KONRAD K. HUS, ALEKSANDRA BOCIAN

*Zakład Biotechnologii i Bioinformatyki
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów
E-mail: bocian@prz.edu.pl*

POTENCJAŁ FARMAKOLOGICZNY SKŁADNIKÓW JADU WĘŻY

WPROWADZENIE

Obecnie na świecie znanych jest około 3.500 gatunków węży, z czego jedynie 10 do 15% jest jadowitych (UETZ i współaut. 2018). Systematyczny podział węży jest skomplikowany i nieustannie zmieniany na podstawie nowo przeprowadzonych badań. Obecnie do tych celów wykorzystuje się raczej nowoczesne techniki molekularne opierające się na analizie sekwencji DNA, niż morfologię zwierząt, jak miało to miejsce w przeszłości. Dlatego też podział węży na podrodziny i rodziny nie będzie szczegółowo opisany w niniejszym artykule. Należy jednak zaznaczyć, że nie we wszystkich grupach systematycznych znajdują się węże jadowite, czego przykładem mogą być np. boa czy pytony, podczas gdy w innych grupach wszystkie zaklasyfikowane tam gatunki są jadowite. Węże jadowite należą do rodzin: Viperidae (żmijowate, obejmującej żmije i grzechotniki), Elapidae (zdradnicowate, w tym kobry, mamby i tajpany), Hydrophiidae (węże morskie) oraz Colubridae (położowate, aczkolwiek tylko część z nich jest jadowita). Węże jadowite mają złożony system produkcji jadu oraz mniej lub bardziej skuteczny system jego dostarczania. Aparat jadowy składa się z dużego gruczołu jadowego, będącego przekształconym gruczołem ślinowym, kanału przewodzącego oraz ostrych zębów jadowych zakończonych niewielkimi otworkami na końcach (COBORN 1993).

Wszystkie węże z rodzin Viperidae i Elapidae zdolne są do produkcji jadu i jego aktywnego wstrzykiwania do ciała ofiary i to wężom z tych grup poświęconych jest naj-

więcej badań dążących do poznania składu i właściwości jadów.

SKŁADNIKI JADU I JEGO WŁAŚCIWOŚCI

Uważa się, że jad węży jest jednym z najbogatszych naturalnych źródeł składników aktywnych biologicznie i farmakologicznie (GEORGIEVA i współaut. 2014). Jest to złożona mieszanina wolnych aminokwasów, amin, lipidów, niskocząsteczkowych węglowodanów, jonów metali, nukleozydów, a przede wszystkim białek i peptydów, które stanowią około 95% suchej masy jadu (FOX i SERRANO 2008, WARREL 2010). Tuż po uwolnieniu z gruczołu, jad ma postać lepkiego płynu, który w zależności od gatunku, może przybierać zabarwienie żółtawe, zielonkawe lub być niemal zupełnie bezbarwny. Jego głównym składnikiem jest woda, której zawartość wynosi 50-70%. Jako wysoce stabilna mieszanina substancji naturalnych jad odporny jest na zmiany temperatury, suszenie i działanie substancji chemicznych (GOLD I WSPÓLAUT. 2002).

Wielka różnorodność komponentów powoduje, że jad spełnia wiele rozmaitych funkcji w zaatakowanym przez węża organizmie. Po przedostaniu się do ustroju ofiary powoduje jego uszkodzenia, szybko następujący paraliż i w następstwie śmierć. Dodatkowo enzymy jadu biorą udział w początkowym procesie trawienia. Liczne właściwości jadu, wynikające z różnorodności składników, sprawiają, że węże mogą żywić się szeroką gamą stworzeń zdobywanych w krótkich odstępach czasu (COBORN 1993).

Ze względu na specyficzność działania i rodzaj atakowanych tkanek, w jadzie węży wyróżnia się następujące typy toksyn (KOH I WSPÓLAUT. 2006):

- wpływające na ośrodkowy układ nerwowy,
- wpływające na układ sercowo-naczyniowy,
- wpływające na układ mięśniowy,
- zaburzające proces krzepnięcia krwi.

Natomiast ze względu na skutki działania jadu wyróżnia się następujące rodzaje (WHO 2010):

- cytotoksyczne – działanie jadu przejawia się powstawaniem krwotoków wewnętrznych, siniaków, pęcherzy i bolesnych obrzęków, będących skutkiem utraty płynu wewnątrz-naczyniowego oraz postępującej martwicy tkanki. Wpływają wyniszczająco na wiele komórek ustroju. Ten typ jadu głównie posiadają węże z rodziny żmijowatych, a także kobry plujące;
- hemotoksyczne – jady zawierają substancje silnie wpływające na układ hemostazy. Mają szerokie spektrum oddziaływań we krwi, wykazują zdolność zarówno do aktywacji, jak i inhibicji czynników krzepnięcia. Wchodzą w interakcję z trombocytami zmieniając ich funkcję, przyczyniają się także do aglutynacji erytrocytów. W efekcie doprowadza to do licznych uszkodzeń śródbłonna naczyń i wykrwawienia się ofiary. Występują u węży z rodziny Elapidae i Colubridae;
- neurotoksyczne – składniki tego typu jadu oddziałują z receptorami znajdującymi się w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym. Ich szkodliwa aktywność polega na blokowaniu przekaźników nerwowych, co skutkuje porażeniem mięśni szkieletowych, uniemożliwia lokomocję i proces oddychania, a w następstwie prowadzi do śmierci. Jad ten spotykany jest w głównej mierze u węży z rodziny żrąkowatych i u węży morskich;
- miotoksyczne – te składniki jadu wywołują szereg uszkodzeń mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego, a także mięśni gładkich. Jad tego typu jest powszechny u różnych grup systematycznych.

Poszczególne skutki działania jadu na organizm ofiary rzadko występują pojedynczo, najczęściej spotyka się jady posiadające wszystkie wymienione właściwości, ale w różnych proporcjach, dlatego też efekty ich działania są różnorodne. Na skład jadu wpływa szereg czynników warunkujących zawartość określonych związków. Należą do nich: gatunek, wiek, rozmieszczenie geograficzne, rodzaj zdobywanego pokarmu, a także pora roku i płeć osobnika (CHIPPAUX I WSPÓLAUT. 1991).

Uważa się, że za toksyczne właściwości jadu odpowiadają wyłącznie białka i peptydy. Jak wspomniano wcześniej stanowią one

ok. 95% wszystkich składników jadu i można je podzielić na trzy główne grupy:

1. białka nieenzymatyczne, np. toksyny z motywem trzech palców (3FTx), białka lektyno-podobne, białka bogate w cysteinę (ang. cysteine rich secretory protein, CRISP), inhibitory proteaz, czynnik wzrostu nerwów (ang. venom nerve growth factor, VNGF), czynnik CVF (ang. cobra venom factor);

2. enzymy, np. proteazy serynowe, metaloproteazy, fosfolipazy A₂, oksydazy L-aminokwasowe, 5'-nukleotydazy;

3. peptydy niskocząsteczkowe, np. natriuretyczne, antydiuretyczne, bradykinino-, angiotensyno- i endotelino-podobne.

POTENCJAŁ FARMAKOLOGICZNY SKŁADNIKÓW JADU

Wiele spośród białek i peptydów jadu wykazuje działanie farmakologiczne i dzięki temu ich potencjalne wykorzystanie w leczeniu ludzi wydaje się możliwe. Do najbardziej obiecujących należą między innymi (GEORGIEVA I WSPÓLAUT. 2014):

- enzymy: fosfolipazy A₂, proteazy serynowe i metaloproteazy, oksydazy L-aminokwasowe, 5'-nukleotydazy, fosfodiesterazy, hialuronidazy, acetylocholinoesterazy;
- czynniki wzrostu nerwów;
- nieenzymatyczne czynniki wpływające na krzepnięcie krwi: lektyny typu C, dezintegryny;
- aktywatory i inhibitory stanu zapalnego czy wstrząsu septycznego;
- cyto- i neurotoksyny z grupy białek z domeną trzech palców (3FTx);
- mio- i kardiotoksyny;
- peptydy natriuretyczne, wzmacniające działanie bradykininy.

Związków tych jest tak wiele, że nie sposób ich wszystkich rzetelnie opisać w jednym artykule. Przedstawione tutaj zostaną jedynie przykłady leków stosowanych w medycynie oraz kilka najbardziej obiecujących przykładów związków będących dopiero na etapie badań naukowych.

Sztandarowym przykładem wykorzystania potencjału jadu węży w medycynie jest captopril, który jest lekiem stosowanym u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i działa na układ renina-angiotensyna-aldosteron odpowiedzialny u ludzi za kontrolę ciśnienia krwi. Na system ten składają się trzy hormony peptydowe: renina, której zadaniem jest przekształcenie angiotensynogenu do angiotensyny I, angiotensyna II, pobudzająca korę nadnerczy do produkcji aldosteronu, który z kolei powoduje, że nerki zatrzymują sól w organizmie, czego efektem jest wzrost ciśnienia krwi. Do przekształcenia angiotensyny I w angiotensynę II niezbędny jest

enzym ACE, czyli konwertaza angiotensyny, która jest celem molekularnym dla captoprilu (SMITH i VANE 2003). Lek ten został zaprojektowany na bazie małego peptydu zwanego teprotide, pochodzącego z jadu południowoamerykańskiego gatunku żararaki (*Bothrops jararaca*). Intensywne badania wykazały, że peptyd ten jest inhibitorem kompetycyjnym enzymu ACE, co oznacza, że wpasowuje się w miejsce aktywne enzymu, w którym powinna znaleźć się angiotensyna I, ale w odróżnieniu od niej nie ulega przecięciu i uwolnieniu, tylko blokuje je uniemożliwiając związanie się cząsteczek angiotensyny. Na podstawie budowy peptydu teprotide zsyntetyzowano cząsteczkę, która potrafiła oddziaływać z miejscem aktywnym konwertazy angiotensyny hamując jej działanie i tak powstał pierwszy, używany do dziś inhibitor ACE (CUSHMAN i ONDETTI 1991, OPIE i KOWOLIK 1995, PATLAK 2003).

BIĄŁKA ZABURZAJĄCE KRZEPNIĘCIE KRWI

Jad węży, zwłaszcza należących do rodziny żmijowatych, jest bogaty w składniki wpływające na kaskadę krzepnięcia krwi, mogące zarówno przyspieszać, jak i spowalniać koagulację krwi (WHITE 2005). Zaliczyć tu można przede wszystkim proteazy serynowe, które aktywują czynniki krzepnięcia V i X (przekształcając je odpowiednio do Va i Xa) oraz protrombinę (do trombiny), powodujące przyspieszenie krzepnięcia krwi (ROSING i WSPÓLAUT. 2001). Jednak do tej samej grupy białek należą także aktywatory białka C (np. z mokasy na miedziogłowca *Agkistrodon contortrix*), które inaktywują czynnik Va hamując w ten sposób kaskadę krzepnięcia krwi (MURAKAMI i ARNI 2005). Metaloproteazy różnią się od proteaz serynowych mechanizmem przeprowadzania reakcji katalitycznej. W przypadku proteaz serynowych, kluczowym elementem centrum katalitycznego enzymu jest reszta seryny, natomiast dla metaloproteaz z jadu węży do prawidłowego działania enzymu niezbędny jest atom cynku. Podobnie jak proteazy serynowe, metaloproteazy mają właściwości pro- i anty-koagulacyjne. Są ponadto odpowiedzialne za obrzęki, stany zapalne, uszkodzenia i obumieranie skóry, a także wstrząs sercowo-naczyniowy. Jednak głównym efektem ich działania są krwotoki, które wynikają m. in. z zahamowania agregacji płytek krwi i uszkodzenia macierzy zewnątrzkomórkowej i zewnątrzmacicznej (np. kolagenu i proteoglikanów) (FOX i SERRANO 2009, FATIMA i FATAH 2014).

Wiele proteaz serynowych i metaloproteaz z jadu węży ma właściwości fibrynogeno-

fibrynolityczne, co oznacza, że potrafią hydrolizować fibrynogen do fibryny oraz samą fibrynę. Takie działanie powodować może z jednej strony rozpuszczanie już istniejących skrzepów zbudowanych z fibryny, a z drugiej, zapobieganie powstawaniu nowych, przez eliminowanie prekursora ich składnika budulcowego – fibrynogenu. Enzymy o tych pierwszych właściwościach nazywane są fibrynogenazami, natomiast te drugie enzymami trombino-podobnymi. Do fibrynogenaz stosowanych w przypadku udarów i niedrożności tętnic obwodowych zaliczyć możemy: atroksazę (ang. atroxase) z jadu grzechotnika teksańskiego (*Crotalus atrox*) i afaacytinę (ang. afaacytin) z jadu żmii rogatej (*Cerastes cerastes*) (KOH i WSPÓLAUT. 2006). Najbardziej znanymi przykładami enzymów trombino-podobnych pochodzących z jadu węży, stosowanych w przypadku zawału mięśnia sercowego, udarów niedokrwiennych i zakrzepicy żył są ankrod (ang. ancrod) z jadu mokasy na gładkiego (*Calloselasma rhodostoma*) oraz batroksobina (ang. batroxobin) z jadu żararaki lancetowatej (*Bothrops atrox*) (Kini 2006).

W 1998 r. na rynku pojawiły się niezależnie dwa leki oddziałujące z płytkami krwi, zapobiegające ich agregacji i tworzeniu skrzepów. Były to eptyfibatyd, opracowany na podstawie 73-aminokwasowego polipeptydu pochodzącego z jednego z podgatunków grzechotnika karłowatego (*Sistrurus milarius barbouri*). Drugim lekiem o tym samym działaniu był tirofiban, zaprojektowany na bazie 49-aminokwasowego polipeptydu echiostatyny znajdującej się w jadzie efy piaskowej (*Echis carinatus*) (KOH i WSPÓLAUT. 2006). Oba pierwotne białka należą do dezintegryn i naturalnie hamują aktywność płytek krwi zapobiegając ich integracji i agregacji. Oba leki stosowane są u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym i po interwencjach wieńcowych, a ich celem jest przywrócenie prawidłowego krążenia w naczyniach zatkniętych płytkami miażdżycowymi (HARVEY 2014).

BIĄŁKA O DZIAŁANIU PRZECIWNOWOTWOROWYM

Choroby nowotworowe zaliczane do chorób cywilizacyjnych są plagą współczesnych czasów. Dlatego też szczególną uwagę poświęca się poszukiwaniu nowych substancji leczniczych umożliwiających skuteczną walkę z rakiem. Wiele białek i peptydów pochodzących z jadów ma działanie cytotoksyczne. Nic więc dziwnego, że wiele zespołów naukowych zajmuje się badaniem ich wpływu na komórki nowotworowe. Wśród białek o potencjalnych właściwościach antynowotworowych na szczególną uwagę zasługują przede

wszystkim dezintegryny, a także oksydazy L-aminokwasowe (LAAO), fosfolipazy A₂ (PLA₂) i cytotoksyny.

Wspomniane w poprzednim rozdziale dezintegryny są także inhibitorami integryn, transbłonowych glikoprotein odpowiedzialnych za wzrost i różnicowanie komórek, także nowotworowych oraz ich przerzutowanie. W trakcie tworzenia przerzutów, komórki nowotworowe guza indukują agregację płytek krwi, co ma ułatwić dokonanie przerzutu. Białka takie jak rodostamina z jadu mokasya gładkiego hamują ten proces. Ponadto, białko to hamuje także proces angiogenezy, czyli tworzenia przez tkankę nowotworową nowych naczyń krwionośnych, które mają zapewnić wzmożone dostarczanie składników odżywczych do rozrastającego się guza (MARCINKIEWICZ 2005).

Oksydazy L-aminokwasowe to grupa białek zdolnych do katalizy utleniania aminokwasów do ketokwasów, a produktem ubocznym tej reakcji jest nadttlenek wodoru. H₂O₂ ma silne właściwości oksydacyjne i powoduje uszkodzenia struktur komórkowych, m.in. białek i kwasów nukleinowych i w tym właśnie upatruje się mechanizmu cytotoksycznego działania tej grupy enzymów. Jednym z białek LAAO badanych pod kątem właściwości antynowotworowych była apoksyna 1 (ang. apoxin 1), pochodząca z jadu grzechotnika teksańskiego. Białko to było testowane na liniach komórkowych ludzkiej białaczki (HL-60) poprzez podanie go zewnątrz do medium hodowlanego. Udowodniono, że nie wnikało ono do wnętrza komórek. Sugeruje się więc, że mechanizm działania polega na generowaniu nadttlenku wodoru w pobliżu komórek i to on wywołuje apoptozę komórek udokumentowaną m.in. fragmentacją DNA. Innym przykładem może być LAAO z gatunku *Trimeresurus flavoviridis*, która wykazywała cytotoksyczność w stosunku do komórek ludzkiego glejaka. W tym przypadku ostatecznie udowodniono, że mechanizm działania jest ściśle związany z H₂O₂, ponieważ antynowotworowe właściwości LAAO zanikały w obecności katalazy, enzymu rozkładającego nadttlenek wodoru (CALDERON i współaut. 2014).

Fosfolipazy A₂ to grupa enzymów uwalniających kwasy tłuszczowe z glicerolofosfolipidów, poprzez hydrolizę wiązania estrowego w pozycji sn-2. Udowodniono, że białka z tej grupy mają właściwości hamujące wzrost guzów nowotworowych, migrację komórek rakowych i angiogenezę. Cechy takie mają między innymi białka CC-PLA2-1 i CC-PLA2-2 występujące w jadzie żmii rogatej i MVL-PLA2 ze żmii lewentyńskiej (*Macrovipera lebetina transmediterranea*). Niektóre białka z tej grupy mają także bezpośrednie dzia-

łanie cytotoksyczne względem komórek nowotworowych, a nie tylko hamujące wzrost i rozwój, jak te opisane powyżej. Przykładami mogą być: BthA-I-PLA2 pochodząca z jadu jednego z gatunków żararaki (*Bothrops jararacussu*), która wykazuje właściwości cytotoksyczne w stosunku do komórek białaczki i raka piersi oraz syntetyczne analogi o nazwach p-AppK i pEM-2 opracowane na podstawie fosfolipazy A₂ produkowanej przez mokasya błotnego (*Agkistrodon piscivorus*). Te ostatnie wykazują efekt toksyczny w stosunku do wielu linii komórek nowotworowych, m.in. czerniaka i szpiczaka (CALDERON i współaut. 2014).

Cytotoksyny to niskocząsteczkowe białka charakterystyczne dla jadu węży z grupy Elapidae. Jak sama nazwa wskazuje mają one naturalne właściwości cytotoksyczne, jednak nie uszkadzają wszystkich komórek jednakowo. Dlatego poszukuje się takich cytotoksyn, które będą miały wysoką skuteczność w stosunku do komórek nowotworowych, a jednocześnie nie będą uszkadzać komórek prawidłowych, znajdujących się w tkankach otaczających guz. Mechanizm działania cytotoksyn nie jest do końca poznany, jednak obserwowane skutki wskazują wyraźnie na uszkodzenia błon komórek. W wielu przypadkach obserwowano powstawanie pęcherzyków na powierzchni komórek oraz perforacje błony, co skutkuje utratą integralności komórki i jej apoptozą. Efekt taki obserwowano na liniach komórek białaczki między innymi dla cytotoksyny o masie 6,7 kDa wytwarzanej przez kobrę nepalską (*Naja kaouthia*) i białka drCT1 z jadu dabo i łańcuskowej (*Daboia russelli*) (VYAS i współaut. 2013).

SUBSTANCJE O DZIAŁANIU PRZECIWBÓLOWYM

Wiele substancji leczniczych opracowanych na bazie białek i peptydów pochodzących z jadu węży jest lub było poddawane badaniom klinicznym. Nie wszystkie zakończyły się sukcesem, w niektórych przypadkach działanie było inne niż zakładano na podstawie badań na modelach zwierzęcych, w innych przypadkach pojawiały się nieprzewidziane skutki uboczne (HARVEY 2014).

W innych przypadkach badania zakończono bez podania do wiadomości przyczyny. Tak było w przypadku prohaniny, substancji opracowanej na podstawie α-neutotoksyny z jadu kobry królewskiej (*Ophiophagus hannah*). Lek ten testowany był jako substancja przeciwbólowa, która, mimo że powstała na bazie neurotoksyny blokującej receptory nikotynowe w ośrodkowym układzie nerwowym, nie powodowała paralizu mięśni szkie-

letowych. Pomimo obiecujących wyników wstępnych badań, wskazujących, że proha-nina ma od 20 do 200 razy silniejsze dzia-łanie niż morfina i w odróżnieniu od niej może być podawana drogą doustną, dalsze postępowanie zostało zawieszone (HARVEY 2014).

Wiele nadziei wiązanych jest z przeciw-bólowym działaniem 14-aminokwasowego peptydu crotalfiny (ang. crotalphine), pocho-dzającej z grzechotnika straszliwego (*Crotalus durissus terrificus*). Peptyd ten dał bardzo obiecujące wyniki w trakcie testów na zwie-rzętach, podczas których udowodniono jego skuteczność jako leku doustnego oddziału-jącego z receptorami opioidowymi (GIORGI i współaut. 1993). Jako czynnik przeciwbó-łowy testowana jest też mambalina, białko znajdujące się w jadzie mambry czarnej (*Dendroaspis polylepis*), należące do grupy toksyn nazywanych 3FTx (ang. three finger toxin). Białko to blokuje specyficzną grupę kanałów jonowych w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym i wykazuje działa-nie uśmierzające w wielu typach bólu (DIO-CHOT i współaut. 2012, BARON i współaut. 2013).

INNE BIAŁKA ODDZIAŁUJĄCE W OBSZARZE UKŁADU NERWOWEGO

Wiele uwagi poświęca się także neuro-toksynom oddziałującym z receptorami w ośrodkowym i obwodowym układzie ner-wowym. Do grupy niezwykle interesujących białek należą toksyny muskarynowe (MT) odkryte po raz pierwszy u mambry zielonej (*Dendroaspis viridis*). Początkowo uważa-no, że białka te występują jedynie w jadzie mamb, jednak z czasem wykryto je także u kobra z rodzaju *Naja* i *Bungarus*. Są to jedy-ne naturalne cząsteczki peptydowe zdolne do selektywnego wiązania się z muskarynowymi receptorami acetylocholino, mAChR. Począt-kowo wykorzystywano MT do lokalizacji mA-ChR w układzie nerwowym oraz badania ich funkcji. Dzięki temu odkryto, że u pacjentów cierpiących na choroby Alzheimera i Parkinsona zmienia się rozkład i ilość tych receptorów, co wiąże się bezpośrednio z zaburzeniami pamięci, funkcji poznawczych i motorycznych. Udowodniono, że selektyw-ne blokowanie receptorów muskarynowych przywraca prawidłowe funkcje motoryczne i dlatego uważa się, że substancje lecznicze oparte na toksynach muskarynowych mogły-by posłużyć do leczenia chorób neurodege-neracyjnych (KOH i współaut. 2006).

Drugą interesującą grupą białek, tym razem charakterystyczną tylko dla mamb (rodzaj *Dendroaspis*) są dendrotoksyny. Są to niewielkie białka zdolne do blokowania

kanałów sodowych zależnych od napięcia (ang. voltage-gated sodium channels), znaj-dujących się w neuronach. Związanie den-drotoksyny z kanałem powoduje intensywny napływ acetylocholino, co z kolei wywołuje nadmierne skurcze mięśni i drgawki. Głów-ne nadzieje wiąże się oczywiście z wykorzy-staniem właściwości tych białek w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych i epilepsji (KOH i współaut. 2006), ale jak wykazały niektóre badania, białka te mają również właściwości antynowotworowe, m.in. w stosunku do ko-mórek raka płuc i piersi (HARVEY 2013).

Niezwykle ciekawym białkiem występu-jącym w jadzie węży jest również czynnik wzrostu nerwów (VNGF). Białko NGF, nale-żące do neurofilin, występuje naturalnie u wszystkich kręgowców i odpowiada za roz-wój nowych neuronów, a także prawidłowe działanie już istniejących (np. pośredniczy w naprawie osłonki mielinowej). Nieprawidłowy poziom NGF może prowadzić do rozwoju depresji, miażdżycy i chorób neurodegenera-cyjnych. Stwierdzono, że niski poziom NGF powoduje obumieranie komórek β trzustki powodując rozwój cukrzycy, a niski poziom NGF we krwi zwiększa ryzyko zachorowania na schizofrenię. W latach 50. XX w. odkry-to białko VNGF w jadzie mokasyna błotne-go i stwierdzono, że, podobnie jak naturalny NGF, znacząco przyspiesza rozwój nerwów. Pokładano wtedy wielkie nadzieje zarówno w jego zdolności do naprawy otoczki mieli-nowej i potencjalnego leczenia stwardnienia rozsianego, jak i ochronie neuronów akty-wowanych acetylocholiną i leczeniu choroby Alzheimera. Późniejsze doniesienia wykaza-ły, że białko to zapobiega przerzutom nie-kórych nowotworów, np. raka płuc, oraz in-dukuje owulację, a więc podnosi płodność. Niestety, wszystkie pozytywne efekty zostały zepchnięte na drugi plan przez wywoływane działania niepożądane: stany zapalne i bóle oraz możliwość wystąpienia reakcji autoim-munologicznych (ZELIADT 2013). Pomimo że badania nad białkiem VNGF zostały w pew-nym momencie zarzucone, wydaje się ono w dalszym ciągu niezwykle ciekawym obiektem analiz. Być może w przyszłości przyczyni się ono do stworzenia leków na choroby neuro-degeneracyjne.

Jak się okazuje, białka pochodzące z jadu węży można wykorzystać nie tylko w medycynie, ale także w kosmetyce. Peptyd o nazwie waglieryna (ang. waglerin), występu-jący w jadzie trwożnicy Waglera (*Tropidola-emus wagleri*), jest neurotoksyną blokującą receptory nikotynowe w płytce motorycznej. Efektem zablokowania tego receptora jest paraliż mięśnia. Na podstawie tego peptydu zsyntetyzowano analog o nazwie Syn-ake, który stosowany jest jako zamiennik botok-

su: poprzez paraliż mięśni twarzy zapobiega tworzeniu się zmarszczek mimicznych. W odróżnieniu jednak od wspomnianej toksyny botulinowej jest głównie stosowany w postaci kremów i emulsji, a nie zastrzyków (DEBONO i współaut. 2017).

BIĄŁKA DZIAŁAJĄCE BAKTERIO- I WIRUSOBÓJCZO

Zdecydowanie najwięcej doniesień naukowych opisuje działanie antybakteryjne białek jadu, znane są także nieliczne doniesienia pokazujące działanie antywirusowe i przeciwgrzybiczne. Co ciekawe, białka o tych właściwościach należą do różnych grup funkcjonalnych.

Pierwszym przykładem jest produkowana przez kobrę chińską (*Naja naja atra*) kardiotoksyna 3, która wykazuje działanie antybakteryjne zarówno w stosunku do bakterii Gram-ujemnych (G-), jak i Gram-dodatnich (G+), aczkolwiek w przypadku tych ostatnich jest ono wyraźnie silniejsze. Działanie tego białka polega na zwiększeniu przepuszczalności ściany komórkowej bakterii, jednak mechanizm jest inny w zależności od grupy bakterii; u bakterii G- białko wiąże się z lipopolisacharydem i destabilizuje jego warstwy, natomiast u bakterii G+ wiąże się z kwasem lipotejchowym i ma zdolność do hamowania jego syntezy (CHEN i współaut. 2011).

Białko AHM, znalezione w jadzie gatunku *Agkistrodon halys*, jest z kolei metaloproteazą wykazującą działanie antybakteryjne w stosunku do bakterii G+ i G-, nawet tych, wykazujących oporność wielolekową. Enzym ten powoduje uszkodzenia błon, marszczenie powierzchni komórek i tworzenie na niej pęcherzyków. W konsekwencji błona i ściana komórek bakterii tracą integralność, następuje wyciek zawartości i śmierć komórek (SAMY i współaut. 2008).

Z kolei omwaprina (ang. omwaprin) występująca w jadzie tajpana pustynnego (*Oxyuranus microlepidotus*) jest 50-aminokwasowym białkiem pozbawionym aktywności enzymatycznej. Ma ono selektywne właściwości antybakteryjne w stosunku do bakterii G+, a jego działanie polega na uszkodzaniu błony komórkowej bakterii, co prowadzi do wycieku zawartości komórek i w konsekwencji ich śmierci. Białko to działa na błony komórkowe, a nie na ściany i dlatego nie ma wpływu na bakterie G-, jednak co ciekawe, nie uszkodza ludzkich erytrocytów w testach *in vitro*, więc jego działanie jest bardzo selektywne (NAIR i współaut. 2007).

Wspomniane wcześniej oksydazy L-aminokwasowe mają z kolei właściwości przeciwwirusowe, np. białko TSV-LAO produkowa-

wane przez trwożnicę bananową (*Trimeresurus stejnegeri*) hamuje replikację wirusa HIV-1 i powstrzymuje infekcję nowych limfocytów (ZHANG i współaut. 2003). Natomiast białko krotamina (ang. crotamine) z grzechotnika strasznego ma wprawdzie słabe działanie antybakteryjne, ale działa antypasożytniczo przeciwko pierwotniakom z rodzaju *Leishmania* oraz przeciwgrzybiczo na gatunki z rodzajów *Candida* i *Aspergillus* (WANG i współaut. 2016).

PODSUMOWANIE

Jad węży jest niezwykle bogatą mieszaniną białek i peptydów o potencjalnym znaczeniu farmakologicznym. Przez to, że poszczególne jego składniki mają za zadanie wywoływać różnorodny efekt u ukąszonej ofiary, mnogość ta jest niezwykle kusząca dla badaczy poszukujących nowych substancji leczniczych. Najwięcej badań poświęconych jest obecnie chorobom cywilizacyjnym, głównie nowotworowym i sercowo-naczyniowym. Jednak wraz ze starzeniem się społeczeństwa, coraz większą rolę odgrywają badania skupione na zapobieganiu i leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Kolejnym poważnym problemem, przed którym stoi współczesna medycyna, jest lekooporność bakterii. Coraz częściej pojawiają się szczepy bakteryjne odporne na antybiotyki, więc poszukiwanie nowych substancji o takich właściwościach również jest niezwykle istotne. W jadach węży obecne są białka, które potencjalnie mogą wykazywać pożądane cechy. Prawdopodobnie znajduje się tam jeszcze bardzo wiele innych białek i peptydów o niepoznanych dotąd właściwościach. Wydaje się zatem, że jad węży jeszcze długo będzie bardzo interesującym obiektem badań, które w przyszłości przyniosą wymierne efekty w postaci nowych leków.

Streszczenie

Spośród wszystkich zwierząt jadowitych i produkujących toksyny węże należą do grupy zwierząt dysponujących najbardziej złożonym jadem. W jego skład wchodzi ponad 100 różnych komponentów, do których należą zarówno toksyczne, jak i nietoksyczne białka i peptydy, a także małowcząsteczkowe węglowodany, lipidy, aminy i kationy metali. Ze względu na specyficzność działania i rodzaj atakowanych tkanek wyróżnia się jady działające cytotoksycznie, hemotoksycznie, neurotoksycznie i miotoksycznie. Skład jadu różni się nie tylko pomiędzy grupami systematycznymi, ale także zmienia się pod wpływem licznych czynników m.in. wieku, płci czy rodzaju spożywanego pokarmu. Przedstawiony powyżej podział został dokonany na podstawie klinicznych objawów ukąszenia, jednak w rzeczywistości większość jadów zawiera składniki klasyfikujące się do wszystkich wymienionych kategorii. Nierzadko też jedno białko może wykazywać więcej niż jedną funkcję, w zależności od tego czy działa samodzielnie, czy z innymi białkami. Niektóre białka

jadu są enzymami, inne nie mają aktywności katalitycznej, ale potrafią np. bardzo specyficznie wiązać się z określonymi receptorami, jeszcze inne działają hamująco na wzrost bakterii. Szeroki wachlarz właściwości oraz równie szerokie spektrum działania białek i peptydów pochodzących z jadu sprawia, że jad jest niezwykle interesującym materiałem badawczym o wysokim potencjale farmakologicznym. Obecnie dostępne są już na rynku produkty lecznicze opracowane na bazie składników jadu, a koronnym przykładem takiego leku jest captopril.

LITERATURA

- BARON A., DIOCHOT S., SALINAS M., DEVAL E., NOEL J., LINGUEGLIA E., 2013. *Venom toxins in the exploration of molecular, physiological and pathophysiological functions of acid-sensing ion channels*. *Toxicon* 75, 187-204.
- CALDERON L. A., SOBRINHO J. C., ZAQUEO K. D., DE MOURA A. A., GRABNER A. N., MAZZI M. V., MARCUSSI S., NOMIZO A., FERNANDES C. F., ZULIANI J. P., CARVALHO B. M., DA SILVA S. L., STÁBELI R. G., SOARES A. M., 2014. *Antitumoral activity of snake venom proteins: new trends in cancer therapy*. *Biomed. Res. Int.* 2014, 203639.
- CHEN L. W., KAO P. H., FU Y. S., LIN S. R., CHANG L. S., 2011. *Membrane-damaging activity of Taiwan cobra cardiotoxin 3 is responsible for its bactericidal activity*. *Toxicon* 58, 46-53.
- CHIPPAUX J. P., WILLIAMS V., WHITE J., 1991. *Snake venom variability: Methods of study, results and interpretation*. *Toxicon* 29, 1279-1303.
- COBORN J., 1993. *Atlas węży świata*. Muza S.A., Warszawa.
- CUSHMAN D. W., ONDETTI M. A., 1991. *History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme*. *Hypertension* 17, 589-592.
- DIOCHOT S., BARON A., SALINAS M., DOUGUET D., SCARZELLO S., DABERT-GAY A. S., DEBAYLE D., FRIEND V., ALLOUIA., LAZDUNSKI M., LINGUEGLIA E., 2012. *Black mamba venom peptides target acid-sensing ion channels to abolish pain*. *Nature* 490, 552-555.
- DEBONO J., XIE B., VIOLETTEA., FOURMY R., JAEGER M., FRY B. G., 2017. *Viper venom botox: the molecular origin and evolution of the waglerin peptides used in anti-wrinkle skin cream*. *J. Mol. Evol.* 84, 8-11.
- FATIMA L., FATAH C., 2014. *Pathophysiological and pharmacological effects of snake venom components: molecular targets*. *J. Clin. Toxicol.* 4, 190.
- FOX J. W., SERRANO S. M. T., 2008. *Exploring snake venom proteomes: multifaceted analyses for complex toxin mixtures*. *Proteomics* 8, 909-920.
- FOX J. W., SERRANO S. M. T., 2009. *Timeline of key events in snake venom metalloproteinase research*. *J. Proteom.* 72, 200-209.
- GEORGIEVA D., ARNI R. K., BETZE C., 2014. *Proteome analysis of snake venom toxins: pharmacological insights*. *Expert Rev. Proteom.* 5, 787-797.
- GIORGI R., BERNARDI M. M., CURY Y., 1993. *Analgesic effect evoked by low molecular weight substances extracted from Crotalus durissus terrificus venom*. *Toxicon* 31, 1257-1265.
- GOLD B. S., DART R. C., BARISH R. A., 2002. *Bites of venomous snakes*. *N. Engl. J. Med.* 347, 347-356.
- HARVEY A. L., 2013. *Snake peptides*. [W:] *Handbook of biologically active peptides*. KASTIN A. J. (red.). Academic Press, Cambridge, 451-460.
- HARVEY A. L., 2014. *Toxins and drug discovery*. *Toxicon* 92, 193-200.
- KINI R. M., 2006. *Anticoagulant proteins from snake venoms: structure, function and mechanism*. *Biochem. J.* 397, 377-387.
- KOH D. C. I., ARMUGAM A., JEYASEELAN K., 2006. *Snake venom components and their applications in biomedicine*. *Cell. Moll. Life Sci.* 63, 3030-3041.
- MARCINKIEWICZ C., 2005. *Functional characteristic of snake venom disintegrins: potential therapeutic implication*. *Curr. Pharm. Des.* 11, 815-827.
- MURAKAMI M.T., ARNI R. K., 2005. *Thrombomodulin-independent activation of Protein C and specificity of hemostatically active snake venom serine proteinases*. *J. Biol. Chem.* 280, 39309-39315.
- NAIR D. G., FRY B. G., ALEWOOD P., KUMAR P. P., KINI R. M., 2007. *Antimicrobial activity of omwaprin, a new member of the waprins family of snake venom proteins*. *Biochem. J.* 402, 93-104.
- PATLAK M., 2003. *From viper's venom to drug design: treating hypertension*. *FASEB J.* 18, 421.
- OPIE L. H., KOWOLIK H., 1995. *The discovery of captopril: from large animals to small molecules*. *Cardiovasc. Res.* 30, 18-25.
- ROISING J., GOVERS-RIEMSLAG J. W., YUKELSON L., TANS G., 2001. *Factor V activation and inactivation by venom proteases*. *Haemostasis* 31, 241-246.
- SAMY R. P., GOPALAKRISHNAKONE P., CHOW V. T., HO B., 2008. *Viper metalloproteinase (Agkistrodonhalyspallas) with antimicrobial activity against multi-drug resistant human pathogens*. *J. Cell Physiol.* 216, 54-68.
- SMITH C. G., VANE J. R., 2003. *The discovery of captopril*. *FASEB J.* 17, 788-789.
- UETZ P., FREED P., HOŠEK J., 2018. *The reptile database*. <http://www.reptile-database.org>.
- VYAS V. K., BRAHMBHATT K., BHATT H., PARMAR U., 2013. *Therapeutic potential of snake venom in cancer therapy: current perspectives*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3, 156-162.
- WANG K., LI Y., XIA Y., LIU C., 2016. *Research on peptide toxins with antimicrobial activities*. *Ann. Pharmacol. Pharm.* 1, 1006.
- WARRELL D. A., 2010. *Snake bite*. *Lancet* 357, 77-88.
- WHITE J., 2005. *Snake venom and coagulopathy*. *Toxicon* 45, 951-967.
- WHO, 2010. *Guidelines for production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins*. WHO Technical Report Series, No. 964, http://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/.
- ZHANG Y. J., WANG J. H., LEE W. H., WANG Q., LIU H., ZHENG Y. T., ZHANG Y., 2003. *Molecular characterization of Trimeresurus stejnegeri venom L-amino acid oxidase with potential anti-HIV activity*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 309, 598-604.
- ZELIADT N., 2013. *Rita Levi-Montalcini: NGF, the prototypical growth factor*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 4873-4876.

KOSMOS Vol. 68, 1, 57–64, 2019

KONRAD K. HUS, ALEKSANDRA BOCIAN

Department of Biotechnology and Bioinformatics, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, 6 Powstańców Warszawy Str., 35-959 Rzeszów, E-mail: bocian@prz.edu.pl

PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF SNAKE VENOM COMPONENTS

Summary

Among all of the venomous and toxin producing animals, snakes stand out with the most complex venom. Snake venoms consist of more than 100 different compounds including both toxic and non-toxic proteins and peptides as well as low molecular carbohydrates, lipids, amines and metal ions. Due to the mechanism of action and the tissue specificity, cytotoxic, hemotoxic, neurotoxic and myotoxic venoms are distinguished. The composition of venom differs not only between systematic groups, but also changes under the influence of many factors, including age, gender or type of food consumed. In practice, most venoms contain components from all of the mentioned categories and they differ in contribution of each fraction. Moreover, some proteins can exhibit more than one function, depending on the environment and interactions with other proteins. Some venom proteins are enzymes, others do not have catalytic activity but have ability to bind with specific receptors or inhibit the growth of bacteria. In general, venoms possess very wide spectrum of properties and functions which makes them a very interesting research material with a high pharmacological potential. Currently, medicinal products based on venom components are already available on the market, and the best example thereof is captopril.

Keywords: enzymes, pharmacological properties, proteins, snake venom, toxins, venomous snakes