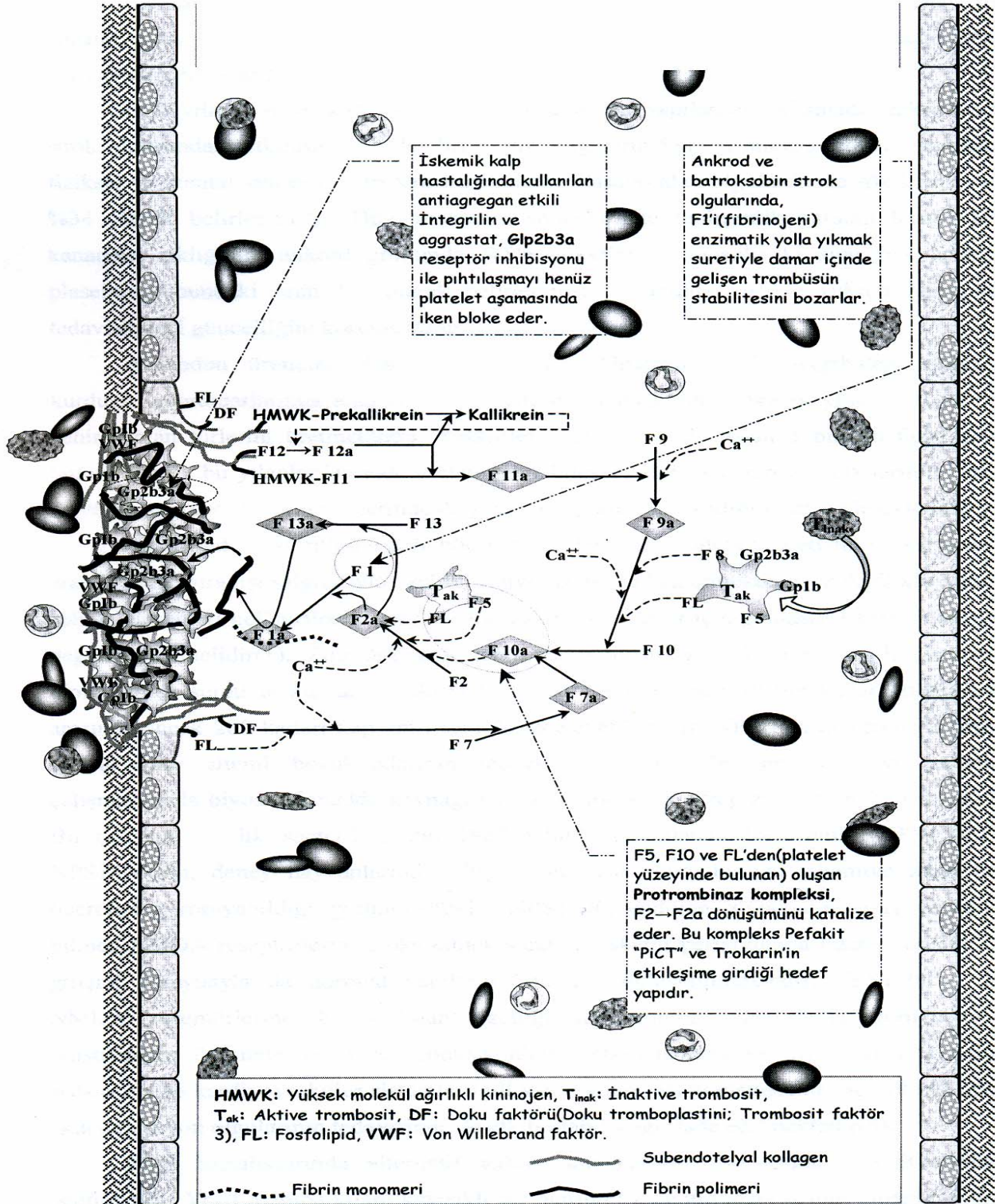
Knoll firması tarafından geliştirilen Ankrod, Malezya çukur engereği zehirinden elde edilen sentetik bir peptid türevidir. Bu ajan üzerindeki çalışmalar, engerek yılanlarıyla olan zehirlenmelerde kurbanın kanında pıhtılaşma fonksiyonunun ortadan kalktığı gözlenmesi ile başlamıştır. Ankrod, pıhtının yapısındaki fibrinojeni uzaklaştırır ve yapının stabilizasyonunu bozar (Şekil 2). Özellikle strok olgularında ajanın bu yöndeki etkisi önem kazanmaktadır. Zira beyin perfüzyonunun bozulması ve bununla ilişkili ağır nörolojik hasar gelişimi ile karakterize bir süreç olan strok, İngiltere'de kalp hastalıkları ve kanserden sonraki en sık ölüm nedenidir. Birleşik devletler ve Batı Avrupa ülkelerinde ise her yıl 1.4 milyon strok olgusuyla karşılaşmaktadır. Bu bakımdan ankrod, stroka bağlı hasarı ve mortalite hızını düşürmede çok değerli bir seçenek olarak kabul edilmektedir (5).

Ankrod uygulaması 3-5 gün sürelidir ve İV yolla yapılır. İskemik strok tedavisi süresince ankrodun etkinliği kan fibrinojen düzeyleri ile takip edilir. Stroka bağlı belirtilerin düzeltilmesi, kanama riskinin ve rekürren kanama olasılığının en alt seviyeye çekilebilmesi için gerekli kan fibrinojen düzeyi, 1 desilitre kanda 40-70 mg fibrinojen olarak belirlenmiştir.

Bununla birlikte, günümüzde akut strok tedavisinde kullanılmak üzere onay almış yegane ajan, ankroddan farklı olarak fibrinolitik aktivite gösteren doku plazminojen aktivatörü (tPA)'dür (5).

1999 yılında Amerikan Kalp Cemiyeti tarafından yapılan bir çalışmada, ankrodun 500 strok olgusundaki etkililiği değerlendirilmiştir. Olguların %42'si ankrod tedavisi sonrasında fiziksel ve mental yetilerini geri kazanabilmiştir. Plasebo alan olgularda ise söz konusu oran %34 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarında tedirginlik yaratan husus, beyin kanaması sıklığının, ankrod grubunda %5'e yükselmiş olmasıdır ki aynı risk açısından plasebo grubundaki oran %2 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte ankrod halen strok tedavisindeki güncelliğini korumaktadır.





Şekil 2. İntegrilin (Eptifibatid), Ankrod, Pefakit "PiCT" ve Trokarin'in etki mekanizmaları (5, 25-31).

Ankrodun üreticisi olan Knoll firması, Almanya'nın Ludwigshafen bölgesinde kurduğu laboratuvarlarında ankrod ile integrilinin kaynağı olan engerek yılanlarını ve diğer zehirli yılan türlerini üretmektedir. Yetkililerce bu tesislerde halen 3 binden fazla yılanın bulunduğu ve bu yılanlardan elde edilen zehir bileşenlerinin antiagregan etkilerinin yanısıra diğer olası terapötik etkileri üzerinde de yoğun bir şekilde çalışıldığı ifade edilmektedir (5).

Meinwald'ın belirttiğine göre böcekler, beslenme, savunma ve iletişim fonksiyonlarına aracılık eden sıradışı salgılarıyla özel bir ilgiyi fazlasıyla hak etmektedir ve özellikle örümcek zehiri bileşenleri geliştirilecek yeni nörofarmakolojik ajanlar için potansiyel kaynaklar olarak değerlendirilmelidir (1). Zira örümcek zehirinde bulunan nörotoksinler, belirli reseptörleri bloke etmek suretiyle kurbanını etkisiz hale getirebilir. Bilinen 30 bin kadar örümcek türü arasında ancak 200 kadarı kapsamlı şekilde incelenebilmiştir. NPS Pharmaceuticals firması santral sinir sistemi bozukluklarının tedavisine yönelik ilaç araştırma ve geliştirme çalışmalarında biyoaktif madde kaynağı olarak örümcek ve akrep zehirlerini kullanmaktadır. Bu çalışmaların ilk sentetik ürünü 1987 yılında tanımlanan Delucemine (NPS1506)'dir. NPS1506'nin, deney hayvanlarında oluşturulan stroke modellerinde iskemiye karşı beyin hücrelerini koruyabildiği görülmüştür (1). NPS1506, endojen glutamatın etkisiyle açıldığı bilinen NMDA reseptörlerini bloke etmek suretiyle iskemi periyodunda hücre içerisine Ca^{++} girişini dolayısıyla da nöronal yapıların ölümünü önleyebilmektedir. NPS1506'yı diğer NMDA reseptörlerine üstün kılan özelliği nöroprotektif dozlarında koruyucu etki oluştururken öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkilememesi ve aynı zamanda belirgin sedasyona ve kardiyovasküler sistemle ilgili yan etkilere yol açmamasıdır. Son olarak ajanın, akut depresyon olgularının tedavisinde de etkili olabileceği ifade edilmektedir (5).

KVS hastalıklarında alternatif tedavi arayışlarının son ürünü Tip B-natriüretik peptidlerdir. Yeşil mamba yılanı kaynaklı bir natriüretik peptid analogunun hipertansiyon ve akut dekompanse kronik konjestif kalp yetmezliği olgularında terapötik etkinlik göstere-

bileceği ifade edilmektedir (2).

Deniz anemonu kaynaklı ρ -konopeptidler, α_1 -adrenoseptörlerin seçici ve non-kompetitif tipte inhibitörleridir ve antihipertansif etkinlikleri üzerinde çalışılmaktadır (2).

Yapılan çalışmalarda zehir bileşimindeki peptidlerin aritmi olgularında da etkili olabildiği görülmüştür. Örneğin tarantula türlerinin zehirinden izole edilmiş bir peptid analogu olan GsMTx-4, inhibe edilmeleri halinde atriyal fibrilasyonu (AF) durdurabilen mekanosensitif iyon kanallarının selektif blokörüdür ve ileride AF olgularının tedavisinde klasik antiaritmik ajanların yerini alabileceği düşünülmektedir (2).

Antihemorajik etkili zehir bileşenleri

Yılan zehirinde antihemorajik özelliklere sahip peptidler de bulunmaktadır. Kahverengi yılan zehiri kaynaklı bir antifibrinolitik serin proteaz inhibitörü olan Tekstilinin, QrxPharma firması tarafından Q70033 adıyla açık kalp cerrahisinde kanama komplikasyonlarına karşı denetlenmektedir (2).

Tanısal amaçlı uygulamalarda biyotoksinler

Yılan zehiri bileşenlerinin değeri sadece terapötik amaçlarla sınırlı değildir, fakat aynı zamanda peptid yapılı zehir bileşenleri çeşitli hemostaz bozukluklarıyla ilişkili fibrinojen, protrombin, pıhtılaşma faktörleri ve protein C düzeylerinin tespitinde tanısal amaçlı olarak da kullanılmaktadır.

Pefakit "PiCT" ve Pefakit "APC-R (FV-L)" tanısal test kitlerinde yılan zehiri kaynaklı enzimler olan RVV-V (Faktör 5 aktivatörü) ve Noskarin (Protrombin aktivatörü) kullanılmaktadır. Yılan zehirinde bulunan enzimler aktivite için kofaktör ve diğer bir takım faktörlere ihtiyaç duymadıkları gibi koagülasyon inhibitörlerinden de etkilenmezler (30).

Pefakit "PiCT", klinikte preoperatif dönemde ve hasta başında anfraksiyone heparin (AFH), düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH), pentasakkarid ve hirudin gibi Fak10a ve/veya Fak2a'yı inhibe ederek etki gösteren antikoagülanların düzeylerini ve aktivitelerini izlemede kullanılmaktadır. Bu testte yılan zehiri bileşenlerinden olan RVV-V, hastaların plazmasındaki Fak5'i endojen

trombinin pozitif feed-back etkisinden bağımsız olarak aktive eder. Bunun sonucunda Fak5a ve Fak10a, trombositlerin yüzeyinde bulunan fosfolipidler ve Ca^{++} ile birlikte Fak2 → Fak2a dönüşümünü katalizleyecek protrombinaz kompleksini oluşturur (Şekil 2). Plazmadaki Fak10a (DMAH ve Pentasakkarid ile inhibe olur) ve Fak2a (AFH ve hirudin ile inhibe olur)'yı inhibe eden antikoagülan aktivitenin varlığı ve/veya gücü, pıhtılaşma zamanındaki uzama ile belirlenir.

Pefakit "APC-R (FV-L)", heterozigot ve homozigot Faktör 5 Leiden (FVL) mutasyonlu hastalarda, aktive protein C (APC-R) rezistansını spesifik olarak belirlemek amacıyla hazırlanmış bir testtir. Bu testte kullanılan noskarin, Ca^{++} 'dan bağımsız olarak Fak5a ile birlikte trombin oluşumunu katalize eder. Pefakit "APC-R (FV-L)" testinin FVL mutasyonlu olgular için son derece seçici ve duyarlı bir test olduğu ifade edilmektedir (30).

Yılan zehirinde bulunan protrombin aktivatörleri moleküler yapılarına ve kofaktör gereksinimlerine göre 4 gruba ayrılırlar. Dördüncü grupta yer alan çift zincirli serin proteinazlar, optimal etkinlik için Fak5a, Ca^{++} ve fosfolipidlere ihtiyaç duyar. Bu grubun yeni tanımlanan bir üyesi de Trokarin'dir. Peptidin yapısı ve fonksiyonu Fak10a'ya büyük benzerlik gösterir. Trokarin benzer yapısı sayesinde pıhtılaşma sürecinde Fak10a'nın yerine geçerek protrombinaz kompleksi oluşumunu bozmakta ve bu kompleks üzerinden gerçekleşen Fak2 → Fak2a dönüşümünü önleyebilmektedir. Bu yönüyle trokarinin ve sentetik türevlerinin yeni bir sınıf antikoagülan olarak ileride kullanıma girebileceği belirtilmektedir (31).

Yine yılan zehirinden elde edilen enzimatik aktiviteli bir peptidin klinikte SLE hastalarında tanı amaçlı kullanılan DVV testinin bir bileşeni olduğu ifade edilmektedir (4).

Biyotoksinler ve hemolitik anemiler

Eritrositlerde bulunan Ca^{++} bağımlı K^+ kanalları, hücreden Cl^- ve su kaybına aracılık eden dışa yönelik K^+ akımından sorumludur. Bu açıdan, eritrositlerde K^+ kanallarını bloke eden ajanlar, eritrositlerin dehidrasyonunu önlemek suretiyle orak hücreli anemi olgularının tedavisinde başarılı olabilirler (2).

Sonuç olarak, biyotoksinlerin ve sentetik türevlerinin Tıp alanındaki tanı ve tedavi amaçlı uygulamalarının gelecek açısından büyük umut vaat ettiğini ve kısa bir süre içerisinde de pek çok hastalığın tedavisinde standart tedavi protokollerinin yerini alacağını söyleyebiliriz.

Ülkemizde ise biyotoksinler alanındaki çalışmalar maalesef sınırlı düzeydedir ve dünyadaki gelişmelerin gerisinde kalmıştır. Yılan, akrep ve örümcek gibi canlı türlerinin üretilmesi, zehirlerinin sağlanması ve bileşimlerinin tanımlanmasına yönelik kapsamlı bir çalışma mevcut değildir. Türkiye'de sayılan canlılar açısından tür çeşitliliğinin bir Avustralya, Güney Amerika ülkeleri ya da Birleşik Devletlerdeki kadar zengin olduğu söylenebilir, ancak yılan, akrep ve örümcek faunaları incelendiğinde aslında ülkemizde de yeterli sayıda biyotoksin kaynağı olabilecek türlerin bulunduğu görülebilir.

Örneğin akrep türleri arasında gliomaların tedavisinde kullanılan klorotoksinin (TM-601) kaynağı olan *Leiurus quinquestriatus*'a Adıyaman, Diyarbakır, Hatay ve Kilis civarında sıkça rastlanılmaktadır. Türkiye'de *Leiurus quinquestriatus* dışında 13 farklı akrep türü daha bulunmaktadır. Hatta bu türler arasında özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde görülen *Androctonus crassicauda*'nın sıradışı zehir bileşimiyle dünyadaki en ölümcül akrep türlerinin başında geldiği ifade edilmektedir (32).

Zehirli yılan türleri açısından da ülkemizin yeterli sayıda tür barındırdığı söylenebilir. Öyle ki bazı Avrupa ülkelerinin bu konudaki araştırmaları neticesinde başta Ege bölgesi olmak üzere çeşitli merkezlerde yılan yetiştirme laboratuvarları kurdukları bilinmektedir.

Türkiye'de 12 zehirli yılan türü bulunmaktadır. Bunların büyük kısmını, ADEİ, kontortrotatin, integrillin, aggrastat ve ankrod gibi ilaçların geliştirilmesinde biyotoksin kaynağı olarak yararlanılmış yılanlarla aynı familyada (Viperidae) bulunan engerek yılanları (*Vipera* türleri) oluşturur. Engerekler dışındaki bir diğer tür de antiinflamatuvar etkili mokerajinin elde edildiği kobra türlerinin alt familyasında bulunan Çöl kobrası (*Walterinnesia aegyptia*)'dır (33, 34).



Örümcekler açısından görünüm, diğer canlı türlerine göre kısmen farklılık göstermektedir. Türkiye’de 19 zehirli örümcek türü bulunmaktadır. Bu türler arasında en dikkat çekici olanlar, salgıladığı zehirin bileşimindeki α -latrotoksin ile Alzheimer hastalığında etkili olabildiği gösterilmiş olan Karadul (*Latrodectus* türleri) türü örümceklerdir (35, 36).

Sayılanların ışığında biyotoksin kaynakları bakımından ülkemizin oldukça zengin bir çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Burada en önemli husus, mevcut çeşitliliğin olabildiğince verimli şekilde kullanılmasıdır. Bilindiği üzere, ilaç geliştirilmesine yönelik çalışmalar son derece zahmetli ve masraflı süreçlerdir. Bununla birlikte ülkemizin bünyesinde barındırdığı canlı türlerinin, söz konusu sürecin başlangıç noktasını teşkil eden hammadde ihtiyacını karşılamada büyük bir potansiyel taşıdığı da aşıkardır. Bu bakımdan sayılan canlı türlerinin zehirlerinin sağılması, bileşenlerinin net bir şekilde tanımlanıp saflaştırılması ve son olarak da zehir bileşenlerinin doğrudan ya da dolaylı olarak sentetik türevlerinin in vitro ve in vivo çalışmalarda terapötik etkinliğinin gösterilmesi yönündeki araştırmaların vakit kaybedilmeden hayata geçirilmesi gerekmektedir.

Yetkili kişi ve kurumların bu konuya gösterecekleri hassasiyet, ülkemizin sadece antiserum ve ilaç temini gibi konularda dışa bağımlılığını ortadan kaldırmakla kalmayacak, aynı zamanda tedavi edilmeyi bekleyen pek çok hastaya mümkün olan en kısa sürede yeni ilaç seçeneklerinin sunulmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Skarnulis L, Nazario B. Wonder drugs using pharmazooticals. WebMD Inc., 2003 Aug. <http://www.webmd.com/content/article/78/95687.htm>
2. Lewis RJ, Garcia ML. Therapeutic potential of venom peptides. Nature reviews. Drug discovery., 2003;2:790-802. http://www.imb.uq.edu.au/download/large/Venom_therapeutics.pdf
3. Albers T. Micro-screening of venoms. 2002 July:28. http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

4. Ely T. Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. Journal of Psychology and Behavioral Sciences, 2003; 17: 18

http://www.alpha.fdu.edu/psychweb/Vol16-17/Ely_Proof.pdf

5. From bites and stings to medicines. http://www.chemsoc.org/chembytes/ezone/1999/berressem_apr99.htm

6. Lewis RJ, Nielsen C, Ross F, Drinkwater R, Alewood P, Smith M. Therapeutic potential of ω - and χ -conotoxins. 2002 July:34. http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

7. <http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/mother/chan.html>

8. <http://www.nature.com/bjp/journal/v144/n1s/pdf/0706161a.pdf>

9. Craik DJ, Clark R, Daly NL. Circular protein toxins – no end(s) in sight. 2002 July:11.

http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

10. <http://www.cyclotide.com/what.html>

11. Browne DL, Ganchar ST, Nutt JG, et al. Episodic ataxia / myokymia syndrome is associated with point mutations in the human potassium channel gene, KCNA1. Nat Genet. 1994;8:136-140.

12. Adelman JP, Bond CT, Pessia M, Maylie J. Episodic ataxia results from voltage-dependent potassium channels with altered functions. Neuron. 1995;15:1449-1454.

13. Wulff H, Calabresi PA, Yun S, et al. Blockade of Kv1.3 channels in myeline reactive T cells as a therapeutic target for multiple sclerosis. 2002:33.

14. Effective new autoimmune disease drugs to use scorpion venom. <http://thyroid.about.com/library/weekly/aa071800a.htm>

15. Swenson S, Costa F, Minea R, et al. Intravenous liposomal delivery of the snake venom disintegrin contortrostatin limits breast cancer progression. Mol Cancer Ther. 2004;3:499-511

16. Highfield R. Snake’s venom may help treat breast cancer.

<http://arachnophiliac.co.uk/burrow/news/snake>



[s_venom_and_breast_cancer.htm](#)

17. Scorpion venom might help in brain cancer – study.

<http://naturalhealthline.com/newsletter/HL990201/venom.htm>

18. Maruo VM, Lebrun I, Dorce VAC. Effects of scorpion Tityus serrulatus venom toxin TS-8F on rat learning and memory. *J. Venom. Anim. Toxins*, 2002; 8:74-87.

19. <http://www.ihop-net.org/UniPub/iHOP/gs/92088.html>

20. Tytgat J. Antibacterial and antifungal peptides in scorpion venom: an emerging class of novel therapeutics. 2002 July:22.

http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

21. http://www.histemb.medicin.ankara.edu.tr/Hücre_Hücre_Hücre_Matriks_İlişki.pdf

22. http://www.scripps.edu/bcmd/pdfarea/issue_12_97/zanetti.pdf

23. D'Souza SE, Ginsberg MH, Plow EF. Arginyl-glycyl-aspartic acid (RGD): a cell adhesion motif. *Trends Biochem Sci.* 1991;16:246-250.

24. Gulick AM, Hubbard BK, Gerlt JA, Rayment I. Evolution of enzymatic activities in the enolase superfamily: crystallographic and mutagenesis studies of the reaction catalyzed by D-glucarate dehydratase from Escherichia coli. *Biochemistry.* 2000 Apr 25;39:4590-4602.

25. <http://nic.sav.sk/logos/books/scientific/node29.html>

26. <http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/anestezinot/yogun.htm>

27. <http://www.indstate.edu/thcme/mwkin/g/blood-coagulation.html>

28. http://www.haemtech.com/Cofactors/Factor_Va.htm

29. http://www.labtestsonline.org/images/coag_cascade.pdf

30. Schöni R, Stocker C, Rudin K, Bühler B, Wilmer M. Snake venom components as essential tools for new diagnostic test kits in hematology. 2002 July:52.

http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

31. Kini RM, Jacob B, Joseph JS. Development of novel class of anticoagulant peptides based on the structure of prothrombin activator from Tropidechis carinatus venom. 2002 July:17.

http://www.venomstodrugs.com/Venoms_Abstract_book.pdf

32. <http://www.geocities.com/mammalia-2000/taf.html>

33. <http://www.reptile.fisek.com.tr/indexy.htm>

34. <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/taxa.html#ser>

35. <http://www.faunaeur.org/full-results.php?id=15446>

36. <http://www1.gantep.edu.tr/~Varol/tr/asil-tr.htm>

Yazışma Adresi

İlker KELLE
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı / Diyarbakır
E-mail: ikel@dicle.edu.tr

