

## YILAN ZEHİRLERİ: I. ZEHİRLİ BİLEŞİKLER

Gökhan ERASLAN<sup>1</sup> Ali BİLGİLİ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara- TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 20.07.1999

### Snake Venoms: I. Toxic Compounds

#### SUMMARY

In this review, toxic compounds found in snake venoms were studied. Biochemical structures, pharmacological and toxicological aspects of these compounds were mentioned. Detailed information about neurotoxins that have fatal effects were given in particular. In addition brief information about cardiotoxins and toxins having destructive effects on the tissue were given.

*Key words: Snake, venom, toxic compounds.*

#### ÖZET

Bu derleme kapsamında yılan zehirlerinde bulunan zehirli bileşikler incelendi. Bu bileşiklerin biyokimyasal yapıları, farmakolojik ve toksikolojik yönlerine değinildi. Özellikle güçlü öldürücü etkinliği olan nörotoksinler ile ilgili ayrıntılı bilgiler verildi. Bunun yanısıra dokuları tahrip eden toksinler ve kardiyotoksinler hakkında da özlü bilgi verildi.

*Anahtar kelimeler: Yılan, yılan zehiri, zehirli bileşikler.*

#### GİRİŞ

Yılan zehirleri birbirinden farklı pek çok protein içermektedir. Bu proteinlerin miktarı ve yapısı yılan türüne göre değişkenlik göstermekte olup her birinin kendine özgü biyolojik etkinliği vardır. Bu bileşikler zehirli ve zehirsiz olmakla birlikte, zehirde her iki bileşik de birarada bulunmaktadır. Zehirli bileşikler arasında nörotoksinler, kardiyotoksinler, dokuları tahrip eden toksinler ve hemolitik faktör yer alır. Zehirsiz bileşikler ise, kobra venom faktör (KVF), sinir üreme faktörü (SUF), anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ADEİ) ve kan pıhtılaşması üzerinde etkili olan bileşiklerdir. Zehir ayrıca, hidrolitik (fosfolipaz, fosfodiesteraz, fosfomonoesteraz, asetilkolin esterase, proteolitik enzimler, arjinin ve diğer esterazlar, hyaluronidaz ve nikotin amid dinükleotid (NAD) nükleotidaz gibi) ve hidrolitik olmayan (L-amino asit oksidaz, laktat dehidrojenaz, katalaz gibi) enzimler

içerir. Yılan zehirlerinde, protein yapısında olmayan bileşikler de vardır. Bu bölümde yalnızca zehirli bileşikler ve enzimler üzerinde durulacaktır.

#### A. Zehirli Bileşikler

##### Nörotoksinler

Nörotoksinler; *presinaptik nörotoksinler, postsinaptik nörotoksinler, asetilkolin esterase etkinliğini önleyen nörotoksinler ve potasyum kanallarına bağlanan nörotoksinler* olmak üzere dört alt gruba ayrılır. Bu toksinlerin etki yerleri ve mekanizmaları birbirinden farklıdır. Yılan zehiri nörotoksinleri çevresel nörotoksinlerdir ve kan beyin engeline geçemezler (2).

**1. Presinaptik nörotoksinler:** Presinaptik nörotoksinler *beta-toksinler* olarak da adlandırılır.

Toksin, sinir aksonunu uyarmaksızın kaslarda kasılmaya sebep olur. Beta-toksin, kaslardaki depolarizasyonu ve asetilkolin (Ak)'in reseptörlerine bağlanabilirliğini etkilemez. Toksin, presinaptik sinir membranına bağlanarak nörotransmitter salınımını kısa bir süre engeller. İkinci safhada, fosfolipaz etkinliği sebebiyle nörotransmitter salınımını artırır. Bunu takiben de, sinir ucundaki bütün nörotransmitterlerin açığa çıkmasına bağlı olarak sinirde blokaj şekillendirir (34).

Presinaptik toksinlerin, en yaygın ortak özelliği fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği göstermeleridir. Fosfolipaz A<sub>2</sub> çeşitli yılan zehirlerinde ve hayvansal dokularda bulunan yaygın enzimlerden biridir. Bütün presinaptik toksinler gözden geçirildiğinde, fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği gösterdikleri tesbit edilmiştir. Fakat her fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği gösteren toksin presinaptik toksin değildir. Fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği gösteren pek çok protein vardır ve bunlardan yalnızca bazik olanları toksiktir. Bazik fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerin de bir kısmı presinaptik toksindir (2, 41).

Yapısal olarak incelendiğinde fosfolipaz A<sub>2</sub>; aşağı yukarı 42 amino asit kalıntısından oluşmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar zehirli olmayan fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerin aksine bütün presinaptik toksinlerdeki fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerin zehirliliği, bazik amino asit kalıntılardan oluşan yapılar ve hidrofobik bölgelerle ilişkili olduğu tesbit edilmiştir. Örneğin, *Piscivorus australis*'den elde edilen zehirli Pa 11'deki 1-7, 64-69, 100-107. pozisyonlar arasında yer alan bölgeler hidrofobiktir. Oysa zehirsiz Pa 13'deki 1-7 ve 64-69. pozisyonlar arasındaki bölgeler ise hidrofildir. Sonuç olarak, presinaptik olarak etkiyen toksik fosfolipazların zehirliliği; hem 59-73, 97 yada 98'de bulunan bazik amino asit kalıntıları hemde 1-7, 64-81 ve 97-109 bölgelerin hidrofobik veya hidrofildir olmasıyla yakından ilişkilidir (41).

Presinaptik toksinlerin temsilcileri arasında krotoksin, noteksin, taipoksin ve tekstilotoksin bulunmaktadır. Amerikan çingiraklı yılan zehirinden (*Crotalus durissus terrificus*), bütün zehir proteinlerinin %65-70'ini temsil eden zehirli bir protein izole edilmiştir. *Krotoksin* olarak adlandırılan bu toksinin güçlü bir presinaptik nörotoksin olduğu anlaşılmıştır. Krotoksin iki farklı alt ünitelerden oluşmaktadır. Küçük alt üniteler oldukça asidik iken daha büyük alt ünitelerin lizin ve arjinin yönünden zengin bazik alt üniteler olduğu tesbit edilmiştir. Asidik alt ünite üç farklı polipeptid zincirinin 7 disülfid bağı ile birbirine bağlanması ile

şekillenmiştir. Bazik alt ünite ise; 122 amino asitten oluşan tek zincirli polipeptiddir. Yapısal olarak, diğer yılan zehirleri ve memeli fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerine benzerlik gösterir. Krotoksinin, alt ünite B (bazik alt ünite)'deki etkin kısım alt ünite A (asidik alt ünite) tarafından maskelenmemiştir. Alt ünite B'nin nörotoksik etkisi dışında hemolitik etkisi de vardır. Alt ünite B presinaptik membrana bağlanmasının yanı sıra postsinaptik membran ve eritrosit membranına da bağlanır. Bağlanma deneyleri sonucunda krotoksin biyolojik membranla temasa geçtiğinde alt ünite B'nin biyolojik membrana bağlandığı; alt ünite A'nın ise serbest kaldığı tesbit edilmiştir. Alt ünite B, yalnız başına özel ve özel olmayan şekilde pek çok biyolojik membrana bağlanır. Alt ünite B'nin sinir membranına bağlanması özel; eritrosit membranına bağlanması ise özel olmayan bağlanmadır. Alt ünite A; alt ünite B'nin özel olmayan bölgelere bağlanmasını engelleyerek hedef bölgeye ulaşmasını sağlar ve öldürücü etkisini güçlendirir (1, 15).

*Noteksin*, *Notechis scutatus scutatus* zehirinden izole edilen 119 amino asit kalıntısı içeren ve 7 çift bağ bulunduran bir toksindir. Proteinlerin yapısı diğer fosfolipaz A<sub>2</sub>'lere çok benzemekle beraber farklılık 56-80 ve 85-89 amino asit kalıntılarının bulunduğu bölgelerde görülür (11).

Avustralya yılanı zehirlerinden elde edilen *taipoksin*'nin molekül ağırlığı 46.000 olup alfa, beta, gama alt ünitelerinden oluşur. Alt ünitelerin mevcut amino asit kalıntı sayısı sırayla 120,120 ve 135'dir. Alfa ve beta alt üniteleri 7 disülfid bağı ile birbirlerine çapraz olarak bağlanmıştır. Gama alt ünitesi ise 8 disülfid bağı ile bağlanmıştır. Alfa alt ünite çok baziktir ve 13 arjinin kalıntısı içerir. Öldürücü etkinlik gösteren alt ünite budur. Beta alt ünite, birbirinden çok az farklı olan beta 1 ve beta 2'den oluşur. Toksinin presinaptik membran üzerinde, bağlandığı özel proteinler bulunmaktadır. Bu proteinler, kobay beyninde yüksek yoğunlukta bulunur. Toksinin faredeki ÖD<sub>50</sub>'si 2 µgr / kg' dır (16, 17, 42).

*Tekstilotoksin*, *Pseudonaja tekstilis*'den izole edilmiştir ve A, B, C, D alt ünitelerinden oluşur. Yüksek öldürücü etkinliği vardır ve yılan zehiri nörotoksinlerinin en karmaşığdır. Alt ünite D; asidiktir ve herbir zincirinde 113 amino asit bulunduran ve birbirlerine kovalent bağ ile bağlanmış iki özdeş polipeptid zincirinden ibarettir. Bu alt ünite tek başına nörotoksik değildir fakat diğer alt ünitelerin zehirliliğini artırır (36).

**2. Postsinaptik nörotoksinler:** Postsinaptik nörotoksinler etkilerini, postsinaptik membrandaki kolinerjik-nikotik reseptörler üzerinde gösterirler. Toksin, nöromuskuler kavşaktaki bu reseptörlere bağlanarak Ak'nin bağlanmasını engellerler. Ak'nin, reseptörlerine bağlanması uyarı iletim mekanizmasının bir bölümünü oluşturur. Ak reseptörü-nörotoksin kompleksinin oluşumu sonucunda kas felci şekillenir. Bu etkisi ile kürara benzerlik gösterir.

Postsinaptik toksinler iki grup altında toplanmıştır.

a. 60-62 amino asit kalıntısı içeren ve dört disülfid bağı bulduran kısa zincirli nörotoksinler,

b. 71-74 amino asit kalıntısı içeren ve beş disülfid bağı bulduran uzun zincirli nörotoksinler.

Kısa zincirli nörotoksinlerin sekizinci segmentinde bir veya iki amino asit; beşinci segmentinde yalnızca bir amino asit bulunurken, uzun zincirli nörotoksinlerin beşinci segmentinde üç; sekizinci segmentinde ikiden daha fazla amino asit bulunur. Hem uzun hem de kısa zincirli nörotoksinlerin biyolojik etkinlikleri aynıdır yani her ikisinde kolinerjik reseptörlere bağlanır. Fakat kimyasal özelliklerinde bazı farklılıklar vardır. Kısa zincirli nörotoksinlerdeki triptofan kalıntılarındaki kimyasal değişiklik nörotoksisite kaybına sebep olurken uzun zincirli nörotoksinlerden,  $\alpha$ -*batrakotoksin*deki triptofan kalıntısındaki değişiklik belirgin bir toksisite kaybına sebep olmaz. Postsinaptik toksinlerin her iki tipide yapısal yönden *Elapidae kardiyotoksinlerine* çok benzer. Kardiyotoksinler kalbe ulaştığında kalp atımını durdurur. Kardiyotoksinler dört tane disülfid bağı içerir ve sekizinci segment çok küçüktür. Bu yönüyle kısa zincirli nörotoksinlere çok benzer. Disülfid bağı ve peptid dizilişleri bakımından kardiyotoksinler ve postsinaptik nörotoksinler arasında benzerlik olmasına rağmen amino asit kalıntıları ve dizilişleri arasında farklılıklar vardır. Bunun yanısıra nörotoksinler Ak reseptörlerine bağlanırken, kardiyotoksinler bu reseptörlere bağlanmaz. Kardiyotoksinler hidrofobik moleküllerdir; nörotoksinler ise oldukça hidrofildir. Kardiyotoksinler hücre zarını etkileyen genel toksinlerdir; postsinaptik toksinler ise asetilkolin reseptörlerini etkileyen özel toksinlerdir.

Bu toksinler; A, B, C olmak üzere üç segmentten ibarettir. Bu segmentten en önemlisi B segmentidir. Çünkü; B halkası Ak reseptörlerinde

Ak'nin bağlandığı bölgeye bağlanır. Segmentte bulunan disülfid bağı bağlanma için önemlidir. Merkezi segment alkalileştirildiğinde ya da indirgenildiğinde bağlanabilirliği ortadan kalkar. Ak reseptörlerinin ligant bağlayıcı bölgeleri hücre membranının dışındadır ve hidrofildir. Merkezi lobun çoğu bölgeleri de hidrofildir. Buradan nörotoksinlerin hidrofilik kısımların, reseptördeki hidrofilik kısımlarla etkileştiği sonucu çıkarılabilir. B segmenti aynı zamanda antijenik özellik de gösterir. Antijenik bölge, B segmentindeki kolinerjik reseptörlere bağlanan kısmın bulunduğu bölgedir.

Postsinaptik nörotoksin içeren zehirlere *Hidrofidae* ve *Elapidae* türüne ait yılan zehirlerinde çok rastlanır; *Bungarus multicinctus* zehiri *alfa* ve *beta batrakotoksin* kaynağı olarak bilinir fakat diğer nörotoksinleri de içerir. Örneğin; *toksin F* de nikotik reseptörleri bloke eder. *B. fasciatus*'da da benzer toksinler bulunur. Deniz yılanı *Acalytophis peronii*'den *major* ve *minör nörotoksinler* izole edilmiştir. Major ve minor postsinaptik toksinler arasındaki fark 43. amino asit kalıntısı üzerindedir. Bu kısımda, major toksin glutamin içerirken minor toksin glutamik asit içerir.

Bu grupta yer alan *alfa-kobratoksin*; *Naja naja siamensis* yılan zehirinde bulunan öldürücü nörotoksik proteinlerden biridir. Canlı organizmasına girdikten sonra nöromuskuler kavşaktaki nikotik reseptörlere bağlanır ve Ak'nin reseptörlerine bağlanmasını engeller. Bunun sonucu olarak kurbanlarının kaslarında iletim bozukluğuna sebep olur ve bunu solunum yetmezliği sonucu ölüm takip eder.

Yılan zehirleri; postsinaptik nörotoksinlere çok benzer yapıda olan fakat nörotoksik olmayan proteinleri de içerir. Örneğin; *mambia*, *Dentroaspis jamesonii*'den izole edilen ellidokuz amino asit kalıntısı içeren ve dört disülfid bağı bulduran bir proteindir. Bu protein trombositlerin bir araya gelmesini engeller.

Postsinaptik yılan toksinlerinin yapısal yönden akrep, örümcek, karınca toksinleriyle hiçbir benzerliği yoktur (2, 19).

**3. Potasyum kanallarına bağlanan nörotoksinler:** Potasyum kanalları sinirde uyarı iletiminin repolarizasyon süreci, istirahat membran potansiyeli, öğrenme ve hafıza gibi daha ileri nöral fonksiyonlarda önemli rol oynar (10).

*Dentrotoksin*, bu grubun bir üyesidir ve *yeşil mamba yılan zehirinden* izole edilmiştir. Mamba

zehirleri pek çok toksin içermektedir. Bunlar; Sinir ucundan nörotransmitter salıverilmesini kolaylaştıran dentrotoksinler, muskarinik asetilkolin reseptörleri tam antagonisti olan, muskarinik toksinler, mamba zehirinden izole edilen diğer toksinlerin etkisini artıran, sinerjik toksinler, AkE'in yarışmasız inhibitörü, fasikulin (37).

Daha önceleri, dentrotoksin'in ya Ak reseptörlerini bloke ederek ya da nörotransmitter salıverilmesini azaltarak kas felcine sebep olduğuna inanılırdı. Fakat yapılan çalışmalarda, dentrotoksinin Ak salıverilmesini artırdığı ve buna bağlı olarak da nöromusküler geçişi hızlandırdığı tesbit edilmiştir. Nörotransmitter salıverilmesindeki artış voltaj-bağımlı potasyum kanallarının blokajı sonucudur ve bu etki aksiyon potansiyelinin artmasına sebep olur. Toksinin güçlü konvülsan etki göstermesinin sebebi budur (24).

*Dentroaspis angusticeps*'den elde edilmiş olan dentrotoksin'in membran akseptör proteinlerine bağlanması, diğer mamba yılan zehirlerinde bulunan benzer amino asit dizilişi gösteren toksinler tarafından inhibe edilir (7).

Yeşil mamba yılan zehirleri diğer mamba zehirlerinden in vitro ortamda daha az zehirlidir. Çünkü bu zehirlerde, kavşak sonrası reseptör antagonisti miktarı oldukça düşüktür. Bu sebeple in vitro nöromusküler geçişdeki artış aynı zamanda şekillenen nöromusküler blokaj tarafından maskelenmez (21).

*Dentroaspis polilepis polilepis*'den izole edilen **toksin I** miyelinli sinir liflerindeki potasyum kanallarının yüksek derecede seçici blokörüdür. Potasyum kanalları akseptör proteinlerine, dentrotoksininden beş kat daha fazla ilgisi vardır (4).

Potasyum kanalına bağlanan diğer bir toksin; **beta-bungarotoksindir**. Etkisi üç safhada gerçekleşir. Bunlar; uç plak potansiyelinin aplütünde azalma, daha sonra artma, tam blok oluşuncaya kadar tekrar azalmadır.

Son iki adıma, toksin'in fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği katkıda bulunur (37).

Kavşakta nörotransmitter salıverilmesine sebep olan presinaptik olarak etkiyen nörotoksindir. Beta-bungarotoksinin akseptöre bağlanması, dentrotoksinler tarafından engellenemez. Dentrotoksinler yalnızca düşük efikasiteli toksinlerin akseptörlere bağlanmasını önler ve yerine kendisi bağlanır. Batrakotoksinlerin bağlanması da; diğer

nörotoksinler ve iyon kanal antagonistleri tarafından engellenemez. Bunun yanısıra, rat beynindeki bazı akseptörlere hem dentrotoksinin hem de beta-bungarotoksinin bağlandığı tesbit edilmiştir (7, 8).

**4. Asetilkolin esteraz etkinliğini önleyen nörotoksinler:** Bu grupta bulunan nörotoksinler AkE'a bağlanır. Asetilkolin esteraz görevini yapamadığı için nöromedyatör asetilkolin, reseptörlerine bağlandıktan sonra hidrolize edilemez ve sinir iletimi bozulur. Bu grupta bulunan **fasikulin**; *D. angusticeps* zehirinden izole edilmiştir. Beyinde bulunan AkE'lar üzerinde güçlü ve uzun süreli etkisi vardır. Ratlarda in vitro hipokampal AkE etkinliğinin %95 oranında engeller ve in vitro 500 µg/ml dozunda verildiğinde strial AkE üzerindeki etkisi bir hafta devam eder. Engelleyici etkinlik, ilk gün %90, 7 gün sonra ise %50'dir. Fasikulin'in beyinin ayrı bölümlerindeki AkE'lara karşı etkileri farklıdır; bazılarının etkinliğini önlerken, bazıları üzerinde hiçbir etkinliği yoktur (12, 35, 38).

#### Dokuları tahrip eden toksinler

Yılan zehirlerinin doku tahribatı üzerindeki önemli etkisi kas yıkımlanmasıdır. Günümüze değin kas yıkımlanmasına sebep olan üç bileşik tanımlanmıştır; **Miyotoksin A** ve agonistleri, bazı fosfolipaz A<sub>2</sub>'ler ve hem kanamaya hem de kas nekrozuna sebep olan toksinler.

Miyotoksin A; *Krotalidae* ve *Viperidae* ailesindeki yılan zehirlerinde bulunmaktadır. Zira bu ailedeki yılanların sokmasına bağlı olarak görülen önemli belirti kas nekrozudur. Miyotoksin A; üç disülfid bağı içeren 42 amino asit kalıntısından oluşan kısa zincirli polipeptiddir; ilk olarak *Crotalus viridis viridis* zehirinden izole edilmiştir. Miyotoksin A ile diğer miyotoksinler (*krotamin*, *miyotoksin I* ve *II*) arasında amino asit dizilişleri yönünden yüksek oranda benzerlik vardır. Miyotoksin A; vakualizasyon ve iskelet kaslarında yıkımlanmaya sebep olur; krotamin de miyotoksin A'ya benzer şekilde iskelet kaslarında vakualizasyona sebep olur. Fakat diğer miyotoksinlerin iskelet kasları üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Miyotoksin A ile birleştirilmiş *horse radish peroksidaz* kullanılarak yapılan elektromikroskopik çalışmalar toksinin sarkoplazmik retikulum membranında lokalize olduğunu göstermektedir. Sarkoplazmik retikuluma kalsiyumun girişi ve çıkışı farklı proteinler tarafından düzenlenir. Kalsiyum girişi Ca-ATPaz (kalsiyum pompası) aracılığıyla olurken; sarkoplazmik

retikulumdan kalsiyum çıkışı ise kalsiyum kanalları aracılığıyla olur. Miyotoksin A; sarkoplazmik retikulumda bulunan Ca-ATPaz'a bağlanarak kalsiyumun taşınmasını engeller. Fakat kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum salıverilmesini engellemez. Kas yıkınlanmasına sebep olan bazı toksinler tablo 2'de verilmiştir (43).

İkinci grupta yer alan fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerin çoğu yılan zehirlerinde bulunan bir bileşiktir. Yılan zehiri fosfolipazlarının bazıları memelilerde yüksek derecede zehirlidir. Fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerin nörotoksik, miyotoksik, kardiyotoksik, pıhtılaşmayı engelleyici, kan basıncını düşürücü, kanama yapıcı, alyuvarları parçalayıcı ve ödem oluşturucu etkileri vardır. Bununla birlikte, bütün fosfolipaz A<sub>2</sub>'ler bu şekilde etki oluşturmaz. Zehirli etki oluşturan fosfolipazlar bazı fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerdir. *Taipan zehirinden* yüksek düzeyde fosfolipaz etkinliği gösteren ve bazik karakterde olan dört bileşik izole edilmiştir. Bunlar; OS<sub>1</sub>, OS<sub>2</sub>, OS<sub>3</sub> ve OS<sub>4</sub>'dir. Bu bileşiklerin bağlandığı iki tip reseptör vardır. Bunlardan birincisi N tip reseptörler olup sinir sisteminde yaygın olarak bulunur. *Taipan zehirinden* izole edilen OS<sub>2</sub> (K<sub>d</sub>=1-50 pM) ve arı zehirinden izole edilen *fosfolipaz A<sub>2</sub>s* (K<sub>d</sub>=200 pM) bu reseptörlere bağlanır. İkincisi ise; M tip reseptörlerdir. İlk olarak tavşan iskelet kasında rastlanması sebebiyle bu isim verilmiştir. OS<sub>2</sub> bu reseptörlere sıkı bir şekilde bağlanır (K<sub>d</sub>= 7-10 pM) fakat arı zehirinden izole edilen fosfolipaz A<sub>2</sub>'s'in bu reseptör üzerinde hiçbir etkinliği yoktur. *Oxyuronus scutellatus scutellatus*'dan izole edilen OS<sub>1</sub>, M tip reseptörlere yüksek düzeyde bağlanırken; N tip reseptörlere ise düşük düzeyde bağlanır. Fosfolipaz A<sub>2</sub> etkinliği göstererek doku tahribatına sebep olan toksinler tablo 1'de verilmiştir (18, 30).

Kalp kası, iskelet kası ve düz kaslarda yukarıda anılan reseptörler oldukça yoğun olarak bulunur. Zehirli fosfolipaz A<sub>2</sub>'ler bu bölgelere bağlanır. Dokulardaki bu reseptörlerin OS<sub>2</sub>'ye duyarlılıkları aynıdır fakat bağlanma kapasiteleri farklıdır. Örneğin; pankreastaki reseptörlere 0.01 pmol/mg OS<sub>2</sub> bağlanırken, beyindeki reseptörlere 1.3 pmol/mg OS<sub>2</sub> bağlanır (31).

**Noteksin;** Avustralya kaplan yılanı, *Notechis scutatus scutatus*'dan izole edilen hem presinaptik hem de miyotoksik etkileri bulunan en zehirli tek zincirli fosfolipaz A<sub>2</sub>'lerden biridir. *N. scutatus*

*scutatus* zehirinde farklı enzimatik ve toksik etkileri olan *noteksin* ve *notekis Ns* bulunmaktadır. Noteksin Ns ve noteksin in vitro koşullarda esteraz ve nöromuskuler etkinliği; in vivo koşullarda da öldürücülüğü benzerlik göstermektedir. Noteksin'deki 11 lizin ve 5 arjinin kalıntısı yerine Notekis'de 10 lizin ve 6 arjinin kalıntısı vardır. Noteksinde lizinin bulunduğu bölgede (16. pozisyonda), notekis Ns'de arjinin kalıntısı yer alır. Noteksin'in 82 ve 115. pozisyondaki lizin kalıntılarının 5' piridoksal fosfat ile modifiye edilmesi sonucu öldürücü etkinliği %53 azalırken, enzimatik etkinliği iki kat artar. Toksin, etkisini kas sarkolemmasında gösterir. Kas sarkolemmasına bağlanarak; bu bölgelerde küçük lezyonlar oluşturur. Bu lezyonlar kaslarda aşırı kasılmalara, ileriki safhalarda da bu kasılmalara bağlı olarak kasların zayıf bölgelerinden yırtılmalarına sebep olur. Kaslardaki patolojik bulgular; sarkolemmal bozukluklar, delta lezyonlar, miyofibrillerde mumsu soysuzlaşmalardır. Ayrıca kan plazmasında serum kreatinin düzeyinin de yükseldiği tespit edilmiştir (9, 11, 13, 39).

Üçüncü grupta ise; hem hemorajik hem de miyotoksik etkileri bulunan bazı toksinler bulunur. **Viriditoksin** ve **hemorajik toksin** bu grupta yer alır. Viriditoksin, *Crotalus viridis viridis*'den izole edilmiştir. Toksinin, molekül ağırlığı 115.000, izoelektrik noktası 4.8 olup 1018 amino asit kalıntısı içerir ve asidik amino asit kalıntılarının oranı bazik olanlara göre daha fazladır. Toksin, hemorajik etkisinin sonucu olarak kas dokusunda iskemiye sebep olur. Miyotoksik etkisi de iskemiye bağlıdır. **Hemorajik toksinler**, kılcak damar endoteli üzerinde direkt etkisiyle kanamaya sebep olur. Kanamadan sorumlu olan proteinazlar, çinko proteazlardır. Fakat bütün çinko proteinazlar kanamaya sebep olmaz. Yılan zehirlerinde, çinko proteinazlar dışında serin proteinazlar da bulunmaktadır. Anılan proteinazların kanamaya sebep olan etkinliği yoktur. Gerek çinko proteinazların gerekse serin proteinazların proteolitik etkinlikleri benzerdir. Bundan dolayı, kanamanın proteolize bağlı olarak şekillendiği kanısına varmak doğru olmaz. Fakat amino asit dizilişleri karşılaştırıldığında; her iki proteazın da zincir dizilişlerinin çok benzer olduğu ortaya çıkar. Bundan dolayı kanamaya sebep olan kısmı tespit etmek mümkün olmamıştır (3, 6, 14, 20).

**Tablo 1.** Fosfolidaz A<sub>2</sub> etkinliği göstererek doku tahribatına sebep olan toksinler.

Toksin	Yılan türü	Yapısı	Molekül ağırlığı
Miyotoksin	Agistrodon bilineatus	129 AA	15070
Krotoksin A	Crotalus durissus terrificus	A. 40 AA B. 34 AA C. 14 AA	4274 3658 1558
Krotoksin B	Crotalus durissus terrificus	Birbirine disülfid köprüsü ile bağlı üç zincirden oluşmuştur. 122 AA	14500
Mojavetoksin	Crotalus scutatus scutatus	Asidik zincir: 88 AA Bazik zincir: 122 AA	14199 9400
Noteksin	Notechis scutatus scutatus	119 AA	13578
Pseudeksin I-B	Pseudechis porphyriacus	143 AA	16659
Mulgotoksin A	Pseudechis australis	122 AA	13000

(34) AA: Amino asit

**Tablo 2.** Kas yıkımlanmasına sebep olan diğer toksinler.

Toksinin ismi	Yılan türü	Molekül ağırlığı	Aminoasit sayısı	ÖD 50 (mg/kg)
Krotamin	C. durissus terrificus	5202	42	1.5 (Dİ)
Peptid C	C. viridis helleri	4989	43	1.96 (Dİ)
Miyotoksin A	C. viridis viridis	4828	42	3.0 (Kİ)
CAM	C. adamenteus	5202	45	0.9 (DA)

(34)

### Kardiyotoksinler

Kardiyotoksinler, yapısal olarak dört tane disülfid bağı içeren, izoelektrik pH'ı 12, ısıya duyarlı, 85°C'de %50, 100°C'de tamamiyle etkisiz kalan toksindir. Ultraviyole radyasyona duyarlıdır ve 15 dakikalık maruziyet sonucu etkinliğini kaybeder. **Kardiyotoksin**, kobra zehirinde en fazla bulunan zehirli bileşiktir ve zehirin kuru ağırlığının %40'ını oluşturur. Kardiyotoksinlerin kalp üzerindeki etkilerinin yanı sıra trombosit kümeleşmesini engelleyici, iskelet kaslarında depolarizasyon yapıcı ve AKE etkinliği engelleyici etkisi de vardır (25).

Kalp kası üzerindeki etkisini; kalp kasına bağlanarak, kalp sarkolemmal membran vezikülü Ca-Mg ATPaz'ı etkileyerek gösterir. Sığır kalp dokusu üzerinde, 10 mikromol kardiyotoksin ATP hidroliz oranını ve sarkolemmal Ca-Mg ATPaz aracılığıyla sarkolemmal veziküllere kalsiyum taşınmasını artırır. *Kenya yeşil mamba* (*Dentroaspis angusticeps*) zehirinin kardiyotoksik etkisi araştırılmış ve bu etki; hücrelerde yapısal değişikliklere, laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyine ve hücre erimesine göre değerlendirilmiştir. Zehir, altı kısımda (Da<sub>I</sub>-Da<sub>VI</sub>) incelenir. Da<sub>I</sub>-Da<sub>IV</sub> kalpte yapısal bozulmaya sebep olur ve LDH düzeyi yükselir. Da<sub>IV</sub> bütün zehir proteinlerinin %54'ünü oluşturur. Bu proteinler 18 polipeptid'e (Da<sub>1</sub>-Da<sub>18</sub>) ayrılmıştır. Bu toksinlerin miyokardiyal kasılmayı ortadan kaldırmasının

temelinde, hücresel yapının bozulması, hücre membranlarının erimesi ve LDH salınması yatar. Bu 18 polipeptid'den; Da<sub>1</sub>-Da<sub>3</sub> kardiyotoksin; Da<sub>4</sub>-Da<sub>12</sub>, Da<sub>14</sub> kardiyotoksin benzeri polipeptiddir; Da<sub>13</sub>, Da<sub>15</sub>-17 zayıf membran eritici polipeptidlerdir; Da<sub>18</sub> membran eritici polipeptiddir; Da<sub>7</sub>-Da<sub>11</sub> kardiyotoksin benzeri polipeptidlerdir ve miyokardiyal hücre kültürlerinde hücre membranının erimesine sebep olur. Yüksek molekül ağırlıklı Da<sub>I</sub>-Da<sub>III</sub>'ün sinerjik ve aditif kardiyotoksik etkileri vardır. Düşük molekül ağırlıklı kolinomimetik substratlar (Da<sub>V</sub>-Da<sub>VI</sub>) ve kardiyotoksinlerin dört alt grubu kalp-damar sistemi bozukluklarına yol açar. Kobra zehiri kardiyotoksinleri sistolik kalp krizine sebep olur (23, 33, 40).

Kardiyotoksinlerin kalp üzerine olan etkilerinin yanısıra; kan, iskelet kasları ve AKE üzerinde de pek çok etkileri bulunmaktadır.

*Naja naja atra* ve *Naja naja kaouthia* zehirlerinden izole edilen kardiyotoksinler hemolize sebep olur. Hemoliz, kan hücrelerinin genç veya olgun olmasına (olgunlar genellikle daha duyarlıdır) ve bazı metallere bağlıdır. Ca<sup>+2</sup> yada Sr, Ba<sup>+2</sup> N. naja kaouthia ve N. naja atra zehirlerinin sebep olduğu hemolizi şiddetlendirir (27).

*Naja nigricollis crawshavi* zehirinden izole edilen kardiyotoksin, trombosit kümeleşmesini önler

ve pıhtılaşmayı önleyici etkisi diğer kardiyotoksinlerden daha güçlüdür. *Naja naja oxima* zehirinden izole edilen *nörotoksin II*, kardiyotoksinlere yapısal olarak benzemesine rağmen; hücreleri eritmez ve trombositler üzerinde herhangi bir etki göstermez (28, 29).

Kobra kardiyotoksinler, iskelet kaslarında depolarizasyona sebep olur. Amino asit dizilişleri ile depolarizasyon gücü arasındaki ilişkide, ikinci ve üçüncü loba lizin 46, serin 48 ve lizin 52 kalıntılarının önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, kas sarkolemmasının yapısını bozarak kaslarda harabiyete de sebep olur. Kobra kardiyotoksinler, tavuk biventer serviks kasını dönüştürsüz olarak

kasar. Toksin, kaslarda kasılmaya sebep olan kafeinden 200 kat daha etkilidir. Kardiyotoksin, membran kalsiyumunu bağlayan bölgeye etkiyerek kas membranının Na'a geçirgenliğini artırmaktan daha ziyade membran kalsiyumunu salıvererek kasılmaya sebep olur (5, 20, 22, 32).

Kardiyotoksinler; aynı zamanda kolin esteraz etkililiğini de engellerler. Protamin ve polilizin gibi çeşitli kolinesterazların etkilerini güçlü bir şekilde önler. Etkisini; kolinesteraz moleküllerinin anyonik bölgesine, toksinin bazik gruplarının iyonik bağ ile bağlanıp kolin esterazı etkisiz hale getirerek gösterir. Kobra kardiyotoksinlerin memeli kalbi üzerindeki etkisi tablo 3'de verilmiştir (33).

**Tablo 3.** Kobra kardiyotoksinlerin memeli kalbi üzerindeki etkisi.

Zehir solüsyonunun yoğunluğu	Zehir solüsyonunun perfüzyonundan sonraki durum
1/ 90.000	Hız ve amplitütdaki artmayı takiben, azalma
1/ 45.000	Düzenli kalp atışını, çok kısa amplitütlü olan düzensiz kalp atışı takib eder.
1/ 39.000	Sistolde durur
1/ 3400	Sistolde durur

(26)

#### KAYNAKLAR

1. Aird SD, Kaiser II, Lewis VR. et al. Rattlesnake presynaptic neurotoxins: Primary structure and evolutionary origin of the acidic subunit. *Biochem* 1985; 24(25): 7054-7058.
2. Anthony TTu. Overview of snake venom chemistry. *Adv Exp Med Biol* 1996; 391: 37-65.
3. Aronson DL. Comparison of the actions of thrombin and the thrombin-like venom enzymes ancrod and batroxobin. *Thromb Haemost* 1976; 31(1): 9-13.
4. Benoit E and Dubois JM. Toxin I from the snake *Dendroaspis polylepsis polylepsis*: a highly specific blocker of one type of potassium channel in myelinated nerve fiber. *Brain Res* 1986; 377: 374-377.
5. Betzel C, Lange G, Pal GP. et al. The Refined crystal structure of  $\alpha$ -Cobrotoxin from *Naja naja siamensis* at 2.4-Å resolution. *Jour Biol Chem* 1991; 266(32): 21530-21536.
6. Bjarnason JB and Fox JW. Proteolytic specificity and cobalt exchange of hemorrhagic toxin e, a zinc protease isolated from the venom of the western Diamondback Rattlesnake (*Crotalus atrox*). *Biochem* 1983 ;22(16): 3770-3778.
7. Black AR, Breeze AL, Othman IB. et al. Involment of neural receptors for dendrotoxin in its cocclusive action in rat brain. *Biochem J* 1986; 237: 397-404.
8. Black AR, Donegan CM, Denny BJ. et al. Solubilisation and physial characterization of acceptors for Dendrotoxin and  $\beta$ -Bungarotoxin from synaptic membranes of rat brain. *Biochem* 1988; 27(18): 6814- 6820.
9. Chang LS. Chemical modification of notexin from *Notechis scutatus scutatus* (Australian tiger snake) venom with pyridoxal-5'- phosphate. *J Protein Chem* 1996; 15(5): 473-475.
10. Christna G, Sorensen RG, Brown,WE. et al. Four polypeptide components of Green Mamba venom selectively block certain potassium chanelns in rat brain synaptosomes. *Molec Pharm* 1988; 34: 152-159.
11. Chwetzoff S, Mollier P and Bouet F. On the purification of notexin. *Fed Eur Biochem Sos Sym* 1990; 261(2): 226-230.
12. Dajas F, Bolioli B, Castello ME. et al. Rat striatal ecetylcholinesterase inhibition by Fasculin (a polypeptide from green mamba snake venom). *Neurosci Lett* 1987;77: 87-91.

13. Dixon RW and Harris JB. Myotoxic activity of the toxic phospholipase, notexin, from the venom of the Australian tiger snake. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55(12): 1230-1237.
14. Fabiano RJ and Tu AT. Purification and biochemical study of viriditoxin, tissue damaging toxin, from prairie rattlesnake venom. *Biochem* 1981; 20(1): 21-27.
15. Faure G, Guillaumejean L and Camoin L. Multiplicity of acidic subunit isoforms of crotoxin, the phospholipase A<sub>2</sub> Neurotoxin from *Crotalus durissus terrificus* venom, result from posttranslational modification. *Biochem* 1991; 30(32): 8074-8083.
16. Fohlman J, Earker D, Karlsoon, E. et al. Taipoxin, an extremely potent presynaptic neurotoxin from the venom of the Australian Snake Taipan. Isolation, characterisation, quaternary structure and pharmacological properties. *Eur J Biochem* 1976; 68(2): 457-469.
17. Francis B, Williams ES, Seebart C. et al. Amino acid sequence of a new type of toxic phospholipase A<sub>2</sub> from the venom of the Australian Tiger snake. *Arch Biochem Biophys* (1995), 318(2): 481-488.
18. Gandolfo G, Lambeau G, Lazdunski M. et al. Effects on behaviour and EEG of single chain phospholipases A<sub>2</sub> from snake venoms injected into rat brain: Search for a functional antagonism. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78: 341-347.
19. Goas RL, Steven R, Mikou A. et al.  $\alpha$ -Cobratoxin: Proton NMR assignments and solution structure. *Biochem* 1992; 31(20): 4867-4875.
20. Gutierrez J M and Cerdas L. Mechanism of action of myotoxins isolated from snake venoms. *Rev Biol Trop* 1984; 32(2): 213-222.
21. Harvey AL and Anderson AJ. Dendrotoxins. *Pharmac Ther* 1985; 31: 33-55.
22. Hodges SJ, Agbaji AS, Harvey AL. et al. Cobra cardiotoxins purification, effect on skeletal muscle and structure/activity relationship. *Eur J Biochem* 1987; 165(2): 373-383.
23. Huang JL and Trumble WR. Cardiotoxin from cobra venom affect the Ca-Mg-ATPase of cardiac sarcolemmal membrane vesicle. *TOXIA* 1991; 29(1): 31-41.
24. Hurst A, Busch MP, Kavanagush PB. et al. Identification of amino acid residues involved in dendrotoxin block of rat voltage-dependent potassium channels. *Molec Pharm* 1991; 40: 572-576.
25. Iyaniwura TT. Snake venoms constituents: Biochemistry and Toxicology (part 2). *Vet Hum Toxicol* 1991; 33(5): 475-479.
26. Iyaniwura TT. Snake venom constituents: Biochemistry and Toxicology (part 1) *Vet Hum Toxicol* 1991; 33(5):468-474.
27. Jiang MS. Factors influencing the hemolysis of human erythrocytes by cardiotoxins from *Naja naja kaouthia* and *Naja naja atra* venoms from *Bungarus fasciatus* venom. *TOXIA* 1989;27(2): 247-257.
28. Kini RM and Evans HJ. Mechanism of platelet effects of cardiotoxins from *Naja nigricollis* crawshawii (spitting cobra) snake venom. *Thomb Res* 1988; 52(3): 185-195.
29. Kini RM, Haar NC and Evans HJ. Non-enzimatic inhibitors of coagulation and agregation from *Naja nigricollis* venom are cardiotoxins. *Biochem Biophys Res* 1988; 150(3): 1012-1016.
30. Lambeau G, Barhain J, Schweitz H. et al. Identification and properties of very high affinity brain membrane-binding sites for a neurotoxic phospholipase from the Taipan venom. *Jour Biol Chem* 1989; 264(19): 11503-11510.
31. Lambeau G, Lazdunski M and Barhanin J. Properties of receptors for neurotoxic phospholipase A<sub>2</sub> in different tissues. *Neurochem Res* 1991; 16(6): 651-658.
32. Lin SY, Huang MC and Lee CY. Mecanism of action of cobra cardiotoxin in the skeletal muscle. *TOXIA* 1976; 14(6): 418-419.
33. Lin SY, Liaco C and Lee CY. Mecanism of anticholinesterase activities of cardiotoxin, protamine and polylysine. *Biochem J* 1977; 161(2): 229-232.
34. Meier J and Stocker KF. Biology and distribution of venomous snakes of medical importance and the composition of snake venoms. In: Meier j and White J, editors. *Clinical Toxycology of Animal Venoms and Posions*. CRC press, New York. 1995; 367-412.
35. Menez R and Ducruix A. Preliminary x-ray analysis of crystals of fasciculun 1, a potent acetylcholinesterase inhibitor from green mamba venom. *Mol Biol* 1990; 216: 233-234.



36. Pearson JA, Tyler MI, Retson KV et al. Studies on the subunit structure of textilotoxin. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1077(2): 147-150.
37. Petersen M, Penne R, Pierau K. et al.  $\beta$ -Bungarotoxin inhibits a non-inactivating potassium current in guinea pig dorsal root ganglion neurones. *Neurosci Lett* 1986; 68: 141-145.
38. Quillfeldt J, Raskovsky S, Dalmaz C. et al. Bilateral injection of fasciculin into the amygdala of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37: 439-444.
39. Sharp NJ, Karnegay JN, Bartlett et al. Notexin-induced muscle injury in the dog. *J Neurol Sci* 1993; 116(1): 73-71.
40. Tonsing L and Potgieter DJ, Louw AI. et al. The binding of snake venom cardiotoxins to heart cell membranes. *Biochim Biophys Acta* 1983; 732(1): 282-288.
41. Tsai IH, Liu HC and Chang T. Toxicity domain in presynaptically toxic phospholipase A<sub>2</sub> of snake venom. *Biochim Biophys Acta* 1987; 916: 94-99.
42. Tzeng MC, Yen CH, Hseu MJ et al. Binding proteins on synaptic membranes for crotoxin and taipoxin, two phospholipases A<sub>2</sub> with neurotoxicity. *TOXIA* 1995; 33(4): 451-457.
43. Utai-incharoen P, Baker B and Anthony T. Binding of myotoxin a to sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase: A structural study. *Biochem* 1991; 30(33): 8211-8216.