

*Androctonus crassicauda* ve  
*Mesobuthus gibbosus*  
**TÜRÜ AKREP VENOMLARININ  
İZOLE SIÇAN VAS DEFERENS  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Bio. Ayça Çakmak**

Yüksek Lisans Tezi

*Androctonus crassicauda* ve  
*Mesobuthus gibbosus*  
**TÜRÜ AKREP VENOMLARININ  
İZOLE SIÇAN VAS DEFERENS  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Bio. Ayça Çakmak**

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Eylül 2007

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Süleyman Aydın**

## ÖNSÖZ

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren motive edici ve pozitif yaklaşımı ile ileriye daha güvenle bakmamı sağlayan, bilimsel konularda her zaman danışabileceğime inandığım, bilgi hazinesi ve saygıdeğer hocam, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf Öztürk'e,

Lisansüstü eğitimim süresince bana yol gösterici olan, tez dönemim ve daha önceki çalışmalarım süresince birlikte çalışmaktan onur duyduğum, 'bir araştırmacı' ve 'bir insan' olarak örnek alınması gerektiğine inandığım ve kendisinden birçok şeyi öğrendiğim Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi danışman hocam Prof. Dr. Süleyman Aydın'a,

Tezim süresince laboratuvarından yararlanmamı sağlayan Dekan Yardımcısı ve Toksikoloji Anabilim dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Bülent Ergun'a,

Araştırmalarım sırasında bana rehberlik eden sevgili hocam, Rana Arslan'a,

Akrep venomlarını sağlayarak bu çalışmayı yapmamıza önayak olan Osmangazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde görevli Uzman Figen Çalışkan'a,

Çalışmalarım sırasında en güncel bilgiye en kısa sürede ulaşabilmemi sağlayan Anadolu Üniversitesi Merkez ve Elektronik Kütüphanesi'ne,

Farmakoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olan Yrd. Doç. Dr. Miriş Dikmen'e ve Araş. Gör. Özgür Devrim Can'a, Araş. Gör. Nurcan Bektaş'a, Araş. Gör. Ümide Demir Özkay'a,

İhtiyaç duyduğum her an yanımda olan, beni candan destekleyen, her şeye olumlu açıdan bakmamı sağlayan, akademisyen olacağıma en az benim kadar inanan ve beni bu konuda sonuna kadar destekleyeceğine inandığım ve güvendiğim Dinçer Yolaçan'a,

Tez çalışmalarım sırasında ve tüm eğitim hayatımda bana her konuda destek olan, bana doğru yolu gösteren, emeklerimin ve çabalarımın boşa gitmemesi için sürekli dua eden ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan sevgili aileme,

Teşekkürü borç bilirim...

# ***Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* TÜRÜ AKREP VENOMLARININ İZOLE SIÇAN VAS DEFERENS ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

## **ÖZET**

*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* Türkiye’de yaşayan ve medikal önemi olan iki farklı türdür. Bu çalışmada bu akrep venomlarının izole siçan vas deferens üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Her iki venomun hem biyokimyasal olarak hem de vas deferens üzerinde farmakolojik olarak farklı olduğu görülmüştür. Venom çalışmalarında vas deferens epididimal kısmında çalışılmasının daha iyi sonuçlar verdiği bulunmuştur.

Vas deferens üzerinde liyofilize *A. crassicauda* ham venomu, KCl ile antagonize olan sürekli kasılmaya neden olmuş ve Phe kasılmalarını inhibe etmiştir. *M. gibbosus* KCl kasılmalarını artırmıştır. Her iki venomun adrenerjik reseptörler ile birbirinden farklı şekillerde etkileştiği bulunmuştur. Sadece *A. crassicauda* TEA ile etkileşme gösterirken her iki venom kalsiyum cevapları üzerinde herhangi bir etki göstermemişlerdir. TEA ile etkileşmesi ve KCl ile kasılmaların inhibe olması ile *A. crassicauda* venomunun K<sup>+</sup> kanalları ile etkileştiği anlaşılmıştır.

*Androctonus crassicauda* fraksiyonu ve *Mesobuthus gibbosus* kaynaklı fraksiyonlar ile ham venomlara benzer olmayan sonuçlar elde edilmiştir.

*Origanum onites* ile *A. crassicauda* venomu arasında inhibitör nitelikte bir etkileşmenin varlığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* venomlarının adrenerjik reseptörler ve K<sup>+</sup> kanalları ile etkileştikleri ve vas deferens’in özellikle epididimal parçasının akrep venomu için bir bioassay organı olarak kullanılabileceği çalışmamızda gösterilmiş bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** akrep, venom, *Androctonus crassicauda*, *Mesobuthus gibbosus*, *Origanum onites*, vas deferens

## **EFFECTS OF *Androctonus crassicauda* and *Mesobuthus gibbosus* SCORPION VENOMS ON THE ISOLATED RAT VAS DEFERENS**

### **ABSTRACT**

*Androctonus crassicauda* and *Mesobuthus gibbosus* are two different scorpion species of Turkey with ethnomedical importances. The aim of this study is to investigate the pharmacological properties of venoms of these species on isolated rat vas deferens.

Different pharmacological activities and chemical contents of these two venoms on vas deferens were observed. Epididymal portion of vas deferens always exhibited better results than prostatic part acting like a specific bioassay organ for toxins.

Freeze dried venom of *A. crassicauda* was observed to cause a sustained contraction inhibited only by the KCl which was not observed for *M. gibbosus*. Both venoms were active on KCl contractions of vas deferens but in a different manner which inhibited by *A. crassicauda* but augmented by *M. gibbosus*. Only *A. crassicauda* had a statistically significant interaction with TEA suggesting a specific action of this venom on K<sup>+</sup> channels. Neither of test substances were active on calcium induced contractions eliminating the role of calcium channels on the observed pharmacological actions of these venoms on vas deferens. Fractions of the venom were not active and thus were exhibited dissimilar actions when compared to the crude venoms.

An interesting inhibitory interaction between *Origanum onites* and *A. crassicauda* was also observed.

K<sup>+</sup> channels and adrenergic receptors were suggested to play role on the activities of *A. crassicauda* and *M. gibbosus*. It is also shown by this study that epididymal portion of vas deferens may be used as an assay organ for venoms.

**Key Words:** scorpion, venom, *Androctonus crassicauda*, *Mesobuthus gibbosus*, *Origanum onites*, vas deferens

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
Akrepler ve Genel Özellikleri	3
Akreplerin Sistemattikteki Yeri	3
Akrep Zehirlenmeleri	5
Akrep Zehirleri	6
Akrep Toksinlerinin Sınıflandırılması	7
<i>Voltaı kapılı Na<sup>+</sup> kanallarını etkileyen akrep toksinleri</i>	8
<b>K<sup>+</sup> Kanalları İçin Spesifik Akrep Toksinleri</b>	9
<i>K<sup>+</sup> kanallarını bloke edici akrep peptitleri</i>	9
<i>K<sup>+</sup> kanalları için spesifik akrep toksinlerinin biyolojik etkileri</i>	10
<b>Ca<sup>2+</sup> Kanalları İçin Spesifik Akrep Toksinleri</b>	11
<b>Cl<sup>-</sup> Kanalları İçin Spesifik Akrep Toksinleri</b>	14
<b>Akrep Venom ve Toksinlerinin Farmakolojik Etkileri</b>	15
<i>Akrep zehirlenmesi sonucu ortaya çıkan belirtiler ve semptomlar</i>	15
<i>Akrep venom ve toksinlerinin nosiseptif ve antinosisseptif özellikleri</i>	18
<i>Akrep venom ve toksinlerinin terapötik özellikleri</i>	20
<i>Akrep venom ve toksinleri ile yapılan diğer farmakolojik çalışmalar</i>	21
<i>Akrep zehirlenmesi ve priyapizm</i>	23
<i>Akrep zehirlenmesi ile ortaya çıkan etkilerin lignokain ile düzeltilmesi</i>	24
<b>Akrep Venomları ve Toksinlerinin Otonomik Etkileri</b>	25
<i>Hindistan kırmızı akrebi ile çalışmalar</i>	25

<i>İsrail akrep venomu ile çalışmalar</i>	26
<i>Asya siyah akrebi ile çalışmalar</i>	26
<i>H. longimanus venomu ile çalışmalar</i>	26
<i>H. spinifer venomu ile çalışmalar</i>	27
<i>Asya siyah akrep venomlarının ACh ve norepinefrin içeriği</i>	27
<b>Androctonus crassicauda Venomunu İle Yapılan Çalışmalar</b>	29
<i>Androctonus crassicauda akrep venomunun bileşenleri</i>	29
<i>Androctonus crassicauda Zehirlenmesi Sonucu Ortaya Çıkan</i>	32
<b>Belirtiler ve Semptomlar İle İlgili Klinik Çalışmalar</b>	
<i>Mesobuthus gibbosus Akrep Venomunu İle Yapılan Çalışmalar</i>	37
<b>GEREÇLER</b>	39
<b>Deney Hayvanları</b>	39
<b>Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler</b>	39
<i>Kullanılan kimyasal maddeler</i>	39
<i>HPLC’de kullanılan çözeltiler</i>	39
<i>Kullanılan test maddeleri</i>	39
<b>Kullanılan Cihazlar</b>	40
<b>YÖNTEMLER</b>	41
<b>İzole Organ Banyosu Deneyleri</b>	41
<i>İzole vas deferens deneyleri</i>	41
<b>Akrep Venomlarının Elde Edilmesi</b>	42
<b>Akrep Venomlarının Saflaştırılması</b>	42
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>	43
<b>BULGULAR VE TARTIŞMA</b>	44
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	77
<b>KAYNAKLAR</b>	78

## ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
<b>Çizelge 1</b> Akreler Tarafından Sokulan Hastaların Epidemiyolojik Özellikleri	16
<b>Çizelge 2</b> Akreler Tarafından Sokulan Hastalarda Sıklıkla Görülen Semptomlar	16
<b>Çizelge 3</b> <i>Androctonus crassicauda</i> Akrep Sokması Sonucu Görülen Klinik Semptomlar	36



## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 <i>Androctonus crassicauda</i> (Olivier, 1807) Akrebinin Genel Görünüşü	2
Şekil 2 <i>Mesobuthus gibbosus</i> (Brulle, 1832) Akrebinin Genel Görünüşü	2
Şekil 3 <i>Androctonus crassicauda</i> Ham Venomunun HPLC Kromatogramı	31
Şekil 4 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun HPLC Kromatogramı	45
Şekil 5 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun HPLC Kromatogramı	46
Şekil 6 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Üzerindeki Kastırıcı Etkisi	48
Şekil 7 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	49
Şekil 8 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	50
Şekil 9 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	50
Şekil 10 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	51
Şekil 11 <i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	51
Şekil 12 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-4}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	52
Şekil 13 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	52
Şekil 14 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	52
Şekil 15 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-4}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	53
Şekil 16 <i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	53

<b>Şekil 17</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-4}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	53
<b>Şekil 18</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	54
<b>Şekil 19</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun ( $10^{-3}$ mg.mL <sup>-1</sup> ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	54
<b>Şekil 20</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun 3 No'lu Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	55
<b>Şekil 21</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	57
<b>Şekil 22</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	58
<b>Şekil 23</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında Potasyum Klorür (KCl) Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	59
<b>Şekil 24</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	60
<b>Şekil 25</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	62
<b>Şekil 26</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	63
<b>Şekil 27</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	64
<b>Şekil 28</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	65
<b>Şekil 29</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	67
<b>Şekil 30</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi	68
<b>Şekil 31</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında CaCl <sub>2</sub> İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi	70
<b>Şekil 32</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında CaCl <sub>2</sub> İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi	71

<b>Şekil 33</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomu 3 Numaralı Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi	72
<b>Şekil 34</b>	<i>Mesobuthus gibbosus</i> Venomunun 61 Numaralı Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi	73
<b>Şekil 35</b>	<i>Androctonus crassicauda</i> Venomunun İzole Sıçan Vas deferensinde Oluşturduğu Etkinin <i>Origanum onites</i> Uçucu Yağı İnhibisyonu.	74

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: 5–hidroksitriptamin
AAV	: <i>Androctonus australis</i> venomu
ACh	: Asetilkolin
ADP	: Adenozindifosfat
AGAP	: Anti tümör analjezik peptit
AgTX	: Agitoksin
ANP	: Atrial natriüretik peptit
AÜBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi
B <sub>2</sub>	: Bradikinin reseptörü
BjTx–1	: <i>Buthotus judaicus</i> toksin–1
BjTx–2	: <i>Buthotus judaicus</i> toksin–2
BmK	: <i>Buthus martensii</i> Karsch
BPP	: Bradikinin aktifleştirici peptit
BT	: <i>Mesobuthus tamulus</i>
CaCC	: Ca <sup>2+</sup> ile aktive edilmiş Cl <sup>-</sup> kanalı
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum klorür
CCH	: Karbakol
CFTR	: Sistik fibrozis transmebran iletkenlik düzenleyici
ChTX	: Charybdotoksin
CITx	: Klorotoksin
CRC	: Ca <sup>2+</sup> salınım kanalı
CRCs	: Ca <sup>2+</sup> salınım kanalları
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DRG	: Dorsal kök gangliyonu
EAA	: Eksitatör aminoasit
EEG	: Elektroensefalograf
ET–1	: Endotelin–1
GCC	: Glioma–spesifik Cl <sup>-</sup> kanalı
HCC	: İnsan korpus kavernosumu
HLV	: <i>H. longimanus</i> venomu
IbTX	: Iberiotoksin
IpTx <sub>a</sub>	: İmperatoksin aktivator

IpTx <sub>i</sub>	: İmperatoksin inhibitör
i.c.v.	: İntraserebroventriküler
i.p.	: İntraperitoneal
KCl	: Potasyum klorür
KLI	: Kurtoksin benzeri 1 peptidi
KLII	: Kurtoksin benzeri-2 peptidi
KTX	: Kalitoksin
KTxs	: K <sup>+</sup> kanalları için spesifik toksinler
L-NAME	: N <sup>o</sup> -nitro-L-arginine metil ester
<i>Lqq</i>	: <i>Leiurus quinquestriatus quinquestriatus</i>
MAP	: Ortalama arteriyel kan basıncı
MB	: Metilen mavisi
MCa	: Maurocalcine
MgTX	: Margatoksin
NANK	: Nonadrenerjik nonkolinerjik
NaScTx <sub>s</sub>	: Na <sup>+</sup> kanalları için spesifik toksinler
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NPY	: Nöropeptit Y
NTX	: Noksiustoksin
PBTx1	: <i>Parabuthus villosus</i> toksini1
PBTx2	: <i>Parabuthus villosus</i> toksini2
Phe	: Fenilefrin
PNS	: Periferik sinir sistemi
RbCC	: Tavşan korpus kavernosumu
RSV	: <i>Mesobuthus tamulus</i> venomu
RyR	: Riyanodin reseptörü
RyRs	: Riyanodin reseptörleri
SSS	: Santral sinir sistemi
s.c.	: Subkutan
ScTX	: Scyllatoksin
sMCa	: Maurocalcine sentetik ürünü
SR	: Sarkoplazmik retikulum
STX	: Saxitoksin

SVAP	: Akrep venomu aktif peptidi
TEA	: Tetraetilamonyum
TsTx	: Tityustoksin
TSV	: <i>T. serrulatus</i> venomu
TTX	: Tetrodotoksin
TTX-R	: Tetrodotoksine dirençli
TTX-S	: Tetrodotoksine duyarlı
VRAC	: Volüm regulated anyon kanalı

## GİRİŞ VE AMAÇ

Akrepler evrimsel süreçleri, medikal önemleri ve zehir bezlerinde biyolojik olarak aktif bileşenlerin bulunması nedeniyle ilgi çekici organizmalardır (Dehesa–Davila ve Possani, 1994; Possani ve ark., 1999a).

Dünyada varlığı bilinen 1500 farklı akrep türünden günümüze kadar yalnız 30 türe ait venom detaylı bir şekilde incelenmiştir. Tüm türlerde var olduğu tahmin edilen yaklaşık 100,000 farklı peptidin sadece % 0.02'si bilinmektedir (Possani ve ark., 1999a, 2000).

Akrep venomlarında en iyi incelenmiş ve en önemli bileşikler grubu uyarılabilir ve uyarılamayan hücrelerin membranlarındaki iyon kanalları ile reseptörleri tanıyan ve işlevlerini etkileyen zengin toksik polipeptit kaynaklarıdır ve insanlar da dahil farklı organizmalar için zararlıdır (Catterall, 1980; Valdivia ve ark., 1992; Possani ve ark., 1999a, 2000). Akrep toksinleri çoğunlukla sinir ve kas gibi uyarılabilir hücreler üzerinde etkilidir ve akrep zehirlenmesinde rol oynamaktadırlar. Akrep venomlarında bulunan toksinler, voltaja bağlı  $Na^+$  kanalları ile voltaja bağlı ve diğer  $K^+$  kanallarıyla birlikte çeşitli nörotransmitterleri de etkileyerek ölüme sonuçlanabilen etkilere aracılık ederler (Strong, 1990; Rogers ve ark., 1996; Cestele ve ark., 1998; Garcia ve ark., 2001; Gwee ve ark., 2002).

Akrep venomları ile görülen zehirlenmelerdeki klinik semptomlar arasında taşikardi, hipertansiyon, terleme ve midriyazis gibi sempatik; bradikardi, hipotansiyon, sekresyonlar ve miyozis gibi parasempatik etkilerin yanı sıra kan basıncında yükselme, irritabilite, hipertermi, kusma, titreme ve konvülsiyon gibi santral belirtiler vardır (Bawaskar, 1982; Amitai ve ark., 1985; Hershkovich ve ark., 1985; Gueron ve ark., 1992; İsmail, 1995; Teixeira ve ark., 2001).

Akrep venomları, miyokardiyal, kardiyovasküler, periferik toksisite, pulmoner ödem gibi klinik tabloların birisine ya da birden fazlasına aynı anda neden olarak yaşamsal organların yetersizleşmesine ve organ sistemlerinin bozulması ile ölüme yol açmaktadır (İsmail ve ark., 1994).

Voltaja bağlı iyon kanalları üzerine olan etkileri nedeniyle, akrep venomları, hücrelerin elektriksel aktivitesinin çalışılmasında yaygın olarak kullanılan maddeler haline gelmiştir. İyon kanalları üzerindeki seçici etkileriyle pek çok otoimmün, enflamatuar, tümoral, kardiyovasküler ve nörolojik hastalığın tedavisine yönelik yeni ilaç geliştirilmesinde rol oynamaları beklenmektedir (Lewis ve ark., 2003).

Ülkemiz akrep türleri açısından çok zengin bir çeşitliliğe sahiptir. Örneğin, glioma üzerinde etkili olan klorotoksinin kaynağı olan *Leiurus quinquestriatus*'a Adıyaman, Diyarbakır, Hatay ve Kilis civarında sıkça rastlanılmaktadır. Güneydoğu Anadolu bölgesinde görülen *Androctonus crassicauda* ise sıra dışı zehir bileşimiyle dünyadaki en ölümcül akrep türlerinden birisidir ve her yıl özellikle yaz aylarında çok sayıda zehirlenme ve ölümlere neden olmaktadır fakat *Androctonus crassicauda* venomundan elde edilen serum diğer akrep türleri ile zehirlenmeye karşı güvenle kullanılmaktadır.

Bu doğal çeşitlilik ve zenginliğe karşın ülkemizde akrep venomları ile yapılan biyokimyasal ve farmakolojik çalışmalar yeterli değildir.

Bu çalışmada, ülkemizin Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanmış *Androctonus crassicauda* ile Eskişehir bölgesinden toplanmış *Mesobuthus gibbosus* akrep venomlarının izole sıçan vas deferens üzerindeki farmakolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



Şekil 1. *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) Akrebinin Genel Görünüşü ([http-1](#))



Şekil 2. *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1832) Akrebinin Genel Görünüşü ([http-2](#))



## KAYNAK BİLGİSİ

### Akrepler ve Genel Özellikleri

Akrepler evrimsel süreçleri, medikal önemleri ve zehir bezlerinde biyolojik olarak aktif bileşenlerin bulunması nedeniyle ilgi çekici organizmalardır (Dehesa–Davila ve Possani, 1994; Possani ve ark., 1999a).

Akrepler yeryüzünde yaşayan en eski hayvan gruplarından biridir ve bilinen en eski karasal eklembacaklılardır. Silür devrinde (400,000,000 sene önce) ortaya çıkmışlardır (Smith, 1973; Demirsoy, 1997). Devon'dan ve Karbon'dan beri morfoloji, fizyoloji, davranış ve ekolojilerini hemen hemen hiç değişmeden korumuşlardır (Possani ve ark., 1999a; Gwee ve ark., 2002; Demirsoy, 1997) ve yaklaşık olarak 1500 farklı türle temsil edilirler (Possani ve ark., 1999a).

Akrepler prosomaları dorsalde sert bir kabuk (*carapace*) ile kaplanmış olan oldukça büyük araknidlerdir. Bu kabuk bir çift medyan basit göz ve her yan kenar üzerinde 2–5 arasında daha küçük basit göz grubu taşımaktadır. 4 çift yürüme bacağı mevcuttur. İlk iki çiftin bazal segmentleri çiğneme organlarını oluştururlar. Opistosoma, 7 segmentli preabdomen ve sokmanın gerçekleştiği 5 segmentli kuyruğa benzeyen postabdomene ayrılır. Preabdomenin ventral kenarında bir çift tarak benzeri organ bulunur ve pektinler olarak bilinirler (Smith, 1973; Demirsoy, 1997).

Fotoluminesans özelliğe sahip olan akreplerin ultraviyole ışığı altındaki floresans özelliği 1954 yılında açıklanmış ve bu özelliğin türler arasında emisyon yoğunluğuna göre farklılıklar gösterdiği, bazı türler arasında ise emisyonun çok az olduğu belirtilmiştir. Bu özellik akreplerin sistematik, ekolojik ve fizyolojik açıdan değerlendirilmelerine katkıda bulunmuştur (Stachel ve ark., 1999).

Akrepler kurak yerlerde ve özellikle sıcak yerlerde çok bulunurlar (Smith, 1973; Demirsoy, 1997). Kuzeyi pek tercih etmezler. Birçoğu toprakta derinlere iner ve yuva yaparlar. Vücutları oransal olarak büyük olmasına karşın çok yassı yapılı olduklarından dar aralıklar ile ağaç kabuklarının altlarına ve duvar yarıklarına saklanabilirler (Demirsoy, 1997).

Akrepler sıcak mevsimlerde yüksek sıcaklıklara dayanıklı olmadıkları için gündüzleri çoğunlukla yıkıntılar ile taşlar altında yaşarlar ve bu şekilde kendilerini yüksek sıcaklıklardan korumuş olurlar. Geceleri aktiflerdir ve insanlara karşı kendilerini korumak için geceleri sokarlar (Dittrich ve ark., 1995; Ozkan ve Karaer, 2003; Touloun ve ark., 2001; Smith, 1973; Demirsoy, 1997; Ozkan ve ark., 2006). Karnivor oldukları için genellikle böcekler ve diğer arthropodlar ile beslenirler. Bir yıl kadar açlığa dayanabilirler (Altan, 1979; Smith, 1973; Demirsoy, 1997).

### Akreplerin Sistematikteki Yeri

Akrepler hayvanlar âleminin Arthropoda şubesi, Chelicerata altşubesi, Arachnida sınıfı, Scorpionidea takımında yer alan ve morfolojik yapıları nedeniyle kolay

tanınan, uzunlukları 13–220 mm arasında değişen eklem bacaklılardır (Demirsoy, 1997; Özkan ve Filazi, 2004; Ozkan ve Karaer, 2003; Ozkan ve ark., 2006).

Günümüzde bilinen akrepler 18 familya içinde sınıflandırılmaktadır. Bunlar; Bothriuridae, Buthidae, Chactidae, Chaerilidae, Diplocentridae, Euscorpiidae, Heteroscorpionidae, Ischnuridae, Iuridae, Microcharmidae, Pseudochactidae, Scorpionidae, Scorpiopidae, Supersitioniidae, Troglotayosicidae, Vaejovidae, Hemiscorpionidae ve Urodacidae'dir. Bunlar arasında en çok dağılım gösteren Buthidae familyasıdır, diğer familyalar ise Eski Dünya'da ya da Yeni Dünya'da yayılış göstermektedirler (Karataş, 2001).

İnsanlar için tehlikeli olan ve yaklaşık olarak 500 türden oluşan Buthidae familyasına ait akreplerden *Androctonus*, *Leiurus*, *Buthus*, *Buthotus* ve *Heterometrus* cinsleri Eski Dünya'da, çoğunlukla Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Hindistan'da bulunmaktadır (Possani ve ark., 1999a). *Parabuthus* cinsi Güney Afrika'da rapor edilmiştir (Debont ve ark., 1998). *Centruroides* cinsi ABD'nin güney bölgesinde, Meksika ve Orta Amerika'da bulunmaktadır (Dehesa–Davila ve Possani, 1994). *Tityus* cinsi Trinidad, Tobago ve Güney Amerika'da, çoğunlukla Brezilya, Venezuela, Kolombiya ve Arjantin'de dağılım göstermektedir (Possani ve ark., 1999a).

Türkiye akrep faunası 4 familyaya ait 10 cins ve 13 türle temsil edilmektedir (Crucitti ve ark., 1999; Karataş, 2001).

**1. Buthidae;** *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807), *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1832), *Mesobuthus eupeus* (Koch, 1838), *Mesobuthus caucasicus* (Nordmann, 1840), *Mesobuthus nigrocinctus* (Ehrenberg, 1828), *Compsobuthus mathiesseni* (Birula, 1905), *Leiurus quinquestriatus* (Ehrenberg, 1829), *Hottentotta saulcyi* (Simon, 1880), *Buthacus yotvatensis* (Birula, 1908).

**2. Euscorpiidae;** *Euscorpius italicus* (Herbst, 1800), *E. carpathicus* (Linnaeus, 1767), *E. mingrelicus* (Kessler, 1874), *E. tergestinus* (Koch, 1837).

**3. Iuridae;** *Iurus asiaticus* (Birula, 1903), *Calchas nordmanni* (Birula, 1899).

**4. Scorpionidae;** *Scorpio maurus* (Linnaeus, 1758).

*Mesobuthus gibbosus* yurdumuzda en yaygın olarak bulunan türdür ve 100'den fazla bölgede bulunduğu rapor edilmiştir. *Euscorpius tergestinus* ve *Buthacus yotvatensis* ise en nadir olarak bulunan türlerdir (Karataş, 2001).

Zoocoğrafik dağılımlarına göre; *Euscorpius* cinsi Avrupa–Akdeniz, *Mesobuthus* cinsi Orta Asya, *Androctonus*, *Compsobuthus*, *Leiurus* ve *Buthacus* cinsleri Saharo–Sindian, *Scorpio* ve *Hottentotta* cinsleri Saharo–Arabian, *Calchas* ve *Iurus* cinsleri Ege–Anadolu'ya endemik taksonlardır (Kovarık, 1996; Fet, 1997a,b; Karataş ve Karataş, 2003; Parmakelis ve ark., 2006; Facheris, 2007).

## Akrep Zehirlenmeleri

Akrepler hastalık etkeni taşımazlar. İnsanları ve hayvanları sokarak zehirlenmelere ve ölümlere neden olurlar. Venomlarını avını etkisiz hale getirmek için ve predatörlere karşı bir savunma aracı olarak kullanırlar. (Possani ve ark., 1999a; Gwee ve ark., 2002; Özkan ve Filazi, 2004; Smith, 1973; Demirsoy, 1997)

Akrepler insanlara kendiliğinden saldırmazlar. En tehlikeli türlerin bile elin üzerinde yürütmesine izin verilebilir. Kazalar genellikle akrepler giysilerin içine gizlendiklerinde ve karanlık kuytu köşeler temizlenirken olur. Birçok vakada, akrep sokmaları bilgisizlikten örneğin, akrep yuvalarına el koyma, çıplak ayakla yürüme, taşları dikkatsizce kaldırma, giysileri ve ayakkabıları kontrol etmeden giyme gibi dikkatsizlikten kaynaklanmaktadır (Smith, 1973; Ozkan ve ark., 2006).

Akrepler kuyruk uçlarında bulunan telson adlı yapıyla venom enjeksiyonu gerçekleştirirler. Derinin bu yapıyla delinmesinin ardından dokulara venomun akıtılması sonucu akrep zehirlenmesi meydana gelir (Merdivenci, 1981; Vetter ve Vissher, 1998). Akrep venomları yılan venomundan bile daha toksiktir ve en etkili hayvan venomlarından biridir. Bir kerede verilen doz düşük olduğu için risk oluşturmamakla birlikte tekrarlayan sokmalar tehlikeli olabilmektedir (Gajre ve Dammas, 1999).

Tehlikeli akrep sokmaları daha çok ABD'nin güneybatısı, Meksika, Güney Amerika'nın orta ve kuzey bölgeleri, Hindistan ve Ortadoğu ülkelerinde, yurdumuzda ise Güneydoğu Anadolu'da görülür. Dünya genelinde yılda yaklaşık 100,000 akrep sokması görülmekte ve bunlardan 800 kadarı ölümlerle sonuçlanmaktadır (http-3).

Ülkemizde insanlar için yaşam tehlikesi oluşturan akreplerden birisi Buthidae familyasına ait *Androctonus crassicauda* türüdür (**Şekil 1**). Türkiye'de yaşayan akrep türleri arasında en toksik venoma sahip olan türler Buthidae familyasına ait olan *Leiurus quinquestriatus* ve *Androctonus crassicauda* türleridir. *Androctonus crassicauda* türü daha çok insanlar arasında, özellikle evlerde ve bahçelerde yaşadığı için akrep sokmalarına neden olur ve medikal önemi daha çoktur. Bunların dışında Batı, Orta ve Güney (Akdeniz) Anadolu'da en çok rastlanan *Mesobuthus gibbosus* (**Şekil 2**) ile Orta Anadolu ve daha doğuda kalan Anadolu kesiminde (Karadeniz kıyı kesimi hariç) sıkça rastlanan *Mesobuthus eupeus*'un sokması sonucu zaman zaman ciddi vakalar görülse de genelde ölüme yol açmamaktadırlar (Karataş, 2001).

Akrep sokmalarının etkisi akrebin türüne, boyuna, yaşına, cinsiyetine, saldırganlığına, mevsime ve sokulan kişinin alerji hassasiyetine, yaşına, sokulan bölgenin hayati fonksiyona sahip organlara yakınlığına göre değişmektedir. Özellikle kalp ve solunum rahatsızlıkları olan insanlar akrep sokmalarından fazla etkilenmektedir. İğnenin sokulan organda bıraktığı deliğin derinliği de zehirlenmenin etkisini belli eder. Eğer iğne kemiğe denk gelmişse alttaki yumuşak dokulu kısımlara ulaşamadığından çok daha az etki bırakır (Demirsoy, 1997).

## Akrep Zehirleri

Akrep venomları; mukus, mukoproteinler, mukopolisakkaritler, lipitler, biyogenik aminler, oligopeptitler, nükleotidler, serotonin ya da histamin gibi düşük moleküler ağırlıkta moleküller, proteaz inhibitörleri, aminoasitler, proteinler ve diğer bazı organik bileşiklerden oluşan toksik bir salgıdır (Dehesa–Davila ve Possani, 1994; Gwee ve ark., 1996, 2002).

Akrep venomları, içeriğindeki etkin maddelerin kimyasal ve farmakolojik etki çeşitliliği nedeniyle günümüzde araştırmacılar tarafından farmakoloji, moleküler biyoloji, kimya, biyofizik gibi birçok bilim dalında son derece yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Gwee ve ark., 2002; Özkan ve Filazi, 2004).

Birçok örümcek ve yılan venomlarından farklı olarak, akrep venomları genellikle enzimlerden yoksundur ya da enzim aktivitesi düşüktür. Bunun bir istisnası içeriğinde asit fosfataz, ribonükleaz, 5'-nükleotidaz, hiyaluronidaz, asetilkolinesteraz ve fosfolipaz A bulunan *Heterometrus scaber* venomudur (Gwee ve ark., 2002). *Mesobuthus tamulus*, *Centruroides exilicauda* ve *Heterometrus fulvipes* venomlarında ise 5–hidroksitriptamin ve proteaz inhibitörü olan proteinler, anjiyotensinaz ve süksinit dehidrogenaz bulunur (Possani ve ark., 1999a).

Bütün akrepler güçlü ve spesifik aktivite gösteren toksik venoma sahiplerdir. Tek bir akrep türünde birden fazla etkili toksin bulunabilir. Venom içinde çok sayıda toksin bir arada bulunabilmekle birlikte, bir akrep türünün venomu yalnız böcekleri, bir başkası krustaseleri ve bir diğeri yalnız memelileri hedefleyen bir toksin içerecek derece spesifik olabilir (Possani ve ark., 1999a; Gwee ve ark., 2002).

Akrep toksinlerinin bazıları öldürücüdür ve birçok yılan toksininden ve bazı bakteri toksinlerinden daha güçlüdür. Bazı akrep toksinlerinin LD<sub>50</sub>'sinin siyanitten yaklaşık olarak 10<sup>5</sup> kat daha öldürücü olduğu bildirilmiştir (Gwee ve ark., 2002). *Leiurus quinquestriatus* venomunun farelerde 0.25 mg.kg<sup>-1</sup> (s.c.) LD<sub>50</sub> değerleriyle en öldürücü akrep venomları arasında olduğu rapor edilmiştir. *Androctonus australis*, *Tityus serrulatus* ve *Centruroides exilicauda* için farelerdeki s.c. LD<sub>50</sub> değerleri sırasıyla, 0.32, 0.43, ve 1.12 mg.kg<sup>-1</sup>'dir (Gwee ve ark., 2002).

## Akrep Toksinlerinin Sınıflandırılması

Dünyada varlığı bilinen 1500 farklı akrep türünden günümüze kadar çok az sayıda türe ait venom detaylı bir şekilde incelenmiştir. Tüm türlerde var olduğu tahmin edilen yaklaşık 100,000 farklı peptidin sadece % 0.02'si bilinmektedir (Possani ve ark., 1999a, 2000). Akrep toksinleri çoğunlukla sinir ve kas gibi uyarılabilir hücreler üzerinde etkilidir ve bu etki yöreleri akrep zehirlenmesinin patofizyolojisine katkıda bulunmaktadır (Strong, 1990; Rogers ve ark., 1996; Cestele ve ark., 1998; Garcia ve ark., 2001; Gwee ve ark., 2002). Bu polipeptitler insanlar da dahil birçok canlı türü için toksiktir (Catterall, 1980; Valdivia ve ark., 1992; Possani ve ark., 1999a, 2000).

Akrep venomlarında bulunan toksinler, iyon kanallarıyla etkileşmelerine göre 4 farklı venom ailesi olarak tanımlanmaktadır. Bunlar; 1/  $\text{Na}^+$ , 2/  $\text{K}^+$ , 3/  $\text{Cl}^-$  ve 4/ $\text{Ca}^{2+}$  kanallarıyla spesifik olarak etkileşen 4 farklı toksin ailesidirler (Catteral, 1979, 1980; Possani ve ark., 1982; Carbone ve ark., 1982; Miller ve ark., 1985; Sands ve ark., 1989; Debin ve Strichartz, 1991; Valdivia ve ark., 1992; Debin ve ark., 1993; Possani ve ark., 1999a, 2000).

$\text{Na}^+$  kanalları için spesifik tüm toksinler (NaScTx) 58–76 aminoasit rezidüsünden oluşmaktadır ve 4 disülfid köprüsüyle bağlanmışlardır (Fontecilla–Camps ve ark., 1980; Lebreton ve ark., 1994; Becerril ve ark., 1995; Oren ve ark., 1998; Possani ve ark., 1999a). Bu toksinler kanalların kapılanma (gating) mekanizmasını değiştirerek iyon geçirgenliğinin bozulmasına neden olurlar (Yatani ve ark., 1988; Kirsch ve ark., 1989; Catterall, 1995). NaScTx'nin ilk önce memeli dokularını etkilemesi ile tanımlanmış olan  $\alpha$  ve  $\beta$  akrep toksinleri (Jover ve ark., 1980) daha sonra çeşitli fizyolojik belirtiler (depresan, eksitator vs.) ile krustaseler ve böcekler için spesifik olan diğerleri tanımlanmıştır (Zlotkin ve ark., 1993, 1995; Lebreton ve ark., 1994; Selisko ve ark., 1996; Garcia ve ark., 1997a).

$\text{K}^+$  kanalları için spesifik toksinler (KTxs) yaklaşık 31–39 aminoasit rezidüsü uzunluğundadır ve 3 ya da 4 disülfid bağı ile bağlanmışlardır (Dauplais ve ark., 1995; Olamnedi–Portugal ve ark., 1996; Romi-Lebrun ve ark., 1997; Possani ve ark., 1999a,b). KTxs,  $\text{K}^+$  kanallarının etkili blokerleridir ve kanalın ekstraselüler yüzüne bağlanarak iyon geçişini engellerler (Goldstein ve Miller, 1993; Possani ve ark., 1999a).

$\text{Ca}^{2+}$  kanalları için spesifik toksinler vardır ve bunlara örnek olarak riyanodin  $\text{Ca}^{2+}$  kanallarına bağlanmasını etkileyen biri 33 aminoasit rezidülü imperatoksin aktivatör (IpTxa) ile 104 ve 27 aminoasitli dimerik yapıdan oluşan imperatoksin inhibitör (IpTxi) adlı akrep peptidleri verilebilir. IpTxa  $\text{Ca}^{2+}$  kanallarına riyanodin bağlanmasını aktive ederken, IpTxi inhibe etmektedir (Zamudio ve ark., 1997a,b).

$\text{Cl}^-$  kanalları için spesifik olan 'Klorotoksin' akrepten elde edilen ilk  $\text{Cl}^-$  kanal spesifik toksindir ve yalnız 36 aminoasit rezidüsüne sahip olmasına rağmen 4 disülfid köprüsü içermektedir (Debin ve ark., 1993; Lippens ve ark., 1995).

### ***Voltaja bağlı $\text{Na}^+$ kanallarını etkileyen akrep toksinlerinin yapısal ve farmakolojik özellikleri***

Buthidae familyasına ait akrep venomlarından tanımlanan ilk peptitler olan uzun dizili akrep toksinleri 6500–8500 Da (58–76 rezidülü) polipeptitlerdir ve akrep zehirlenmesi görülen nörotoksik semptomlardan sorumludur (Rodríguez de la Vega ve Possani, 2005). Nörotoksik etkilerin  $\text{Na}^+$  kanallarının fonksiyonuyla ilgili olduğu bildirilmiştir (Romey ve ark., 1975; Catteral, 1976; Mozhayeva ve ark., 1980; Barhanin ve ark., 1982; Meves ve ark., 1982; Carbone ve ark., 1984).

Akrep toksinleri voltaja bağlı  $\text{Na}^+$  kanalları üzerindeki farmakolojik ve elektrofizyolojik özelliklerine göre, kanalın kapı mekanizması üzerinde, birisi inaktivasyonu yavaşlatan, diğeri aktivasyonu hızlandıran olmak üzere iki farklı etki yapar bu etkilere dayanılarak NaScTx'ler  $\alpha$ - ve  $\beta$ - toksinleri olmak üzere iki

grup altında sınıflandırılmışlardır (Romey ve ark., 1975; Bernard ve ark., 1977; Catterall, 1979; Jover ve ark., 1980; Meves ve ark., 1982; Wang ve Strichartz, 1982; Couraud ve ark., 1982; Jaimovich ve ark., 1982; Pelhate ve Zlotkin, 1982; Wheeler ve ark., 1983; Barhanin ve ark., 1983; Carbone ve ark., 1984).

Na<sup>+</sup> kanallarına spesifik  $\alpha$ - ve  $\beta$ - toksin tipleri arasında birçok varyasyon ve alt tipler bulunmaktadır (Jover ve ark., 1980; Wheeler ve ark., 1983).

Na<sup>+</sup> kanalları üzerinde iki ayrı reseptör bölgesi tanımlanmıştır. NaScTxs'lerinden sadece  $\alpha$ - akrep toksinleri, Na<sup>+</sup> kanalı  $\alpha$ -alt ünitesinin ekstraselüler kangalındaki kanalın 3. reseptör bölgesine bağlanırlar. Bu kangalın voltaja duyarlı segmente olan yakınlığı yüzünden kangalın karşısına bağlı olan toksin segmentin hareketini veya dışarıya doğru yer değiştirmesini depolarizasyon boyunca önler. Böylece  $\alpha$ - akrep toksinleri içeri doğru aktive olmayan durumda voltaj sensörünü kanalın aktivasyonu boyunca engeller ve bu şekilde inaktivasyon kapısının kapanmasının yavaşlamasına ya da gecikmesine yol açar (Rogers ve ark., 1996).

$\alpha$ -akrep toksinleri yapısal benzerliği olmayan deniz anemonu, salyangoz ve örümcek toksinleri ile aynı etki yöresine bağlanırlar (Catterall ve Beress, 1978; Couraud ve ark., 1978; Little ve ark., 1998; Leipold ve ark., 2005).

$\beta$ -akrep toksinleri, S3-S4 ekstraselüler kangalında, Na<sup>+</sup> kanalının  $\alpha$ -alt ünitesinde kanalın 4. reseptör bölgesine bağlanırlar. Na<sup>+</sup> kanalının aktivasyonu boyunca voltaj sensörleri dışarıya doğru yer değiştirmiş durumdadır ve bir  $\beta$ -toksini segmentin ekstraselüler sonu ile etkileşir ve onu bu dış tarafta, aktive edilmiş durumda engeller. Bu durum kanalın aktivasyonunu sonraki depolarizasyonda artırır ve daha negatif membran potansiyelleri için aktivasyonun voltaja bağlılığında bir değişikliğe neden olur (Cestele ve ark., 1998).  $\beta$ -toksinleri Na<sup>+</sup> kanal aktivasyonunun voltaja bağlılığını daha negatif potansiyellere değiştirirler ve membran potansiyelinden bağımsızdırlar (Cestele ve Catterall, 2000).  $\beta$ -toksinleri ( $\beta$ -NaScTxs) ayrıca klasik, depresan ve eksitator olmak üzere üç ana grupta alt bölümlere ayrılmıştır (Possani ve ark., 1999a).

*Centruroides noxius* akrebinden izole edilen  $\alpha$ - akrep toksinleri Na<sup>+</sup> kanallarının 3. reseptör bölgesine, bu kanalların inaktivasyon mekanizmasını yavaşlatarak ya da bloke ederek, voltaja bağlı biçimde bağlanır. Öte yandan  $\beta$ - tipi toksinler 4. reseptör bölgesine membran potansiyelinden bağımsız ve Na<sup>+</sup> kanal aktivasyonunu hızlandırarak bağlanır (Jover ve ark., 1980; Wheeler ve ark., 1983).

*L. quinquestratus*'tan izole edilen toksinlerle yapılan çalışmalar ile bu venomda Na<sup>+</sup> kanallarının kapanma kinetiğini değiştirip aksiyon potansiyelini uzatan peptitlerin varlığı gösterilmiştir. Kanalların inaktivasyon mekanizmasını değiştiren bu toksin, elektrofizyolojik olarak tipik bir  $\alpha$ -akrep toksini örneğidir (Catterall W., 1980; Possani ve ark., 1999a). Yeni Dünya akrebi *Centruroides sculpturatus* ile  $\beta$ -tipi etki gösterilmiştir (Meves ve ark., 1986).

Akrep toksinleri farklı şubedeki hayvanlara karşı yüksek özgüllük göstermeleri nedeniyle memeliler, krustaseler ve böcekler için çok fazla spesifik olabilirler

(Possani ve ark., 1999a, 2000; Rodriguez de la Vega ve Possani, 2005). Akrep  $\alpha$ -toksin grubunun, memeliler ve böcekler üzerindeki aktivitelerine ve bağlanma özelliklerine göre çeşitli alt gruplar içerdiği gösterilmiştir (Gordon ve ark., 1996).

Nöral preparatlarda  $\text{Na}^+$  akımı inaktivasyonuna neden olan  $\alpha$ - akrep toksinleri,  $\alpha$ -benzeri toksinler olarak tanımlanırlar (Gordon ve ark., 1996).  $\alpha$ - benzeri  $\text{NaScTx}$ s, fare ve sıçanlarda i.c.v. enjeksiyon ile yüksek toksisite gösterirken, s.c. enjeksiyon ile düşük aktivite gösterirler (Rodríguez de la Vega ve Possani, 2005).

### ***$\text{K}^+$ kanalları için spesifik akrep toksinleri***

$\text{K}^+$  kanallarının çoğunun farmakolojik ve yapısal özellikleri akrep venomlarından izole edilmiş olan yüksek afiniteli kanal blokerleri kullanılarak aydınlatılmıştır ve birçok fizyolojik işlevin yanı sıra birçok hastalıkta rol oynadığının gösterilmesi nedeniyle her geçen gün daha fazla araştırma konusu olmaktadır (Rodríguez de la Vega ve ark., 2003)

### ***$\text{K}^+$ kanallarını bloke edici akrep peptitleri***

*Centruroides noxius* akrep venomundaki Noksiustoksin (NTX) ilk tanımlanan  $\text{K}^+$  kanalları için spesifik toksindir (Possani ve ark., 1982). Bu kısa diziden oluşan akrep peptidinin mürekkep balığı aksonlarında  $\text{K}^+$  geçirgenliğini etkilediği gösterilmiştir (Carbone ve ark., 1982). *L. quinquestratus* akrep venomundan elde edilen Charybdotoksin (ChTX) ise standart bir  $\text{K}^+$  kanalı inhibitörüdür (Miller ve ark., 1985; Garcia ve ark., 1995). ChTX'in  $\text{K}^+$  kanal işlevinin ve yapısının incelenmesi için çok iyi bir ligand modeli olduğu gösterilmiştir (Miller, 1995). Iberiotoksin (IbTX) (Galvez ve ark., 1990), margatoksin (MgTX) (Garcia-Calvo ve ark., 1993), kaliotoksin (KTX) (Crest ve ark., 1995), P05 (Sabatier ve ark., 1993), scyllatoksin (ScTX) (Auguste ve ark., 1990), agitoksin'in (AgTX) (Garcia ve ark., 1994)  $\text{K}^+$  kanallarının bazı tipleriyle yüksek afinite ile etkileştiği ve bu kanalların prototip inhibitörleri olduğu bulunmuştur (Possani ve ark., 1999b; Garcia ve ark., 2001).

$\text{K}^+$  kanallarında rol oynayan peptitler  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ - akrep toksinleri olarak üç grupta sınıflandırılmaktadır (Tytgat ve ark., 1999; Corona ve ark., 2002).  $\alpha$ -KTxs'nin farmakolojik, fizyolojik, biyokimyasal, biyofiziksel ve yapısal özelliklerinin  $\text{K}^+$  kanallarının ve bunlarla ilgili iyonik akımın test edilmesinde çok önemli araçlar olduğu kanıtlanmıştır (Giangiacomo ve ark., 1999; Tenenholz ve ark., 2000; Garcia ve ark., 2001).

Uyarılabilir ve uyarılamayan hücrelerdeki  $\text{K}^+$  geçirgenliğini bloke eden ya da değiştiren akrep venomlarından elde edilen günümüzde bilinen yaklaşık 120 peptit bulunmaktadır (Rodríguez de la Vega ve Possani, 2004). 49 farklı peptit içeren  $\alpha$ -KTx grubu, 12 alt gruptan oluştuğu için en büyük  $\text{K}^+$  kanalı için spesifik akrep toksin grubu olarak belirtilmiştir (Tytgat ve ark., 1999). Bu 49 peptit dışında sadece sınırlı sayıdakiler  $\text{K}^+$  kanalları ile etkileşimi bakımından detaylı olarak incelenmiştir. Akrep venomlarından elde edilen  $\text{K}^+$  kanal bloke edici peptitler, 3 ya da 4 disülfid köprülü 30–40 aminoasitten oluşmaktadır (Rodríguez de la Vega ve Possani, 2004).

Bu peptitlerin tümü disülfid bağları ile bir  $\alpha$ -heliks bölgesine bağlı üç anti-paralel beta dizisi içeren biçimdedir. En iyi tanımlanmış olan peptitler (ChTX, IbTX ve AgTX) voltaja bağlı  $K^+$  kanalları ya da  $Ca^{2+}$  ile aktive edilmiş  $K^+$  kanallarının  $K_v1$  ailesinin üyeleri ile etkileşirler (Garcia ve ark., 2001). Bu peptitler por blokerleri olarak tanımlanmıştır. Tüm peptitlerin kanalın dış vestibülüne bağlandığı ve kanal kapanma (gating) kinetiğini etkilemeden fiziksel olarak poru kapatarak iyon iletimini bloke ettiği gösterilmiştir (Giangiacomo ve ark., 1992).

KTX ile tetraetilamonyum (TEA) arasında etkileşim olduğu gösterilmiştir (Villarroel ve ark., 1988).

$K^+$  kanallarının 100'den fazla alt tipinden çok azı için uygun fonksiyonu etkileyen bir peptit bulunmaktadır. Bilinen 120 toksinin yaklaşık yarısı doğrudan bazı  $K^+$  kanallarına ya da ilişkili akımlara karşı test edilmiştir. Rapor edilen 59 peptit için, doğrudan tanımlanan işlev bulunmamaktadır. Bu peptitlerden biri  $K^+$  kanalları yerine  $Cl^-$  kanalları için spesifik olduğu gösterilen Klorotoksin'dir (Debin ve ark., 1993). Bazı peptitlerin iletkenliği büyük ( $K_{Ca1.1}$ ), orta ( $K_{Ca3.1}$ ) ve iletkenliği küçük ( $K_{Ca2.x}$ )  $Ca^{2+}$  ile aktive edilmiş kanallar üzerinde fonksiyonları gösterilmiş olmasına karşın bilinen fonksiyonların çoğunluğu shaker-ilişkili kanallar ( $K_v1.x$ ) üzerinde belirlenmiştir. Son zamanlarda birçok toksin grubunun ( $\gamma$  - KTx's)  $K^+$  kanallarının *ether a-go-go* ilişkili ailesi ( $K_v11.x$ ) için spesifik olduğu belirtilmiştir (Korolkova ve ark., 2001; Nastainczyk ve ark., 2002; Corona ve ark., 2002).

#### *$K^+$ kanalları için spesifik akrep toksinlerinin biyolojik etkileri*

$K^+$  kanalları için spesifik toksinlerin hayvanlar üzerindeki biyolojik etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bunun nedeninin materyal azlığı olduğu düşünülmektedir.  $K^+$  kanalları için spesifik toksinler akrep venomunda çok küçük miktarda, venomun % 0,1'inden daha az bulunmaktadır (Olamendi-Portugal ve ark., 1996; Nieto ve ark., 1996).

NTX memeliler için toksik olması yüzünden en iyi tanımlanmış  $K^+$  kanalları için spesifik toksindir. 20 gram fareye 50  $\mu g$  i.p. enjeksiyonu deney hayvanını öldürmek için yeterli olmaktadır (Gurrola ve ark., 1989). NTX dizilerini içeren çeşitli sentetik peptitler *in vivo* olarak test edilmiştir. NTX'in N-terminal segmentinin yerini tutan bir nonapeptit, i.v. olarak enjekte edilen 100  $\mu g$  dozda bir fareyi öldürebilir (Gurrola ve ark., 1989). ChTX fareler için toksik değildir. İnsanlar için tehlikeli olmayan akreplerin arthropodlar için spesifik KTx's içerebileceği ileri sürülmüştür (Gomez-Lagunas ve ark., 1996).

#### *$Ca^{2+}$ kanalları için spesifik akrep toksinleri*

Hücre içi depolardan  $Ca^{2+}$  salınımının mekanizmasının aydınlatılması tek bir hücre içi  $Ca^{2+}$  kanal tipini seçici olarak değiştiren ligandların özelliğine bağlıdır (El-Hayek ve ark., 1995a).

Riyanodin reseptörlerini (RyRs) etkileyen akrep toksinleri tek bir kanal tipi için spesifik olan çok değerli peptit toksin kaynaklarıdır. *Pandinus imperator* akrep



venomundan ‘imperatoksin inhibitör’ (IpTxi) ve ‘imperatoksin aktivator’ (IpTxa) olarak adlandırılan, iskelet kası ve kalp kasındaki RyRs’yi sırasıyla seçici olarak bloke ve aktive eden ryanodin reseptörlerine (Ca<sup>2+</sup> salınımı kanalları) karşı hedeflenmiş iki peptit saflaştırılmıştır (Valdivia ve ark., 1992; El-Hayek ve ark., 1995a).

İmpertoksinler hücre içi Ca<sup>2+</sup> sinyallerinin kaslarda, nöronlarda ve RyRs’yi içeren diğer hücrelerde nasıl oluştuğunu ve RyRs’nin hücre içi Ca<sup>2+</sup>,a katkısının belirlenmesini anlamada yardımcı olmaktadır. Çizgili kasları ele aldığımızda toksinler her ikisi de RYRs’nin açılışını içeren, Ca<sup>2+</sup> ve voltaj ile harekete geçirilen Ca<sup>2+</sup> salınımının eksitasyon-kontraksiyona katkısını göstermektedir. (Valdivia ve ark., 1992; El-Hayek ve ark., 1995a).

IpTxa iskelet kası SR’sinde [<sup>3</sup>H] ryanodin bağlanmasını uyarır ve iskelet kası Ca<sup>2+</sup> salınımı kanallarını aktive ederken kardiyak SR’sinde [<sup>3</sup>H] ryanodin bağlanmasını uyarır ve kardiyak Ca<sup>2+</sup> salınımı kanallarını aktive etmez. Bu nedenle kardiyak izoformunda IpTxa için bir bağlanma bölgesinin olmadığı düşünülmektedir. Bu ligandlar bölünmüştür (fragmented) ve bütün hücrelerdeki ‘açma’ (turn on) ya da ‘kapama’ (turn off) işini yapabilirler (Valdivia ve ark., 1992; El-Hayek ve ark., 1995a; Zamudio ve ark., 1997b).

Sıçan iskelet kası RyRs üzerinde IpTxa etkisi kapsamlı bir biçimde incelenmiştir. IpTxa’nın kanal kinetiğinde kanal açılmasıyla sonuçlanabilen bir değişiklik oluşturmak için RyRs’ye doğrudan bağlandığı ya da yakınındaki düzenleyici proteine bağlandığı gösterilmiştir. Ca<sup>2+</sup>,ya karşı RyR duyarlılığının artmasıyla IpTxa Mg<sup>2+</sup>,nin fizyolojik dozlarının neden olduğu RyRs inhibisyonuna yardım etmektedir. IpTxa’nın etkisi spesifik, çabuk ve tersinirdir. Böylece ryanodinin bazı dezavantajları giderilmiştir. IpTxa ryanodine seçenekli bir alan ve RyRs’nin modülatör domaini hakkında eşsiz bilgi sağlamaktadır (El-Hayek ve ark., 1995a).

Sentetik IpTxa’nın kanal kapılanma (gating) için gerekli olan RyR’nin yapısal modellerinin belirlenmesinde yardımcı olabileceği düşünülmüştür (Zamudio ve ark., 1997a).

IpTxa’nın sitozolik kısma eklendiği zaman RYRs’lerdeki iskelet ve kardiyak voltaja ve yoğunluğa bağlı alt iletkenlik durumlarını harekete geçirdiği gösterilmiştir. IpTxa ryanodin ile değiştirilmiş iskelet kası RYR’sindeki bir alt iletkenlik durumuna da neden olur. İskelet ve kardiyak SR veziküllerindeki [<sup>3</sup>H] ryanodine bağlanmasını kanal aktivasyonunun seviyesine bağlı olarak etkilemektedir. Bu sonuçlar ile IpTxa’nın ryanodinden farklı bir kanal bölgesine bağlandığı kanıtlanmıştır (Tripathy ve ark., 1998).

IpTxa, iskelet tipinde dihidropridin reseptörü  $\alpha_1$  alt ünitesinin II-III kangalındaki, SR’dan Ca<sup>2+</sup> salınımını da başlatan bir peptit fragmanı olan Peptit A (El-Hayek ve ark., 1995b) ile yapısal ve işlevsel özellikler açısından oldukça benzerdir (Gurola ve ark., 1999). Bazı aminoasitlerin kardiyak ve iskelet II-III kangal peptidinde mutasyonuyla, peptit A molekül yüzeyinde pozitif yüklü aminoasit rezidü grubu elde edilmiştir (Zhu ve ark., 1999). Bu nedenle RyRs’deki bağlanma bölgeleri gibi, RyR aktivasyonu için genel yapısal bileşenlerin tanımlanması da RyR’nin

kontrol gating mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır (Zhu ve ark., 2004).

IpTxı iskelet ve kardiyak SR'ye [<sup>3</sup>H] rıyanodin bağlanmasını inhibe eder ve iskelet ve kardiyak Ca<sup>2+</sup> salınımı kanallarının açılmasını bloke eder. Bu durum her iki izoformda bulunan bir yere bağlanan bir toksin olduğunu düşündürmektedir. Kardiyak miyositlerin tam-hücre (whole-cell) kayıtlarında, IpTxı SR'den Ca<sup>2+</sup> salınımını harekete geçirerek kas kasılması boyunda ve hücre içi Ca<sup>2+</sup> geçişlerinde artışa neden olmaktadır (Valdivia ve ark., 1992).

M<sub>r</sub> değerleri sırası ile ≈ 10,500 ve ≈ 8,700 olan saflaştırılmış IpTxı ve IpTxa tek (single) polipeptitler olarak, voltaja bağlı Na<sup>+</sup> kanalı (≈7000) ya da K<sup>+</sup> kanalı (≈4000) için hedeflenmiş olan akrep toksinlerinin değerlerinden daha büyük olmasına rağmen K<sup>+</sup> kanalı akrep toksinlerine özgüllük ve yüksek afinite gösterme bakımından benzerdir (Strong, 1990; Valdivia ve ark., 1992).

*Buthotus hottentota* akrep venomunda iskelet ve kardiyak izoformlarının her ikisinde [<sup>3</sup>H] rıyanodin bağlanmasını uyaran peptitler bulunmaktadır (Valdivia ve ark., 1991). *Pandinus* ve *Buthotus* akrep venomlarındaki bu uyarıcı toksinlerin kardiyak ve iskelet RyRs'nin arasındaki topolojik farklılıkların haritasını çıkarmaya yardım edebileceği düşünülmüştür (Valdivia ve ark., 1992).

Maurocalcine (MCA) *Scorpio maurus* Palmatus venomundan izole edilen bir toksindir (Fajloun ve ark., 2000). Maurocalcine sentetik ürünü (sMCA) öldürücü aktivitesi için *in vivo* test edilmiştir ve i.c.v. inokulasyon (LD<sub>50</sub>, 20µg/fare) sonrasında fareler için öldürücü olduğu tespit edilmiştir. Membrandaki RyR1 kanallarında gerçekleşen Ca<sup>2+</sup> akımı üzerindeki etkisi elektrofizyoloji ile *in vitro* test edilmiştir. sMCA'nın etkili ve tersinir bir şekilde RYR1 kanal kapılanma (gating) davranışını belirgin alt iletkenlik hareketi oluşturarak değiştirdiği gösterilmiştir. sMCA'nın RyR1 üzerinde aktif olan bir peptit olduğu ve rıyanodinden farklı bir bölgeye bağlandığı kanıtlanmıştır (Fajloun ve ark., 2000).

*Buthotus judaicus* toksin-1 (BjTx-1) ve toksin-2 (BjTx-2), *Buthotus judaicus* akrep venomundan elde edilen RyR'nin iki yeni peptit aktivatörleridir. Bu toksinlerin aminoasit dizileri yalnız tek bir rezidüde farklıdır. Her iki toksin iskelet SR'sine mikromolar dozlarda [<sup>3</sup>H] rıyanodin bağlanmasını çoğaltmıştır fakat kardiyak ya da karaciğer mikrozomları üzerinde etkisi olmamıştır. Bu toksinlerin aktive edici etkisi Ca<sup>2+</sup>ya bağlıdır ve kafeinle sinerjize edilmiştir. *Buthotus judaicus* toksinleri peptitlerin etkisine aracılık eden doğrudan bir protein-protein etkileşimi göstererek saf RyR1'e [<sup>3</sup>H] rıyanodin bağlanmasını artırmıştır. BjTx-1 ve BjTx-2 Ca<sup>2+</sup> yüklü SR veziküllerinden Ca<sup>2+</sup> salınımını doza bağlı biçimde harekete geçirmiştir ve lipit katmanlarda yeniden oluşturulan iskelet RyRs'de uzun süreli alt iletkenlik durumları görülmesine neden olmuştur. Toksinlerin yapısal modelinin IpTxa ile RyRs'nin aktivasyonu için önemli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle *B. judaicus* toksinlerinin ve IpTxa'nın kanal proteininde büyük yapısal değişikliklere yol açan elektrostatik etkileşimler yoluyla RyRs'ye bağlandığı düşünülmektedir. Akrep peptitlerinin bu grubunun farklı afinitesi ve yapısal farklılığı bu toksinleri kanalın açılışını harekete geçiren

RyR domainlerini belirlemek için çok iyi peptit problemleri yapmaktadır (Zhu ve ark., 2004).

T-tipi voltaja bağılı  $Ca^{2+}$  kanallarının biyofiziksel özellikleri uyarılabilen ve uyarılamayan hücrelerdeki dinlenme membran potansiyeline yakın pacemakinge (hız ayarlama) ve  $Ca^{2+}$  akımının desteklenmesine uyumludur. *Parabuthus transvaalicus* akrep venomundan elde edilen,  $\alpha_{-1G}$  ve  $\alpha_{-1H}$  T-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarına yüksek afinite ile bağlanan ve voltaja bağılı kapılanmayı (gating) değıştirerek kanalı inhibe eden, *Xenopus oocytes*'lerde ifade edilen bir akrep toksini (kurtoksin) tanımlanmıştır (Chuang ve ark., 1998). Bu toksin  $\alpha_{-1G}$  T-tipi  $Ca^{2+}$  kanalları ve  $\alpha_{-1A}$ ,  $\alpha_{-1B}$ ,  $\alpha_{-1C}$  ve  $\alpha_{-1E}$  dâhil olmak üzere diğere tipteki voltaja bağılı  $Ca^{2+}$  kanalları arasında ayırt edilmektedir. Diğere  $\alpha$ -akrep toksinleri gibi kurtoksin voltaja bağılı  $Na^+$  kanallarıyla da etkileşmekte ve inaktivasyonlarını yavaşlatmaktadır. Kurtoksinin T-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarının alt ünite bileşiminin tanımlanmasını kolaylaştıracığı, elektriksel ve biyokimyasal iletişime olan ilgisinin belirlenmesine yardımcı olacağı ileri sürülmüştür (Chuang ve ark., 1998).

Nöronal  $Ca^{2+}$  kanalları üzerinde kurtoksin seçiciliğini tanımlamak için belirlenen sıçan santral ve periferik nöronlarında  $Ba^{2+}$  iyonları ile taşınan  $Ca^{2+}$  kanal akımları üzerinde kurtoksinin etkileri incelenmiştir. Talamik nöronlarda kurtoksin T-tipi  $Ca^{2+}$  kanal akımlarını büyük ölçüde inhibe etmiştir. Kurtoksin bu hücrelerde high-threshold  $Ca^{2+}$  kanal akımını da azalttığı için seçiciliğı az bulunmuştur. Sempatik ve talamik nöronlarda, kurtoksin N-tipi ve L-tipi  $Ca^{2+}$  kanal akımlarını kısmen inhibe etmiştir. Benzer olarak talamik nöronlarda P-tipi, N-tipi ve L-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarının blokajından sonra kalan high-threshold  $Ca^{2+}$  kanal akımını azaltmıştır. Kurtoksin purkinje nöronlarında nispeten dengeli P-tipi  $Ba^{2+}$  akımlarını kolaylaştırmıştır. Tüm durumlarda kurtoksin voltaja bağılı ve kanal kapılanmasında (gatinginde) bir değışikliğe neden olmuştur. Kurtoksine maruz kalma akımın aktivasyon kinetiğini yavaşlatır. Nöronlarda kurtoksin her kanal tipine özel kompleks kapılanma (gating) değışiklikleri meydana getirerek T-tipi, L-tipi, N-tipi ve P-tipi  $Ca^{2+}$  kanalları ile yüksek afinite ile etkileşmektedir. Bu özellik ve kompleks kapılanma (gating) değışiklikleri kurtoksini voltaja bağılı iyon kanallarında yapısal kapılanma (gating) çalışmaları için değıerli kılmaktadır (Chuang ve ark., 1998). Kurtoksin  $Ca_v$  ( $Ca_v$  3.1 ve  $Ca_v$  3.2 sınıfı)  $Ca^{2+}$  kanallarına yüksek afinite ile bağlanırken, L-tipi dahil diğere  $Ca_v$  kanallarına bağlanmamaktadır (Chuang ve ark., 1998).

*Parabuthus granulatus* akrep venomundan voltaja bağılı  $Na^+$  ve  $Ca^{2+}$  kanallarıyla etkileşen Kurtoksin-benzeri 1 (KLI) ve kurtoksin benzeri-2 (KLII) olmak üzere iki toksin saflaştırılmıştır. KLI ve kurtoksinin fare üreme hücrelerinde voltaja bağılı T-tipi  $Ca^{2+}$  kanal aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. KLI'in rekombinant  $Na^+$  kanallarının kapılanma (gating) mekanizmalarını anlamlı bir şekilde etkilediğı ve *Xenopus oosit*'lerde ifade edilen  $\alpha_1$  3.3  $Ca_v$  kanallarını zayıfça bloke ettiği de gösterilmiştir. KLI ve kurtoksin kardiyak ve nöronal dokuda ve üreme hücrelerinde iyon kanallarının rolünü incelemek için problemleri temsil ettiği belirtilmiştir (Olamendi-Portugal ve ark., 2002).

### ***Cl kanalları için spesifik akrep toksinleri***

Cl kanalları omurgalı ve omurgasız sinir sistemindeki hücrel uyarılabilirliğinin düzenlenmesinde (Osborne, 1996) önemli olmasına karşın, başlangıç ve aksiyon potansiyelleri için ya da nöromüsküler kavşaktaki iletimde çok önemli değildir ve onları etkileyen az sayıda toksin bulunmuştur.

*L. q. quinquestratus* (*Lqq*) akrebinden elde edilen ham venomun izole sıçan epitel ve embriyonik sıçan beynindeki küçük iletken Cl kanallarını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Debin ve Strichartz, 1991). Bu venomun aktif bileşeni kısa insektotoksinler için büyük dizi homolojili 4.1 kDa basit bir peptit olan klorotoksindir (Debin ve ark., 1993). Klorotoksine (ClTx) duyarlı insan astrositom hücrelerinde glioma–spesifik Cl kanalının (GCC) varlığı gösterilmiştir (Ulrich ve ark., 1998; Maertens ve ark., 2000). ClTx ve ClTx ile konjuge edilmiş moleküllerin diagnostik ve terapötik potansiyel ile glioma spesifik markerler olarak iş görebileceği ileri sürülmüştür (Soroceanu ve ark., 1998; Maertens ve ark., 2000).

*Parabuthus schlechteri* akrep venomundaki kısa insektotoksin benzeri peptidin saflaştırılması ve kısmî olarak karakterizasyonu yapılmıştır. Voltaja bağlı K<sup>+</sup> kanalları üzerinde aktif olan *Parabuthus transvaalicus* toksini PBTx1 ve *Parabuthus villosus* toksini PBTx2 ve diğer kısa dizi toksinlerinin araştırılması süresince *Parabuthus schlechteri* venomunda kısa insektotoksin benzeri peptit, PBITx1 peptidi keşfedilmiştir. PBITx1 ve diğer kısa insektotoksinler arasında ileri derecede dizi benzerliği vardır. PBTx ve klorotoksin arasındaki benzerlikler Cl kanallarının peptitlerin doğal hedefi olduğunu göstermektedir (Tytgat ve ark., 1998).

Klorotoksinler ve saflaştırılmış *Lqq* ham venomu ile farklı Cl kanalları üzerindeki saflaştırılmış venom fraksiyonlarını denemek için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların amacı özellikle volüm regulated anyon (VRAC) ve Ca<sup>2+</sup> ile aktive edilmiş Cl kanallarını (CaCC) araştırmak için farmakolojik araç olarak iş gören yüksek afiniteli ve seçici polipeptit toksini bulmaktır (Maertens ve ark., 2000). Klorotoksinin submikromolar dozları volume–regulated, Ca<sup>2+</sup> ile aktive edilmiş ve sistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici (CFTR) Cl kanallarını bloke etmemekte ve genel bir Cl kanal toksini olarak sınıflandırılmamaktadır (Maertens ve ark., 2000).

### **Akrep Venom ve Toksinlerinin Farmakolojik Etkileri**

#### ***Akrep zehirlenmesi sonucu ortaya çıkan belirtiler ve semptomlar***

Akrep venomları periferik sinir sistemindeki nörotransmitter salınımını artırıcı etkileri yüzünden uyarılabilir dokular üzerinde çeşitli etkiler göstermektedir. Ciddi akrep zehirlenmelerinde başlıca sempatik ve parasempatik sinir sisteminin ileri derecede aktivitesi ile oluşturulan etkiler ve bir o kadar santral belirtiler görülür (Bawaskar, 1982; Amitai ve ark., 1985; Hershkovich ve ark., 1985; İsmail ve ark., 1994; İsmail, 1995; Gueron ve ark., 1992; Teixeira ve ark., 2001).

Akrepler tarafından zehirlenmiş olan 110 hasta üzerinde yapılan epidemiyolojik ve klinik değerlendirmeler **Çizelge 1** ve **Çizelge 2'** de gösterilmiştir.

**Çizelge 1. Akrepler Tarafından Sokulan Hastalarda Sıklıkla Görülen Semptomlar (Adiguzel ve ark., 2007)**

<b>Klinik semptomlar</b>	<b>Hasta sayısı (n: 170)</b>	<b>(%)</b>
<i>Lokal Semptomlar</i>		
Ağrı	168	98.8
Hiperemi	145	85.3
Şişme	117	68.8
Yanma	34	20.0
Kaşıntı	2.0	1.2
<i>Sistemik Semptomlar</i>		
Hipotansiyon (n: 47)	8.0	16.8
Hipertansiyon (n: 48)	5.0	10.6
Ağız Kuruluğu	18	10.6
Susuzluk	16	9.4
Terleme	11	6.5
Taşikardi (n: 86)	5.0	5.8
Dispne	7.0	4.1
Bulantı	6.0	3.5
Huzursuzluk	4.0	2.4
Kusma	3.0	1.8
Siyanoz	2.0	1.8
Bradikardi (n: 86)	1.0	1.2
Lakrimasyon	1.0	0.6
Spazm	1.0	0.6
Salgı artışı	1.0	0.6
Konfüzyon	1.0	0.6
Konvülsiyon	1.0	0.6

**Çizelge 2. Akrepler Tarafından Sokulan Hastaların Epidemiyolojik Özellikleri (Adiguzel ve ark., 2007)**

<b>Epidemiyolojik özellikler</b>	<b>Hasta sayısı (n: 170)</b>	<b>(%)</b>
<i>Cinsiyet</i>		
Kız	89	52.4
Erkek	81	47.6
<i>Yaş</i>		
0-2	12	7.1
3-8	66	38.8
9-15	92	54.1
<i>Yer</i>		
Üst ekstremitte	80	47.1
Alt ekstremitte	69	40.6
Vücut	14	8.2
Baş ve boyun	7.0	4.1
<i>Aylar</i>		
Mayıs	9.0	5.3
Haziran	41	24.1
Temmuz	64	37.6
Ağustos	55	32.4
Eylül	1.0	0.6

Ciddi akrep zehirlenmeleri ile ilgili aşırı katekolamin, anjiyotensin II, glukagon ve kortizol salınması ile sonuçlanan otonomik bir etkiye neden olan ve insan vücudundaki insülin salgılanmasını değiştiren çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir (Bawaskar ve ark., 1999; Özkan ve ark., 2007). Hormonal ortamdaki bu değişiklikler miyokardiyal hasar, kardiyovasküler rahatsızlıklar, periferik sirkülatuar bozukluk, pulmoner ödem ve birçok diğer klinik belirtilere birlikte ya da ayrı ayrı neden olarak enerji kaybı sendromuna ve hayati organların var olan metabolik substratları kullanmada yetersizleşmesine ve organ sistemlerinin bozulması ile ölüme yol açmaktadır (Özkan ve ark., 2007).

Ölümün asıl nedeninin pulmoner ödem ve solunum durması başlamasıyla ortaya çıkan komplikasyonlar ile birlikte adrenerjik ve noradrenerjik sinir uçlarından katekolaminlerin çok fazla salınımı ile sonuçlanan kardiyovasküler toksisiteden kaynaklandığı düşünülmektedir (Harvey, 1994; Bawaskar ve Bawaskar, 1991; Ismail, 1995; Gwee ve ark., 2002).

Akrep venomuyla zehirlenme sonrasında görülen ciddi klinik semptomlar zehirlenmeye neden olan akrep türlerine ve enjekte edilen venomun miktarına bağlıdır. Bu nedenle, *Centruroides sculpturatus* akrebi özellikle allodina ve paresteziye yol açarken, *Androctonus australis hektor* akrebi sokması çoğunlukla ekzokrin hipersekresyon ile muskarinik sendrom, abdominal ağrı, kusma, midriyazis ve priyapizme neden olmaktadır (Goyffon ve ark., 1982; Krifi ve ark., 1998).

Akrep zehirlenmesi genellikle kardiyovasküler etkilere neden olmaktadır. Sistemik kan basıncındaki değişiklikler ve kardiyak ritim bozuklukları *Centruroides*, *Tityus*, *Leiurus*, *Androctonus* ve *Buthus* venomları uygulanması ile gösterilmiştir (Ay ve ark., 1996). Hipertansiyon Buthidae zehirlenmesinin başlıca tipik etkisi olarak kabul edilmektedir. *Tityus* toksininin, izole sıçan kuyruk arterinin geçici kasılmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Bu etki endojen katekolaminlerin salınımı ile açıklanmıştır (Savino ve Catanzaro, 1985). *L. quinquestriatus* venomunun tavşan kan damarlarındaki K<sup>+</sup> kanallarını inaktive ettiği gösterilmiştir (Strong ve ark., 1989). Nonvasküler düz kasta *Androctonus australis* Hektor akrep toksini II sinir uçlarından ACh salınımıyla ve kobay taenia coli'deki Na<sup>+</sup> geçirgenliğini artırarak kasılmaya yol açmaktadır (Lin-Shiau ve ark., 1986). Sıçan ileumunda, *Tityus* toksini ACh salınımı aracılığıyla P maddesi spazmodik aktivitesine yol açtığı ve adrenerjik yapının geçici olarak gevşemesine neden olduğu gösterilmiştir (Ay ve ark., 1996).

Akrep zehirlenmesinin bir sonucu olan pulmoner ödem, miyokardiyal bozukluktan ileri gelmektedir. İkinci olarak bradikinin sekretuar pulmoner ödeme yol açmaktadır ve pankreastaki  $\beta$  hücreleri üzerindeki  $\alpha$ -reseptörlerinin blokajıyla insülin salgılanmasını artıran prazosinle kardiyojenik etkiler zamanında düzenlenmediğinde anoksi nedenli doku hasarı ve serbest oksijen radikallerinin biriktirilmesi yüzünden kallikrein uyarılmasıyla oluşmaktadır. Akrep sokması olan kişide ayrıca otonomik etki nedeniyle hiperkalemi ve hiperglisemi de meydana gelebilir (Deshpande ve Alex, 2000; Dittrich, 1998; Özkan ve ark., 2007)

### ***Akrep venom ve toksinlerinin nosiseptif ve antinosiseptif özellikleri***

Akrep zehirlenmesi sonucu meydana gelen en ciddi ve tehlikeli klinik semptomlar kardiyovasküler ve respiratuar değişiklikler olmasına karşın en sık görülen ve en çok rahatsızlık veren semptom saatlerce süren ağrı ve ardından aylarca süren allodina'dır (Bawaskar, 1982; Nascimento ve ark., 2005; Bawaskar ve Bawaskar, 1989).

Akrep zehirlenmesiyle ilgili şiddetli ağrıyı açıklayan bazı çalışmalar rapor edilmiştir. *Tityus serrulatus* venomunda bulunan bazı toksinler nöroblastoma hücrelerindeki voltaja duyarlı Na<sup>+</sup> kanallarının inaktivasyonunu geciktirebilir (Kirsch ve ark., 1989) ve kültürdeki hipokampal ve serebellar nöronlar ile sinaptozomlardaki K<sup>+</sup> akımlarını bloke edebilir (Eccles ve ark., 1994; Rogowski ve ark., 1994). Nosiseptif nöronlarda da böyle değişimler meydana gelirse spontan ağrı ve akrep zehirlenmesiyle ilişkili allodina oluşabilmektedir (Nascimento ve ark., 2005).

Akrep venom enjeksiyonu bradikinin, trombosit aktive edici faktör, prostaglandinler, lökotrienler, sitokinler ve 5-HT gibi enflamatuar mediyatörlerin salgılanmasına neden olur (Correa ve ark., 1997).

Farklı akrep venomlarında nosiseptif sinirleri harekete geçiren ya da duyarlı hale getiren 5-HT, histamin ve bradikininin etkisini artıran peptit gibi bazı mediyatörler bulunmaktadır. Akrep zehirlenmesinin enflamatuar sitokinlerin üretiminin artmasıyla karakterize olan sistemik enflamatuar yanıtı neden olduğu ileri sürülmektedir (Magalhaes ve ark., 1999). Bu enflamatuar mediyatörler diğer uyaranlarla oluşturulan ağrı ve allodina oluşumunda etkili olmaktadır ve akrep zehirlenmesiyle ilişkili ağrıya neden olabileceği düşünülmüştür (Nascimento ve ark., 2005).

Deney hayvanlarında *Tityus serrulatus* venomunun (TSV) ve aktif toksini tityustoksinin (TsTx) s.c. enjeksiyonunun nosiseptif yanıtı ve enflamasyona neden olduğu bulunmuştur. Benzer biçimde, BmK akrep venomunun başlıca öldürücü bileşeni BmK I toksininin BmK venomunun nosiseptif etkisini oluşturan etkenlerden biri olduğu rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2001b, 2002a; Zhang ve ark., 2002).

BmK venomundan elde edilen bir Na<sup>+</sup> kanalı 3. reseptör bölgesinin modülatörü olan BmK I'in dorsal kök gangliyonundaki (DRG) voltaja bağlı Na<sup>+</sup> akımları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. BmK I'in TTX-S Na<sup>+</sup> akımları open-state inaktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkisinin TTX-R Na<sup>+</sup> akımlarından daha güçlü olduğu bulunmuştur. BmK I TTX-S akımlarının voltaja bağlı aktivasyonlarını artıran bir etki göstermiştir ve TTX-S ve TTX-R Na<sup>+</sup> akımlarının zamana bağlı aktivasyonu üzerinde zıt bir etki meydana getirmiştir. BmK I'in open-state inaktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi zayıf TTX-S ve TTX-R akımlarının çoğalmasında katkıda bulunabileceği düşünülmüştür ve BmK I'nin zamana bağlı aktivasyonu üzerindeki artırıcı etkisinin zayıf TTX-S akımlarının artmasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. BmK I'nin etkisi ve TTX-S ve TTX-R kanallarının inaktivasyonunu inhibe eden ve voltaja bağlı aktivasyonu

hızlandırıcı etkisi TTX-S kanallarının başlangıç aktivasyonunun azalması ile birlikte DRG nöronlarının hipereksitabilite oluşturmaya ve böylece BmK I ile hiperaleji oluşmasına yol açabilir (Chen ve ark., 2005).

Araştırmacılar tarafından rapor edilen sonuçlar medikal önemi olan farklı türlerin venomlarının benzer sonuçlara yol açmasına rağmen farklı mekanizmalarda rol oynadığını göstermektedir. Bu durum güçlü toksinlere karşı oluşan birçok yanıtın daha iyi anlaşılmasına ve akrep zehirlenmesi ile ilişkili ağrıyı hafifletmek için daha rasyonel farmakolojik yaklaşıma yol açmaktadır (Nascimento ve ark., 2005).

Hayvansal kaynaklardan elde edilen çok sayıda analjezik bileşik bulunmaktadır (Rajendra ve ark., 2004). Akrep venomlarının apopleksi, epilepsi, yüz felci, kısmi felç, menenjit ile oluşan ağrılar, beyin felci ve romatizma gibi bazı nöronal hastalıkların tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur (Liu ve ark., 2003).

BmK akrebinin venomu çok az toksiktir ve zehirlenmiş kişilerde ölüme neden olmamaktadır. BmK akrep venomu Çin geleneksel tıbbında günümüzde bile hastalıkları önlemede ve tedavide geniş ölçüde kullanılmaktadır (Guan ve ark., 2001a; Xiong ve ark., 1999; Bai ve ark., 2006). BmK venomunda nörotoksiteden başka çeşitli aktivitelere sahip olan voltaja bağlı Na<sup>+</sup> kanallarının farmakolojik özelliklerini değiştiren çok çeşitli bazı aktif peptitler elde edilmiştir (Goudet ve ark., 2002). Örneğin, analjezik etkisi olan bir peptit izole edilmiştir ve dizilimi kısmen belirlenmiştir (Xiong ve ark., 1999). Nitretrjik cevaplar üzerinde etkili olan Makatoksin isimli peptit keşfedilmiştir. (Gong ve ark., 1997).

*BmK IT-AP*, BmK venomundan izole edilen eksitator böcek toksini, farelerde analjezik etki meydana getirmektedir (Xiong ve ark., 1999). Aynı akrep venomundan elde edilen *BmK dIT-AP3* (Goudet ve ark., 2002) peptidinin böcekler üzerinde depresan nörotoksititeye ve farelerde analjezik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Guan ve ark., 2001a). *BmK dIT-AP3*'ün aminoasit dizisi, *Ba IT2*, *Bot IT4*, *Bot IT5*, *Lqh IT2*, *Lqq IT2* ve *Bj IT2* gibi diğer depresan böcek toksinlerine homolog olduğunu fakat memeli toksinlerine çok az benzediğini göstermektedir. Farelerde 5 µg/g dozunda % 43 inhibisyon etkili analjezik etki gösterilmiştir (Guan ve ark., 2001a). *BmK dIT-AP3*, sıçanda carrageenin yol açtığı (termal hiperaleji) enflamasyonda periferik anti-hiperaleji ve anti-nosisepsiyon göstermektedir. İskelet kasındaki RyR agonisti olan *BmK AS*, *BmK IT2*'ye benzeyen nosiseptör afferent yollardaki Na<sup>+</sup> kanalını değiştirerek periferik anti-hiperaleji ve anti-nosisepsiyona neden olmaktadır (Chen ve Ji, 2002). Başka bir peptit toksini *BmK AS1*, sıçan periferik sinir sistemi ve spinal kordunda güçlü antinosiseptif etki göstermektedir. Bu etki nalokson ile tersine çevrilemez. Bu nedenle bu toksinin antinosiseptif yollarının gösterilmesi endojen opiat sisteminden bağımsızdır (Rajendra ve ark., 2004). Analjezik etki mekanizması dorsal kök gangliasının (DRG) periferik ve santral nöronlarında yer alan TTX-dirençli ve TTX-duyarlı Na<sup>+</sup> kanallarının modülasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Tan ve ark., 2001a,b).

*BmK* venomundan bir antitümör analjezik peptit (AGAP), visseral ve somatik ağrı üzerinde güçlü inhibitör etki ve *E. ascites* tümörü ve S-180 fibrosarkoma hücreleri üzerinde antitümör etki meydana getirmiştir (Liu ve ark., 2003).



Bir böcek toksini olan *BmK* Ang P1, farelerde analjezik etki meydana getirmektedir ancak 10 µg/g dozunda bile memelilerde öldürücü değildir. Ang P1'in N-terminal dizisi *Androctonus australis*'den AaHIT1 ve IT2, *L. quinquestratus*'dan *Lqq* IT1 ve *Buthus judaicus*'dan *Bj-xtr* gibi diğer eksitator toksinler ile yüksek benzerlik göstermesine karşın bu toksinlerin hiçbirinin analjezik etkiye sahip olduğu rapor edilmemiştir (Guan ve ark., 2001b).

Bu bulgulara göre akrep venomundan elde edilen eksitator (*BmK* IT-AP) ve depresan (*BmK* dIT-AP3) böcek toksinlerinin memelilerde antinositif etki gösterdiği açıkça görülmektedir. Böcek toksinlerinin bu iki sınıfı böceklerde farklı biçimde etki gösteren farklı gruplara ait olmasına rağmen, memelilerde nitrositörler ile etkileşen genel bir moleküler mekanizmaya sahiptir (Goudet ve ark., 2002).

### ***Akrep venomları ve toksinlerinin otonomik etkileri***

Birçok akrep türünden sağlanan venom ve toksinlerin izolasyon, saflaştırılma ve farmakolojik ayrılmasını, izole sinir-kas dokusu preparatlarındaki bu farmakolojik olarak aktif ajanların aracılık ettiği otonomik etkileri kapsayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Gwee ve ark., 2002). Yapılan Farmakolojik araştırmalarda özellikle izole sıçan *anococcygeus* kası preparatları tercih edilmiştir. Bu kasın bu amaç için uygun olmasının nedeni otonomik innervasyonunun bir noradrenerjik (eksitator) ve bir nitrenerjik (inhibitor, nonadrenerjik nonkolinerjik) sinirden oluşmasıdır. Sinirin elektriksel olarak ya da uygun ilaçlar veya diğer farmakolojik olarak aktif ajanlar ile uyarılması dokunun bir kontraktıl ya da gevşetici yanıtına neden olur. Adrenerjik ya da kolinerjik agonistler aynı zamanda *anococcygeus* kasının kontraktıl yanıtını  $\alpha$ -adrenoseptörler ya da dokudaki muskarinik  $M_3$  kolinositörler üzerinde doğrudan rol oynayarak ortaya çıkarabilir. Pre- ya da post-junctional mekanizmaların doğrulanması için kullanılan farmakolojik inhibitörlerin ya da blokerlerin uygun bileşimleri *anococcygeus* kasının kontraktıl (noradrenerjik) ya da gevşetici (nitrenerjik) yanıtının ortaya çıkarılmasıyla ilişkilidir (Gwee ve ark., 2002; Gibson ve McFadzean, 2001).

*Anococcygeus* kasının *Mesobuthus tamulus* (BT) venomuna ve elektriksel alan stimülasyonuna karşı kontraktıl yanıtının *anococcygeus* kasının çıkarılmasından 24 saat önce, TTX (seçici voltaj duyarlı  $Na^+$  kanal blokeri), fentolamin (seçici  $\alpha$ -adrenoseptör,  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$ , blokeri), guanetidin (adrenerjik nöron blokeri) ve sıçanların rezepin (norepinefrinin sinir uçlarındaki tüketicisi) ile ön tedavisi için yüksek derecede duyarlı olduğu ve desipraminin (norepinefrin uptake blokeri) kontraktıl yanıtını artırdığı gösterilmiştir (Gwee ve ark., 2002).

BT venomunun norepinefrin salınımı için noradrenerjik sinirleri uyan bir pre-junctional etki mekanizmasına ve *anococcygeus* kasının kontraktıl yanıtına aracılık ettiği gösterilmiştir. Noradrenerjik sinirlerin uyarılmasının, TTX BT venomunun kontraktıl yanıtını da bloke ettiği için, nöronal voltaja bağlı  $Na^+$  kanallarının BT venomu ile aktivasyonu yüzünden olduğu düşünülmektedir (Gwee ve ark., 1994).

*Lqg* venomunun (LQV) nitrejik iletim üzerindeki etkileri karbakol (CCH) ile önceden kastırılmış (*precontracted*) izole sıçan anococcygeus kası kullanılarak araştırılmıştır. LQV'nin ve elektriksel alan uyarılmasının CCH ile önceden kastırılmış anococcygeus kasında belirgin ve hızlı bir gevşeme oluşturduğu bulunmuştur. TTX ve  $N^G$ -nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) bir nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü, LQV ve elektriksel alan uyarılması için gevşetici yanıtları belirgin biçimde inhibe etmektedir. Ancak bir nitrik oksit salınımı yapıcı (releaser) sodyum nitroprusid, TTX ile bloke edilememiştir.

Bu sonuçlar LQV ve elektriksel alan stimülasyonuna karşı gevşetici yanıtların nöronal voltaja bağlı  $Na^+$  kanallarının aktivasyonunun bir sonucu olarak nitrejik sinirlerdeki L-arginin-NOS-NO yolağının uyarılması ile ilgili bir pre-junctional mekanizmanın aracılık ettiğini göstermiştir.

LQV'nin nitrejik iletim üzerinde ayrıca, BT venomu ile zehirlenmiş olan kişilerde görülen priyapizm ile açıklanan, penis düz kasını uyarıcı nitrejik sinirlerin uyarılması olasılığını artırıcı etki göstermektedir (Gwee ve ark., 1995).

Asya siyah akrepleri *Heterometrus longimanus* ve *Heterometrus spinifer*, *Scorpionidae* familyasına aittir ve Güneydoğu Asya bölgesindeki hemen hemen en büyük akrelerdir. Yetişkin siyah akrepler, daha çok korkunç bir görünüme sahip, oldukça büyük kısıklarla donatılmış, küçük ıstakozlar gibi görünen akrelerdir ve tahminen avını yakalamak ve savunma için özel olarak tasarlanmışlardır. Siyah akreplerin insanlarda öldürücü zehirlenmeye neden olduğunu bildiren belge bulunmamaktadır. Biyokimyasal ve farmakolojik çalışmalar için bir koloni akrep çoğaltılmış, venom salgı bezlerinin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenmiş ve akrelerden elektriksel stimülasyon ile venom sağılmıştır (Gwee ve ark., 1996; Gopalakrishnakone ve ark., 1995a,b). Birçok akrep venom ve toksininin otonom sinir sisteminde belirgin uyarı oluşturması yüzünden *H. longimanus* venomunun (HLV) izole sıçan anococcygeus kasında adrenerjik iletim üzerindeki etkileri araştırılmıştır. HLV'nin anococcygeus kasında norepinefrinin etkilerine benzeyen kontraktıl yanıtlar oluşturduğu bulunmuştur. Fentolamin ile bloke edilen yanıtların desipraminle, guanetidin kadar etkisi artırılmıştır. HLV'nin norepinefrin gibi sıçan anococcygeus kasında post-junctional adreseptörlerin doğrudan uyarılmasıyla agonist etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Gwee ve ark., 2002).

HLV'deki katekolaminlerin (norepinefrin, epinefrin ve dopamin) içeriğini belirlemek için deneyler yapılmıştır. HLV'de nispeten yüksek dozlarda norepinefrin, yaklaşık 60 kat daha düşük dozda ise dopamin bulunmuştur. Epinefrin hiç bulunmamıştır. Kontrolde 7 ve 14 gün sonra toplanan HLV'deki norepinefrin yoğunluğu, sırası ile yaklaşık olarak 70% ve 25% olarak belirlenen kayda değer bir azalma göstermiştir. Norepinefrin yoğunluğu 21 gündeki kontrol seviyesine yakinken yenilenmiştir, dopamin içeriği ise 21 gündeki kontrol seviyelerine geri dönmeye kadar 7 gündeki kontrole göre 4 kat yükseltilmiştir (Gwee ve ark., 1993).

Böylece bir akrep venomunda, anococcygeus kasında HLV'nin doğrudan agonistik etkisi için kolayca hesaplanabilen yüksek dozlarda norepinefrin

bulunduğu ilk kez bildirilmiştir. Bundan başka, HLV'de 60 kat daha düşük dozda dopamin norepinefrinle kıyaslanmış ve *H. Longimanus*'da, olağan yolağın, orta seviyede bir dopamin ile tirozindeki katekolaminlerin sentezi ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür. Dopamin yoğunluğundaki dikkat çekici dört kat yükselme, norepinefrin yoğunluğunda %70 düşüş olduğu zaman, tirozin hidroksilaz aktivitesi ve sonuç olarak feedback ürün inhibisyonunun norepinefrin ile kaybı yüzünden, aktif sentezin oldukça artırılmış olabileceği ileri sürülmüştür (Gwee ve ark., 2002).

*Heterometrus spinifer* venomunun (HSV), civciv *biventer cervicis* kasında belirgin ve tersinir kasılma oluşturduğu gösterilmiştir. Kasılma D-tübokürarin ile kolayca bloke edilmiş fakat TTX ve  $\omega$ -konotoksin GVIA (N-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarının seçici blokeri) ile bloke edilememiştir, böylece görülen kasılma post-junctional nikotinik kolinoseptörlerde HSV'nin doğrudan bir agonist etkisi ile meydana gelmiştir. Neostigmin'in HSV'nin neden olduğu kasılmayı artırması, asetilkolinesteraz (AChE) ile hidrolize maruz kalan HSV'de bir kolinoseptör agonistin varlığını göstermektedir. HSV sıçan *anococcygeus* kasında atropin ile kısmen bloke edilmiş bir kasılma cevabı meydana getirmiştir. Geri kalan cevap fentolamin ile bloke edilmiştir. Atropin ve fentolamin varlığında, *anococcygeus* kası HSV'ye karşı herhangi bir cevap oluşturmamıştır. TTX de *anococcygeus* kasının HSV'ye karşı kasılma cevabını bloke etmemiştir, böylece nörotransmitter salınımının HSV'nin kolinerjik muskarinik ve adrenerjik agonistleri ile ilgili olmadığı net olarak gösterilmiştir (Gwee ve ark., 2002).

HSV'de bulunan doğal farmakolojik olarak aktif bileşenleri belirlemek için deneyler yapılmıştır. Bu bileşenler düz kastaki adrenerjik agonist etkide olduğu kadar, iskelet kası (*civciv biventer cervicis* kası) ve düz kasta (*anococcygeus* kası) kolinerjik agonist etkilere aracılık edebilir. Sonuçlar hem ACh hem de norepinefrinin nispeten yüksek dozları HSV'de bulunduğunu göstermiştir (Nirathanan ve ark., 2002).

Asya siyah akrepleri *H. longimanus* ve *H. spinifer*'in venomunda birçok omurgalının otonom sinir sisteminin nörotransmitterleri olarak bulunan ACh ve norepinefrin bulunduğu gösterilmiştir. İzole sıçan *anococcygeus* kası ile yapılan çalışmalarla akrep iyon kanal toksinleri ile ilgili biyolojik aktivitenin ortaya çıkarılması amaçlanmasına rağmen böyle bir aktivite ortaya çıkarılamamıştır (Gwee ve ark., 1993; Nirathanan ve ark., 2002).

Asya siyah akreplerinin venomu predatörlere karşı savunma için olduğu kadar avını yakalamada saldırı amacıyla birçok hayvan tarafından çoğunlukla kullanılan güçlü nörotoksinlerden yoksun olduğu görülmektedir. Asya siyah akreplerinin fiziksel olarak korkunç ve ıstakoz benzeyen kısıkaçları ile donatılmış olan doğal görünüşe sahip olmaları onların avlarını kolayca yakalamalarını olanaklı kılar ve uzaktaki güçlü avcılarını ürkütür. HSV' de bulunan ACh sadece akrep sokmaları ve bazı diğer zehirli hayvanlar ile ilgili ağrı oluşturmak için bir aljezik ajan olarak iş görmektedir (Gwee ve ark., 2002).

*H. spinifer* venomunda ACh varlığı bunun ayrıca sinir sistemindeki kolinerjik iletimle ilgili olabileceğini de göstermektedir, çünkü ACh'in böyle bir rolü olduğu

önceden kanıtlanmıştır (Gwee ve ark., 2002). Norepinefrin siyah akreplerdeki nörolojik iletim süreci ile ilişkili olabilir çünkü norepinefrinin *H. longimanus*'da tirozin–dopamin yolağında aktif olarak sentezlenmiş olduğu gösterilmiştir (Gwee ve ark., 1993).

Katekolaminlerin çok fazla salınımının bir sonucu olarak kardiyovasküler toksisite oluşmasının akrep zehirlenmesinde önemli bir özellik olduğu belirtilmiştir. Siyah akreplerde yüksek dozlarda norepinefrin var olması böyle bir etkiye aracılık edebilmesi için değildir. Norepinefrinin bir akrep sokmasının ardından sistemik döngüye girişi güçlü vazokonstriktör etkisi yüzünden sınırlayıcı olabilir. Böyle bir etki akrep zehirlenmesi ile ACh'nin aljezik etkisini sınırlamaya yardım eder. Norepinefrinin kullanımına benzer bir etki lokal anesteziklerin lokalize bölgedeki etkisinin kısıtlanmasında görülmektedir. Norepinefrin için böyle bir rol ayrıca *H. scaber* akrebi tarafından sokulan bölge etrafında keskin bir yanma duygusu olan uzun süreli reaksiyonu da açıklayabilir (Gwee ve ark., 2002).

Özetle, Asya siyah akreplerinin venomundaki güçlü nörotoksinlerin olmaması bu akrepler tarafından öldürücü zehirlenmeleri gösteren belgelerin olmamasına bir açıklama getirmektedir. Aksine daha küçük akrepler (BT, *Lqq*) bir sokmadan sonra venomdaki güçlü nörotoksinlerini boşaltarak ölüme neden olabilirler (Gwee ve ark., 2002).

#### ***Akrep venom ve toksinleri ile yapılan diğer farmakolojik çalışmalar***

*Tityus serrulatus* akrebinden izole edilen venom ya da toksinler sıçan beyninin farklı bölgelerine enjekte edildikten sonra serebral elektrik aktivite kayıtlarında epileptiform, beyin hasarı ve konvülsiyonlar meydana getirdiği gösterilmiştir (Dorce ve Sandoval, 1994; Carvalho ve ark., 2000; Nencioni ve ark., 2000). Eksitator aminoasit (EAA) salınımı bu etkileri kapsamaktadır (Carvalho ve ark., 2000; Nencioni ve ark., 2000). Epilepsi, felçle oluşan beyin hasarı ve glutamat eksitotoksistide EAA nörotransmitterlerinin girişi geniş ölçüde araştırılmıştır (Lourenço ve ark., 2002).

*Tityus bahiensis* venomundan elde edilen P2, P3, P4, P5, P6 ve P7 fraksiyonlarının memeli SSS üzerindeki etkileri incelenmiştir. P5, P6 ve P7'nin sıçanlarda i.v. enjeksiyonu spontan konvülsiyona, intrahipokampal enjeksiyonu davranış bozukluğuna neden olmaktadır. P5 ve P6 nöronal hasara yol açmaktadır. P3'ün hipokampüsteki enjeksiyonu konvülsiyon ya da lezyon oluşturmamaktadır. Farelere i.v. enjekte edildiği zaman bu fraksiyon davranışsal aktivitede azalmaya yol açmaktadır. P4'ün hipokampüsteki unilateral enjeksiyonu kontralateral CA3'de nöronal hasara yol açar fakat ipsilateral hipokampüste yol açmaz. Bu sonuçlar venomdaki akrep toksinlerinin davranışsal ve histopatolojik etkilere yol açarak santral sinir sisteminde doğrudan rol oynadığını göstermektedir (Lourenço ve ark., 2002).

*Centruroides limpidus limpidus* Karsch akrep venomundan 4 disülfid köprüsü ile bağlı 63 aminoasit rezidüsünden oluşan CII9 isimli bir peptit izole edilmiştir. CII9'un sıçan periferik gangliyon hücre kültüründe Na<sup>+</sup> kanalları üzerinde

inhibitör etkisi gösterilmiştir (Corona ve ark., 2003). Bu toksin böceklerle, krustaselere ve i.p. olarak farelere enjekte edildiğinde gözle görülür hiçbir değişiklik olmamıştır. Sıçanlara i.c.v. enjekte edildiğinde ise belirgin bir uyku bastırma etkisi ve belirgin bir antiepileptik etki ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Memeliler üzerinde güçlü bir nörodepresan etkisi olduğu düşünülmektedir (Corona ve ark., 2003).

*Mesobuthus tamulus* (BT) venomu akut miyokardi, disritmi, miyokardiyal iskemi, hipotansiyon ya da hipertansiyon, pulmoner ödem, insülin seviyesinin artması ya da azalması gibi etkilere yol açtığı için öldürücüdür (Murthy ve ark., 1991; Rowan ve ark., 1992; Murthy, 2000; Deshpande ve Alex, 2000; Deshpande ve ark., 1999; Bagchi ve Deshpande, 1998, 1999; Murthy ve Zare, 1997). BT venomunun pulmoner ödeme neden olduğu ve bradikininin reseptörü (B<sub>2</sub>) yoluyla kinin aracılıklı mekanizmayı kapsayarak ortaya çıkan kardiyopulmoner refleksleri hassaslaştırdığı gösterilmiştir (Deshpande ve ark., 1999; Bagchi ve Deshpande, 1998, 1999). Akreplerin diğer türleri (*L. quinquestriatus*) ile zehirlenmiş hayvanlarda plazma kinin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. BT venomu toksisitesinde bile kininlerin hayati bir rol oynadığı görülmüştür (Fatani ve ark., 1998).

Aprotinin'in kardiyorespiratuar anomalilere karşı zehirlenmiş sıçanlardaki pulmoner parametrelerdeki rolü araştırılmıştır. Yapılan tüm çalışmalarda venomun öldürücü olmayan dozları kullanılmıştır ve pulmoner ödem yoğun bir şekildedir. Önceden BT venomuna maruz bırakılan hayvanların şiddetli respiratuar anomaliler sergiledikleri rapor edilmiştir (Deshpande ve Alex, 2000). MAP, HR ve RR'de aprotinin varlığında ya da yokluğunda 2 s.' de artış olduğu ileri sürülmüştür. BT venomunun respiratuar ve kardiyovasküler parametrelerde 60 dakika içinde ölüme yol açan ciddi düzensizlikler meydana getirdiği gösterilmiştir. Aprotinin, bir kallikrein-kinin sentez inhibitörü, BT venomu tarafından oluşturulan toksik manif görüntüleri tersine çevirir ve hayvanlar bütün gözlem periyodu boyunca daha uzun yaşarlar (Pandey ve Deshpande, 2004). Aprotinin ön tedavili hayvanların daha uzun süre yaşamaları, ventilasyon gelişmesi ve pulmoner ödemin olmaması BT venomunun yol açtığı pulmoner toksisitede kininlerin rolünü göstermektedir. Bu nedenle aprotinin ya da kinin antagonisti, BT venomu toksisitesi için terapötik bir ajan olarak önerilebilir (Pandey ve Deshpande, 2004).

*T. discrepans* venomundan 38 aminoasit rezidülü ve üç disülfid köprüsü ile bağlı olan bir peptit izole edilmiştir. Discrepin olarak isimlendirilen bu peptitin sıçan serebellum granular hücrelerinin voltaja bağlı K<sup>+</sup> kanalındaki I<sub>A</sub> akımlarını bloke ettiği gösterilmiştir. K<sup>+</sup> akımları tersinir bir biçimde inhibe edilmektedir (D'Suze ve ark., 2004).

*T. serrulatus* venomunun renal ve mezenterik perfüzyon basıncında artış ve glomerüler filtrasyon hızı ve üriner akışın azalması ile ilişkili olduğu düşünülen renal ödem meydana getirdiği gösterilmiştir (Alves ve ark., 2005).

TSV, α- ve β- nörotoksinlerini içermektedir. Sırasıyla TsTX-V ve TsTX-I bu toksinlerin örnekleridir (Beceril ve ark., 1997). TSV (TsTX-V ve TsTX-I)

toksinlerinden elde edilen  $\alpha$ - ve  $\beta$ - nörotoksinlerinin sıçanlarda, ortalama arteriyel kan basıncı (MAP) ve katekolamin salınımı üzerindeki etkileri kıyaslanarak incelenmiştir (Vasconcelos ve ark., 2005). Ham venom ve TsTX-I toksini ile meydana gelen etkiler birbirine çok benzemektedir. Bu durum toksinin hipertansiyon ortaya çıkmasında *T. serrulatus* öldürücülüğünde önemli rol oynadığını göstermektedir. Katekolaminler  $\text{Na}^+$  kanal akrep toksinleri ile oluşturulan hipertansiyondan sorumlu başlıca araçlardır. TsTX-V'nin toksisitesinin yalnız katekolamin salınımına bağlı olmadığı diğer nörotransmitterlerin de bu toksisite ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. TsTX-I ve TsTX-V ile meydana getirilen etkiler üzerinde gözlenen farklılıklar çeşitli innervasyonlarda bulunan  $\text{Na}^+$  kanalları arasındaki yapısal değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar izole penis retraktör kasında TsTx-I ve TsTx-V ile yapılan deney sonuçlarıyla da uyumluluk göstermektedir (Bomfim ve ark., 2005).

Üretan anestezili sıçanlarda, *Lqg* venomu ilk olarak hipotansiyon ve bradikardiye neden olur. Bunu iletim bozuklukları, iskemi, enfarktüs belirtileri ile görülen hipertansiyon, pulmoner ödem, elektrokardiyografik değişiklikler ve arkasından hipotansiyon ve ölüm izler. Bir  $\text{Na}^+$  kanal blokeri olan lignokainin, venomun meydana getirdiği etkilerin çoğunu anlamlı şekilde azalttığı ve mortaliteyi düşürdüğü bulunmuştur. *Lqg* venomunun nörotransmitter salınımına yol açtığı ve lignokain tedavisi ile bu durumun düzeltilebileceği gösterilmiştir (Fatani ve ark., 2000).

Akrep zehirlenmesinin genel belirtilerinden biri priyapizm olayıdır ve özellikle Buthidae ailesindeki akreplerden *Buthus* ve *Leiurus* cinsleriyle meydana gelen kazalarda rastlanmaktadır (Bawaskar, 1982; Amitai ve ark., 1985; Hershkovich ve ark., 1985).

İzole sıçan *anococcygeus* kasında *L. quinquestriatus* akrep venomuyla periferik nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) sinirlerinin sürekli aktivasyonu nitrik oksit (NO) salınımını başlatır (Gwee ve ark., 1995). *T. serrulatus* akrep venomunun (TSV) tavşan korpus kavernosumunu (RbCC) nitreerjik NANK sinir uçlarından NO'nun salınımı sayesinde gevşettiği gösterilmiştir (Teixeira ve ark., 1998). NO'nun NANK inhibitörü sinir liflerinden salınımının penis ereksiyonuyla ilgili nöral mekanizmalarda başlıca rol oynadığı gösterilmiştir (Ignarro ve ark., 1990; Kim ve ark., 1991; Teixeira ve ark., 2001).

Buthidae familyasından iki akrep *Androctonus australis* (AAV) ve *Buthotus judaicus* (BJV) venomlarının izole sıçan korpus kavernosum düz kası üzerindeki etkilerini incelemek için yapılan bir çalışmada akrep venomuyla oluşturulan kavernosal gevşemelere aracılık eden NO'nun rolü araştırılmıştır. Nitrik oksit (NO) sentaz inhibitörü  $\text{N}^0$ -nitro-L-arginin metil ester (L-NAME), önemli ölçüde ACh, AAV ve BJV'nin neden olduğu RbCC gevşemelerini inhibe etmiştir. L-arginin'in infüzyonu gevşemeleri kısmen yenilemektedir. Beyin NO sentaz inhibitörü 7-nitroindazol de akrep venomlarının meydana getirdiği gevşetici yanıtları inhibe etmiştir. Guanilil siklaz inhibitörleri metilen mavisi (MB) ve 1H-[1,2,4] oxadiazolo [4,3,-alquinozalin-1-one] (ODQ) AAV ve BJV'nin neden olduğu gevşemelerin çoğunu gidermiştir. Skopolamin ve atropin gibi muskarinik

reseptör antagonistleri, ACh'ın yol açtığı gevşemeleri tamamen gidermiştir. Fakat akrep venomları ile uyarılmış olanlar üzerinde hiç etki yoktur. Na<sup>+</sup> kanal blokeri TTX, AAV ve BJV ile oluşturulan gevşemeleri önlemektedir. Böylece nitretrjik sinir liflerinden NO salınması tavşan korpus kavernoöz dokusunda AAV ve BJV ile sağlanan gevşemelere aracılık etmektedir (Teixeira ve ark., 2001).

TSV sıçan ve insan kavernosol düz kasında nitretrjik sinirlerden NO salınımına bağlı bir mekanizma yoluyla *in vitro* gevşemeye neden olmaktadır. TSV'de bulunan Ts3 toksini sıçanlarda NO'ya bağlı korpus kavernosum gevşemelerine neden olduğu için insanlarda akrep zehirlenmelerinde priyapizme aracılık ettiği düşünülmüştür. HCC kullanılarak yapılan *in vitro* deneylerde Ts3'ün nitretrjik sinirlerden NO salınımı ile HCC'yi gevşettiği gösterilmiştir. Bu mekanizmanın aydınlatılmasının akrep zehirlenmesinden sonra gelişen priyapizmi tedavi etmek için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinde olumlu bir gelişme olduğu düşünülmektedir (Teixeira ve ark., 2004).

### ***Akrep venom ve toksinlerinin terapötik özellikleri***

Akrep venomunda bulunan toksinlerin Alzheimer hastalığında etkili olabileceğine ilişkin veriler bulunmaktadır (Maruo ve ark., 2002). Ayrıca klorotoksin, akrep venomu bileşenlerinden türetilmiş ve Cl<sup>-</sup> kanallarını bloke ederek etkili olan antitümör etkili bir ajandır ve gliomalarda terapötik değere sahiptir. (Lewis ve Garcia, 2003).

Deneysel çalışmalarda por oluşturan peptitlerin *in vivo* antibakteriyel ve antifungal etkinlik sergileyebildiği, etkilerine karşı direnç gelişmediği görülmüştür. Sayılan özellikleri ile akrep venomundan izole edilen ajanların, klinikte büyük problem yaratan dirençli hastane enfeksiyonları ile mücadelede değerli seçenekler olabileceği ifade edilmiştir (Moerman ve ark., 2002).

*Buthus occitanus* akrebinin venomundan izole edilen peptit fraksiyonunun bradikinin aktifleştirici aktiviteye (BPP) sahip olduğu kanıtlanmıştır. *In vivo* ve *in vitro* çalışmaların sonuçları BPP'nin prostaglandin sentezine yol açtığını göstermiştir. Bu sayede kobaylarda glomerüler filtrasyon artışını harekete geçirebileceği düşünülmektedir (El-Saadani, 2004).

Akrep zehirlenmesi olan bir köpek modelinde endotelin-1 (ET-1) ve nöropeptit Y'nin (NPY) dahil olduğu peptitlerin salınımı rapor edilmiştir (Abroug ve ark., 2003). Plazma katekolaminleri, NPY, ET-1 ve atrial natriüretik peptit'in (ANP) salınım profili üzerinde akrep venomunun etkilerinin incelenmesi ve serum toksin seviyeleri ya da hümorale değişimler ve hemodinamik parametreler arasındaki bağıntının belirlenmesi için yapılan çalışmalar, akrep zehirlenmesi ile oluşan hemodinamik rahatsızlıkların patojenezinde katekolaminlerin önemli role sahip olduğunu göstermektedir (Nouira ve ark., 2005).

BmK akrep venomundan elde edilen 'akrep venomunda bulunan aktif peptit'in (SVAP) tavşanlarda ve sıçanlarda uygulanması, teorik ve deneysel dayanakların bulunması ile kardiyoserebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilebilmesi için trombosit agregasyonu, tromboz meydana gelmesi ve TXB<sub>2</sub>'nin (TX<sub>2</sub> ve PG I<sub>2</sub>'nin başlıca kararlı metabolitleri) 6-keto-PG F<sub>1α</sub> üzerindeki etkileri

araştırılmıştır. SVAP ve adenzindifosfat (ADP) ile oluşturulan trombosit agregasyonunu *ex vivo* ve *in vitro* inhibe ettiği ve PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> oranında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Kardiyoserebrovasküler hastalıkların rasyonel tedavisi için SVAP'ın antitromboz mekanizmasının açıklanmasına yardımcı olacak bilgiler sağlanmıştır (Song ve ark., 2005).

Akrep venomunda bulunan bir bileşik olan kalitoksin, ileri periodontal hastalığıdaki kemik kaybını anlamlı bir şekilde inhibe etmektedir. Kalitoksinin enflamasyon ile ilgili olduğu bilinen bir K<sup>+</sup> kanalı Kv1.3 proteininin bloke edilmesi ile enflamatuvar kemik yıkımını değiştirdiği ileri sürülmüştür. Kalitoksinin memory-aktivated T hücrelerinin yüzeyinde ifade edilen ve periodontal hastalıkta yüksek seviyelerde bulunan bir protein olan RANKL ifadesini azalttığı belirtilmiştir. RANKL osteoklastların kemik yıkımına neden olmasında önemli role sahiptir. Bu nedenle kalitoksin ve Kv1.3'ü hedefleyen diğer K<sup>+</sup> kanal blokerlerinin kemik yıkımını azaltabileceği düşünülmektedir. Sonuçta toksik etki gözlenmemiştir (Valverde ve ark., 2005).

### ***Androctonus crassicauda* Venomu İle Yapılan Çalışmalar**

Dünyadaki tüm akrep türleri arasında en toksik venoma sahip türler arasında yer alan *Androctonus crassicauda* akrebi ülkemizde akrep zehirlenmelerine ve ölümlerine en fazla neden olan türdür ve Türkiye, İran, Irak, Suriye, İsrail, Mısır, Sudan, Ürdün, Fas ve Suudi Arabistan'da çok fazla bulunmaktadır (İsmail ve ark., 1994; Ozkan ve ark., 2006c; Ozkan ve Filazi, 2004).

Şanlıurfa'da klinikte medikal tedavi yapılan hastalar arasında 598 akrep sokma vakası incelenmiştir. Tüm vakaların 50.8%'inin *Androctonus crassicauda* akrebi ile sokulan hastalar olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzde Suudi Arabistan'da 70% (Dittrich, 1995) ve İran'da 41%'dir (Radmanesh, 1990).

*Androctonus* cinsine ait türlerin venomları çok toksiktir (Ozkan ve Filazi, 2004). Öldürücülük testlerine göre, aynı türler için çeşitli LD<sub>50</sub> değerleri elde edilmiş ve bunun nedeninin akrep türü ile ilişkili lokal ya da sistemik etkiler, beslenme durumu, venomun yapısı ve miktarı, telsonun yapısı, sokma sayısı, hastanın duyarlılığı, yaş, ağırlık ve bölgenin iklimi gibi nedenlerden kaynaklandığı belirtilmiştir (Ozkan ve Filazi, 2004; Ozkan ve ark., 2006b).

*Androctonus crassicauda* türü akreplerden değişik şekillerde (maserasyon ve elektrik uyarımı) elde edilen venomların farelerde deri altı LD<sub>50</sub> düzeylerinin 0.08 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.40 mg.kg<sup>-1</sup> ve 0.50 mg.kg<sup>-1</sup> olduğu ve maserasyonla elde edilen liyofilize venomun ise farelerdeki i.p. LD<sub>50</sub> düzeyinin 11.5 mg.kg<sup>-1</sup> olduğu bildirilmiştir (Ozkan ve Filazi, 2004).

*Androctonus crassicauda* türünden elde edilen venomun, antivenom üretiminde antijen olarak kullanıldığı ve bunun da diğer akrep türlerinin sokmalarına karşı güvenle uygulanabileceği bildirilmiştir (Tulga, 1964).



### *Androctonus crassicauda* akrep venomunun bileşenleri

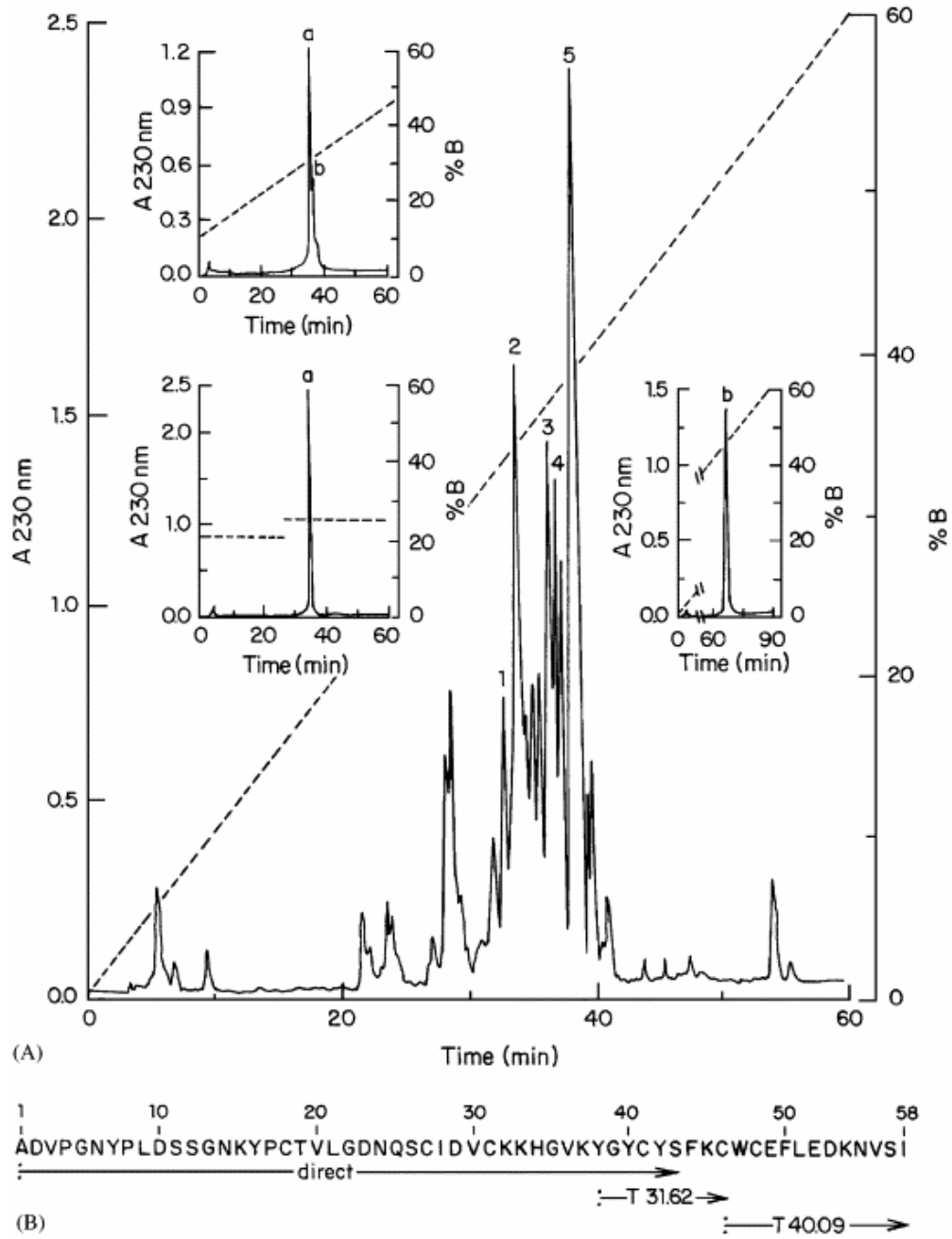
Akrep venomlarındaki peptitlerin ve genlerin izolasyonu ve karakterizasyonu ile ilgili son yirmi yıldır önemli bilgiler elde edilmiştir. En derinlemesine çalışılan venom bileşenleri Na<sup>+</sup> kanalları için spesifik uzun dizili toksinler ve başlıca K<sup>+</sup> kanallarını tanıyan kısa dizili toksinlerdir (Rodríguez de la vega ve Possani 2004, Possani, 2005).

*Androctonus crassicauda* venomunun yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile ayrılması ve ardından toplanan alt fraksiyonlarda bulunan bileşenlerin mass finger print analizi rapor edilmiştir. *Androctonus crassicauda* toksin 1'in (Acra 1) tüm aminoasit dizisi dahil olmak üzere beş ayrı peptidin izolasyonu ortaya çıkarılmıştır. Fare ve böcekler kullanılarak toksik bileşenlerin varlığını kontrol etmek için öldürücülük testleri yapılmıştır. Toksik peptitleri kodlayan çeşitli genler akrebin venom salgı bezlerinden hazırlanan cDNA kütüphanesinden sağlanmıştır. Moleküller arası disülfid köprüleri ile heterodimerleri şekillendirebilen yeni bir akrep venom peptit sınıfının varlığı saptanmıştır (Caliskan ve ark., 2006).

*Androctonus crassicauda* venomunun HPLC ile ayrılması ile en az 44 farklı fraksiyon görülmektedir ve yaklaşık 30 tanesi net olarak ayrılmıştır. En belirgin beş fraksiyon biyoassay ve dizi oluşturmak için seçilmiştir (**Şekil4A**). 2 ve 3 nolu fraksiyonlar fareler için sırasıyla toksik ve öldürücüdür. Diğer fraksiyonlar fareler için test edilen dozlarda toksik değildir. 2 nolu fraksiyon böcekler için toksiktir. Bu fraksiyon ayrıca a ve b alt bileşenlerine ayrılmaktadır. Peptitler aminoasit dizisi ve kütle spektrometresi ile ayrıldığı için homojendir (Caliskan ve ark., 2006).

*Androctonus crassicauda* venomunda en az 80 farklı bileşen bulunduğu gösterilmiştir. Çok küçük miktardaki bileşenler tanımlanamamıştır. Tanımlanan bileşenler arasında en az ikisi glikozillenmiştir (Caliskan ve ark., 2006).

Bileşenlerin moleküler ağırlığı akrep fosfolipaz enzimi için rapor edilene çok yakın olduğu için bu bileşenlerin enzimatik etkinlikleri test edilmiştir. Hiçbiri fosfolipaz aktivitesi göstermemiştir. Aynı şekilde çözünebilir venomda da fosfolipaz aktivitesi bulunamamıştır. Yüksek moleküler ağırlıkta proteinlerin olması nedeni ile hiyaluronidaz aktivitesine karşı test edilmiş ve ham venomun hiyaluronidaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Caliskan ve ark., 2006).



Şekil 3. *Androctonus crassicauda* Venomunun HPLC Kromatogramı (Caliskan Ve Ark., 2006)

### ***Androctonus crassicauda* zehirlenmesi sonucu ortaya çıkan semptomlar ve venomu ile yapılan klinik çalışmalar**

*Androctonus crassicauda* akrep venomu ile yapılan bir çalışmada 23 akrep sokma vakası incelenmiş ancak zehirlenme etkisi yanlış ifade edilmiştir. Venomun ACh reseptörünü uyarmadaki spesifik etkisi vücudun her tarafında olduğu ve vücutta ACh yoğunluğunu doğrudan artırdığı belirtilmiştir (Radmanesh, 1990).

*Androctonus crassicauda* akrep sokması ile sokulan bölgede ağrı ve duyarlılık oluşması, tüm sokulan bireylerde görülen genel semptomlardır. *Androctonus crassicauda* venomunun farmakolojik etkilerini incelemek için yapılan bir çalışmada Bebeklerin ve 5 yaşın altındaki çocukların % 20–25’inde diğer akrep sokmalarında oldukça nadir olarak görülen bir semptom olan eritem görülmüştür. (İsmail ve ark., 1994).

Bebeklerde ve küçük çocuklarda diğer akrep türlerinde olduğu gibi felç, bilinç kaybı ve belirgin irritabilite gibi ciddi SSS etkileri meydana gelmektedir. Nörolojik belirtiler büyük çocuklarda ve yetişkinlerde daha ılımlıdır. Akrep venomunun kan–beyin bariyerini çok az geçebildiği rapor edilmiş ancak bebeklerde ve küçük çocuklarda geçebileceği görülmüştür (İsmail ve ark., 1994).

Bebeklerin ve 11 yaşın altındaki çocukların çoğunluğunda hipertansiyon meydana gelmesi akrep zehirlenmesinin bu yaş grubunda neden daha tehlikeli olduğunu açıklamaktadır (İsmail ve ark., 1994).

Akrep venomu ile meydana gelen hipertansif etki için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Varsayımlar başlıca venomun doku ve meduller katekolaminlerin çok fazla salınımına neden olan etkisi ve plazma renin etkinliği ile ilişkilidir. Bu ilişkide, venomun etkisinde iki olasılık bulunmaktadır. İlk olarak, venomla üretilen impulsların ayrılması ve toplanması ile afferent yolak üzerinde SSS üzerinde abartılı bir etkiye yol açarak rol oynayabilir. İkinci olarak venom farmakolojik faktörlerin salınımına neden olmanın yanında aktif yapılarda daha fazla salınımı kolaylaştırabilir. Venom  $Na^+$  kanallarının aktivasyonunu geciktirerek ve  $Ca^{2+}$  ile aktive edilen  $K^+$  kanallarını bloke ederek aksiyon potansiyelinin süresini uzatabilir ve böylelikle duysal sinirler boyunca afferent salınımının hızını SSS’ de nörotransmitter salınımına ve otonomik ve somatik etki refleksinin artmasıyla yükseltir (İsmail ve ark., 1994).

*Androctonus crassicauda* venomunun kardiyovasküler etkilerine sempatik uyarılmanın baskın olması ve dokudan katekolaminlerin salınması ile otonom sinir sisteminin her iki bölümünün uyarılmasının aracılık ettiği gösterilmiştir (İsmail ve ark., 1994).

*Androctonus crassicauda* venomu diğer akrep venomlarından daha güçlü kolinerjik etkiler göstermektedir. Venomun baskın bir şekilde sempatik sinir sistemini uyarması, akreple sokulan genç bireylerin çoğunda oluşan taşikardi ile hipertansiyondan ve izole kalp ve atrium deneylerinden, kardiyak preparatların hızında ve gücünde artış olan anestezi edilmiş sıçan kan basıncı ve baskın hipertansif etkiler gösterilmesinden anlaşılmaktadır. Adrenerjik reseptörlerin

uygun blokerler ile bloke edilmesinden sonra venomun hiçbir anlamlı kolinerjik etkisi ortaya çıkmamıştır (İsmail ve ark., 1994).

Propranolol ile ön tedavili izole atriumda ve rezerpin ön tedavili hayvanlardan alınan izole atriumda, *Androctonus crassicauda* venomu sadece atropinle bloke edilen parçada oluşan diastolde atrial durmaya (arrest) neden olur fakat  $Ca^{2+}$  ile nicel olarak antagonize edilebilir. Akrep venomu voltaj duyarlı  $Na^+$  kanallarının açılmasıyla  $Na^+$ 'a karşı membran geçirgenliğini artırır. Bu  $Ca^{2+}$  ile aktive edilen  $K^+$  kanallarının blokajı ile ilgilidir. Transmembran  $K^+$  gradiyentinin bozulduğu yerde hiperkalemi ve böylece diastolde atrial arrest meydana gelir. Banyo sıvısına  $Ca^{2+}$  eklenmesi ile atrial kasılmalar normale döner. Kardiyak dokuda  $Ca^{2+}$  ve  $K^+$  antagonizması klasik fizyolojide belirtilmektedir. Kurbağa aksonları izole Ranvier düğümlerinde, voltaj klemp deneyleri kullanarak akrep venomu yüzünden tamamlanmamış  $Na^+$  inaktivasyonu  $Ca^{2+}$  eklenmesi ile kısmen düzeltilen  $K^+$  geçirgenliğini azaltmıştır (İsmail ve ark., 1994).

Elektrokardiyografik çalışmalarda venomla oluşturulan hipotansiyon başlangıç evresi boyunca taşikardi gözlenir. Hipertansif evre sonrasında bradikardi gözlenmesinin karotid ve aortik refleksler ile ilgili olduğu düşünülmüştür (İsmail ve ark., 1994).

Akrep venomlarının vasküler düz kas üzerindeki kontraktıl etkileri için sıçan kuyruk arterinde *Tityus* toksini ile endojen katekolaminlerin salınımı ve tavşan kan damarlarında *L. quinquestratus* venomu ile  $K^+$  kanallarının inaktivasyonu (Strong ve ark., 1989) gibi farklı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Nonvasküler düz kasta *Tityus* toksini kastırıcı ve gevşetici yanıtla neden olmaktadır. Kastırıcı etkiye kolinerjik uyarım ve P maddesinin, gevşetici yanıtla ise adrenerjik uyarımın neden olduğu rapor edilmiştir (Ay ve ark., 1996). *Androctonus crassicauda* venomunun tavşan torasik aortası üzerindeki etkileri, bu etkilerin temelini oluşturan mekanizmalar ve venomla oluşturulan değişikliklere entotelin katkısı araştırılmıştır (Ay ve ark., 1996).

*Androctonus crassicauda* akrep venomunun Phe ile önceden kastırılmış segmentlere uygulandığında kendi başına herhangi bir gevşetici etkiye neden olmadığı ancak ACh ile oluşturulan gevşemeleri anlamlı bir şekilde artırdığı gösterilmiştir. Post–reseptör (reseptör sonrası) olaylar engellenememiş de olsa bu bulgu venomla oluşturulan potansiyalizasyonun, kolinerjik uyarımın varlığı ile birbirine bağlı olduğunu ve gevşetici bir maddenin salınımından kaynaklandığı düşünülmüştür (Ay ve ark., 1996).

Vasküler düz kastaki ACh ile oluşturulan gevşeme ile ilgili muskarinik reseptörlerin çoğunlukla  $M_3$  tipi olduğu rapor edilmiştir (Bruning ve ark., 1994). Bu reseptörlerin venomun etkisi ile duyarlı hale getirilmiş olabileceği düşünülmüştür. Dinlenme durumundaki aortik segmentlerde yoğunluğa bağlı bir biçimde venom ACh ile oluşturulan kasılma yanıtını artırmaktadır. Bu potansiyalizasyon siklooksijenaz ürününün katkısını göstererek indometazin ile inhibe edilmiştir. Tromboksan sentaz ve tromboksan reseptör inhibitörleri venomla oluşan potansiyelizasyonu antagonize etmişlerdir ve bu ürünün  $TXA_2$  olduğu ileri sürülmüştür. Böylece venom kastırıcı maddenin salınmasına yol açar

ve ACh ile oluşturulan gevşemeleri yüksek dozlarda keser. Bu maddenin kaynağı non-endoel dokulardır. Çünkü ACh ile oluşturulan kastırıcı yanıtlar endotelsiz preparatlarda artmıştır. Potansiyelizasyon endotelsiz segmentlerde endotelli olanlar ile kıyaslandığı zaman daha fazladır. Bu farklılık endotelin olmaması ve böylece ACh'in EDRF salınımına katkısı ile açıklanabilir (Ay ve ark., 1996).

Yapılan deneylerde L.NNA varlığında, aortik segmentlerde endotelsizmiş gibi etki görülmektedir. L.NNA varlığında ve yokluğunda ACh doz-yanıt eğrileri farklıdır. Bu durumun L.NNA'nın endotel bağımsız kastırıcı etkisinden açıklanabileceği düşünölmüştür (Wang ve Pang, 1994). Gerçekten, L.NNA varlığında endotelsiz preparatlarda ACh için doz-yanıt eğrisi endotelli olanlar ile benzer olarak elde edilmiştir (Ay ve ark., 1996). *Androctonus crassicauda* venomu, tek başına 30 µg/mL uygulandığında kastırıcı yanıt meydana getirmektedir. İndometazin venomun oluşturduğu kasılmaları değiştirmemiştir dolayısıyla prostanoidlerin bu etkide rol oynamaları mümkün değildir. Atropin bu kastırıcı etkiyi bloke etmede etkisizdir. Böylece muskarinik reseptör yanıtlarındaki hiçbir değişikliğin bu etki ile ilgili olamayacağı gösterilmiştir. Bu kontraktıl yanıt düz kas üzerinde adrenerjik sinir uçlarından nörotransmitter salınımıyla dolaylı bir venom etkisi göstererek fentolamin ve guanetidini ile yok edilmiştir (Ay ve ark., 1996). Sonuçta, *Androctonus crassicauda* venomuyla tavşan torasik aortasında üç farklı etki gözlenmiştir. Bu etkiler; adrenerjik uyarıyla ilgili kastırıcı etki, kastırıcı bir prostanoid salınımıyla ilişkili ACh ile oluşturulan kasılmaların potansiyelizasyonu ve ACh ile oluşturulan gevşemelerin çoğaltılmasıdır. Bu farklı etkilerin ham venomda bulunan toksinlerin farklı tipleri yüzünden olabileceği düşünölmüştür (Ay ve ark., 1996).

Zehirlenmesi ile katekolaminlerin çok fazla salınmasına neden olan *Androctonus crassicauda* venomu ile yapılan bir çalışmada venomun nöromüsküler iletim üzerinde bazı etkiler meydana getirdiği görölmüştür. *Androctonus crassicauda* venomunun nöromüsküler kavşakta ACh salınımını artırdığı, postsinaptik etkinlikte bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir. *Androctonus crassicauda* yüksek dozlarda dinlenme geriliminde (resting tension) doğrudan uyarılan ya da uyarılmayan tavuk biventer servikal preparatlarında zamana bağlı çok büyük artış meydana getirmektedir. Bu kasılmalar tübokürarin ile ortadan kalktığı için *Androctonus crassicauda*'nın ACh salınımına yol açarak bu etkiyi meydana getirdiği düşünölmüştür. Bu etkiden sorumlu olan toksinler belirlenmemiştir (Vatanpour, 2003).

Kardiyovasküler etkiler kolinerjik sistemin otonomik hiperstimölasyonundan sonra kanda dolaşan çok fazla katekolaminin doğrudan etkileri yüzünden meydana geldiği gösterilmiştir. Otonom sinir sisteminin sempatik bölümü genellikle daha baskındır (Altan, M., 1979; Ay ve ark., 1996; Gwee ve ark., 2002). Ancak akrep venom toksinlerinin neden olduğu ilk parasempatik etkiler ACh blokajı olduğu zaman ACh'in muskarinik etkilerini azaltan atropine yanıt verebilir. Böylece hayvan modellerinde atropin kullanılması desteklenmektedir (Altan, M., 1979).

*Androctonus crassicauda* venomu vücuttaki ACh reseptörlerini özel olarak uyardığı için nörotoksik bir venom olarak dikkate alınmaktadır. Diğer akrep

türleri gibi ACh yoğunluğunu doğrudan artırmaktadır. Adrenerjik belirtiler, ağrı ve ACh reseptörlerini uyarmak için eşik değere erişemediğinden venomun düşük dozlarında klinik semptomların görülmediği belirtilmiştir. Diğer taraftan kolinerjik belirtiler venomun yalnız yüksek dozlarında ortaya çıkmaktadır (Ozkan ve Filazi, 2004; Ozkan ve ark., 2007). Semptomların çoğu adrenal bezlerden katekolaminlerin salınımı ya da postganglionik parasempatik nöronlardan ACh salınımı yüzünden gerçekleşmektedir (Altan, M., 1979; Ay ve ark., 1996; Dittrich, 1998; Ozkan ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada *Androctonus crassicauda* venomunun verilmesinden 12 saat sonra AChE aktivitesinde kontrole kıyasla anlamlı bir düşüş olduğu kaydedilmiştir. Venom dozunun ACh reseptörlerinin uyarılması için gerekli olan miktardan daha düşük doz kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Ozkan ve ark., 2007).

Hayvan örneklerinde toksin atılması başlıca böbrek yoluyla olur. Venomun farelere enjekte edilmesinden sonra en yüksek toksin yoğunluğu böbrek, kalp ve akciğerlerde bulunmuştur (Ozkan ve ark., 2007). Akrep sokmalarından sonra akut renal yetmezlik vakaları rapor edilmiştir (Possani ve ark., 1999a). Akrep zehirlenmesinden sonra ortaya çıkan kardiyak etkilerin elektrolit bozukluklarında etkili olduğu düşünülmektedir (Radmanesh, 1990).

Akrep zehirlenmesi süresince serum değişimindeki elektrolit seviyelerini gösteren birçok çalışma rapor edilmiştir (Deshpande ve Alex, 2000; Gwee ve ark., 2002; Ismail ve ark., 1994; Radmanesh, 1990). *Androctonus crassicauda* venom enjeksiyonu sonrası benzer şekilde sıçanlarda hiponatremi ve hipokloremi gözlenmiştir (Ismail, 1995; Ismail ve ark., 1994).

*Androctonus crassicauda* venomu ile zehirlenmede meydana gelen elektrolit seviyelerindeki farklılıkların, başlıca böbrek yoluyla gerçekleşen toksin atılması nedeniyle akut renal yetmezlik yüzünden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Ozkan ve ark., 2007). Sıçanlar hiponatremi, hipokloremi ve bağıl hiperkalemi geliştirmişlerdir (Ozkan ve ark., 2007; Deshpande ve Alex, 2000).  $Na^+$  ve  $K^+$  seviyeleri arasında negatif bir ilişki gözlenmesine karşın  $Na^+$  ve  $Cl^-$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak pozitif bir ilişki bulunmaktadır. *Androctonus crassicauda* venomu ACh etkinliğini inhibe etmekten çok elektrolit dengesini, özellikle serumdaki  $Na^+$  ve  $Cl^-$  seviyelerini değiştirerek toksisite göstermektedir. Ölçülen parametrelerdeki tüm değişikliklerin toksin böbrekler yoluyla atıldığı için akut renal yetmezlikten kaynaklandığı düşünülmüştür (Ozkan ve ark., 2007).

Akrep venomunun insanlarda oluşturduğu parasempatik etkiler bazen daha baskın olmaktadır ve venomun dozu ile ilişkilidir. Sempatik etki düşük dozlarda parasempatik etki ise yüksek dozlarda görülmekte ve klinik etkiler düşük dozlarda ACh reseptörlerinin uyarılamaması yüzünden çoğunlukla ağrı ile tanımlanmaktadır (Possani ve ark., 1999a; Radmanesh, 1990).

299 tane *Androctonus crassicauda* toksisite vakası incelenmiş ve hastaların gösterdiği lokal ve sistemik klinik etkiler **Çizelge 3'** de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. *Androctonus crassicauda* Akrep Sokması Sonucu Görülen Klinik Semptomlar (Ozkan ve ark., 2006a)**

Klinik Semptomlar	Hasta Sayısı (n=299)	%
<b>Lokal Semptomlar</b>		
Ağrı	291	97.3
Hiperemi	257	86
Şişme	199	66.6
Yanma	24	8.0
Uyuşma	2	0.7
Kaşıntı	2	0.7
<b>Sistemik Semptomlar</b>		
Ağız kuruluğu	34	11.4
Susuzluk	34	11.4
Terleme	25	8.4
Bulantı	23	7.7
Dispne	7	2.3
Kusma	6	2.0
Lakrimasyon	4	1.3
Huzursuzluk	4	1.3
Siyanoz	1	0.3
Spazm	1	0.3
Sekresyon artışı	1	0.3
Hipertansiyon (n=145)	6	4.1
Hipotansiyon (n=124)	11	8.9
Taşikardi	4	2.5

Parasempatik (susuzluk, ağız kuruluğu, solunum güçlüğü, bulantı, kusma, lakrimasyon, bronşial salgının artması ve hipotansiyon) ile birlikte lokal etkiler şiddetli ağrı, hiperemi ve ödem toksisite vakalarında baskın olarak görülmüştür (Ozkan ve ark., 2006).

### ***Mesobuthus gibbosus* Akrep Venomu İle Yapılan Çalışmalar**

*Mesobuthus gibbosus*, Orta Doğu, Anadolu, Yunanistan, Kıbrıs, Ege Adaları ve bazı Balkan Ülkeleri'nde dağılım gösteren bir akreptir (Ucar ve ark., 2005). *Mesobuthus gibbosus*, Türkiye'nin Karadeniz kıyı kesimleri hariç olmak üzere Anadolu'nun her yerinde dağılım gösteren ve Türkiye'de en bol bulunan akrep türüdür (Ucar ve ark., 2005; Fet, 2000). Köy, kasaba ve şehirlerde evlerde bile kolayca bulunması ve özellikle çocuklar arasında ölümcül sokmalara neden olması yüzünden bazı epidemiyolojik problemler ortaya çıkarmaktadır. Minimal Öldürücü Dozu (MLD<sub>50</sub>) farelerde 50 mg.kg<sup>-1</sup> olarak rapor edilmiştir (Ucar ve ark., 2005).

İzmir ve civarından toplanan *Mesobuthus gibbosus* türüne ait akreplerin sıçan ve farelerdeki derialtı LD<sub>50</sub>'si 10 mg.kg<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur (Ozkan ve Filazi, 2004).

Akrep toksinleri benzer diziler fakat farklı bağlanma özellikleri ile toksin-hedef etkileşimlerinin yapısal yönlerinin araştırılmasında güçlü araçlar olarak kullanılmaktadır (Pimenta ve ark., 2001; Chung ve ark., 2001; Willems ve ark., 2002; Valerio ve ark., 2002). Akrep venomlarının bazı nörotoksik etkilerini gösteren bilgiler (Nirthanan ve ark., 2002; Corona ve ark., 2003) bazı nörolojik aminlerin varlığı hakkındaki bulgular ve akrep sokmasından sonra bazı klinik semptomlar ile uyumlu anksiyojenik etkinlikler (Bhattacharya, 1995; Al-Saleh ve ark., 2002) nedeniyle *Mesobuthus gibbosus*'un farmakolojik olarak aktif peptitlerinin MAO inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır (Uçar ve ark., 2005).

Akrep venom peptitlerinin anlamlı bir şekilde anksiyojenik etkinliğe sahip oldukları gösterilmiştir (Bhattacharya, 1995). *Mesobuthus gibbosus* ham venomu ve bazı kromatografik fraksiyonları sıçan karaciğerinin tüm MAO aktivitesini inhibe etmiştir. Fraksiyonların sıçan karaciğerinin MAO-A'nın spesifik inhibitörleri olduğu ve sıçan karaciğeri ya da insan trombositlerinin MAO-B'leri üzerinde etkinliğe sahip olmadıkları belirtilmiştir. Ham venom ve fraksiyonlar MAO-A aktivitesini yoğunluğa bağlı bir biçimde inhibe etmektedirler.

*Mesobuthus gibbosus* venomunun nörotoksik peptidi enzimin substrat bağlanma bölgesinden başka bir bölgesine bağlanmaktadır. Substrat ve venom peptidi tersinir biçimde, rasgele ve bağımsız bir şekilde farklı bir bölgede bağlanmaktadır.

MAO-A inhibitör aktiviteli *Mesobuthus gibbosus* venomundaki nörotoksik peptit hayvanlarda ve insanlarda venomun bazı nörotoksik ve anksiyojenik etkilerinden sorumlu olabilir. Bu peptit ve özellikle beyin homojenatlarından izole edilen MAO izoformlarının bağlanma bölgeleri arasındaki etkileşim tipi hakkında daha çok bilgi elde edilmesi ve inhibitör peptitin moleküler yapısının belirlenmesi ile ilgili çalışmalar inhibisyon mekanizmasının açıklanmasını sağlayacaktır (Uçar ve ark., 2005).



## GEREÇLER

### Deney Hayvanları

Çalışmalarda aynı yaşta 200–250 g ağırlığında erkek Wistar sıçanlar (200–300 gr) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan hayvanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde,  $24 \pm 1$  °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda bulundurulmuş ve standart hayvan yemi ile beslenmişlerdir. Deneyler süresince hayvanlara su ya da yem kısıtlaması uygulanmamıştır.

### Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler

#### *Kullanılan kimyasal maddeler*

CaCl <sub>2</sub>	(Merck, Darmstadt, Almanya)
KCl	(Merck, Darmstadt, Almanya)
MgCl <sub>2</sub>	(Merck, Darmstadt, Almanya)
NaCl	(Merck, Darmstadt, Almanya)
NaHCO <sub>3</sub>	(Merck, Darmstadt, Almanya)
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Fenilefrin	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Tetraetilamonyum (TEA)	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Dimetilsülfoksit (DMSO)	(Merck, Darmstadt, Almanya)

#### *HPLC’de kullanılan çözeltiler*

Tampon A çözeltisi : % 0.12 derişimli trifloroasetik asitin (TFA) sudaki çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti 1.2 mL TFA’nın (Sigma, St. Louis, MO, ABD) 1000 mL tetra distile su içerisinde çözülmesi ile hazırlanmıştır.

Tampon B Çözeltisi : % 0.10 derişimli TFA’nın asetonitril (Sigma, Aldrich, Almanya) içerisinde çözülmesi ile hazırlanmıştır.

#### *Kullanılan test maddeleri*

*Androctonus crassicauda* liyofilize ham venomu

*Mesobuthus gibbosus* liyofilize ham venomu

*Origanum onites* uçucu yağı (Anadolu Üniversitesi, AÜBİBAM)

*A. crassicauda* venomu HPLC’de 3 No’lu fraksiyonu

*M. gibbosus* venomu HPLC’de 61 No’lu fraksiyonu

### **Kullanılan Cihazlar**

Recorder gemini	(Ugo-Basile, İtalya)
İzotonik transducer	(Ugo-Basile, İtalya)
İzole organ banyosu	(Ugo-Basile, İtalya)
Liyofilizatör	(Leybold-Heraeus Lyovac GT-2, Almanya)
Elektrostimulatör	Maksimum kapasite, 50V, 10Hz
Santrifüj	(Eppendorf 5415 C, Almanya)
HPLC	(Agilent 1100, Almanya)
HPLC Kolonu	VYDAC, Protein&Peptit C 18 Analitic Coloumn
HPLC Kolonu	VYDAC, Protein&Peptit C 18 Microbore Coloumn
HPLC Dedektörü	(DAD Agilent, Almanya)
Hassas Terazi	(Ohaus E 12140, İsviçre)
Enjektörler	(1, 5, 10 ml, Hayat A.Ş., Türkiye)
Mikropipet	(Eppendorf, Almanya)
Kronometre	
Çeşitli cam malzemeler	
Çeşitli cerrahi malzemeler	

## YÖNTEMLER

### İzole Organ Banyosu Deneyleri

Deneylerde kullanılan erkek albino sıçanlar servikal dislokasyon ile ani ve ağrısız şekilde, deney hayvanlarının buldukları odalardan farklı bir ortamda öldürüldükten sonra karın bölgesi açılarak vas deferens izole edilerek Krebs–Henseleit fizyolojik çözeltisi (NaCl, 117.5; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 2.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.18; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1.18; NaHCO<sub>3</sub>, 25.0 ve glukoz, 11.1 mmol) ya da Tyrode çözeltisi (NaCl, 8; KCl, 0.2; NaHCO<sub>3</sub>, 1; CaCl<sub>2</sub>, 0.24; MgCl<sub>2</sub>, 0.01; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 ve glukoz, 1 g/L) içine alınmıştır.

İzole vas deferens çevresindeki yağ ve bağ dokularından temizlendikten sonra, 37 °C’de sabitlenmiş, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 O<sub>2</sub> ile gazlandırılmış izole organ banyosuna aktarılmış ve böylece dokuların oksijenlenmesi sağlanmıştır.

Organlar 20 dakikada bir fizyolojik çözelti ile yıkanarak 1 saat süreyle dinlendirilmiştir ve 0.5 g gerim uygulanmıştır. Daha sonra standart kastürücüler (Phe, KCl ve CaCl<sub>2</sub>) ile kastırılan organın kasılma cevapları ve test maddelerine karşı kasılma cevapları kümülatif olarak alınmış ve cevaplar izotonik transducer aracılığı ile rekorderde kaydedilmiştir. Çalışma süresince her doz–cevap alımından sonra organ fizyolojik çözelti ile yıkanarak en az 20 dakika inkübe edilmiştir.

Test maddeleri olan *O. onites* uçucu yağı (10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> ml), *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* venomlarının ve venomlara ait birer HPLC fraksiyonunun 10<sup>-3</sup> ve 10<sup>-4</sup> mg.mL<sup>-1</sup> dozlarının izole organ banyosunda vas deferens üzerindeki etkileri test edilmiştir.

Test maddelerinin K<sup>+</sup> ile depolarize edilen izole organda CaCl<sub>2</sub> varlığındaki cevapları incelenmiştir (Kenny ve ark., 1990; Spedding, 1982).

Deney çalışmaları süresince tüm deneylerin Helsinki deklarasyonuna uygun şekilde yapılmasına özen gösterilmiştir (http–6).

### İzole vas deferens deneyleri

Erkek sıçanlardan alınan vas deferensin epididimal ve prostatik preparatları 10 mL’lik banyoya, 0.5 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar, izotonik transducer aracılığı ile rekorder tarafından 5 mm/dk kağıt akış hızında kaydedilmiştir.

Organ bir saat süreyle dinlendirildikten sonra fenilefrine karşı doz–cevapları alınmıştır. Daha sonra test maddeleri olan *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* venomlarının ve birer HPLC fraksiyonunun 10<sup>-3</sup> ve 10<sup>-4</sup> mg.mL<sup>-1</sup> dozları varlığında (~5 dakika) fenilefrine karşı kümülatif olarak doz–cevaplar alınmıştır.

Test maddelerinin etkileri kalıcı olduğu için KCl’ye karşı doz cevapları ayrı bir deneyde alınmıştır.

İzole vas deferens üzerinde *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* akrep venomlarının  $Ca^{2+}$  antagonist etkisi olup olmadığını test etmek için  $K^+$  depolarize izole sıçan epididimal vas deferens preparatları kullanılarak  $CaCl_2$  varlığındaki cevaplara bakılmıştır. Venomların  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$   $mg.mL^{-1}$  dozları varlığında  $CaCl_2$ 'ye karşı doz cevaplar alınmıştır. Bu amaçla, organlar 20 dakikada bir Tyrode çözeltisi ile yıkanmak üzere 1 saat dinlendirilmiştir. Organın sağlıklı olduğunun belirlenmesi için Phe doz cevabı alınmıştır. Organ Tyrode solüsyonu ile yıkanıp 20 dakika inkübe edildikten sonra kalsiyumsuz fizyolojik çözelti ile (NaCl, 97; KCl, 40;  $NaHCO_3$ , 11.9;  $NaH_2PO_4$ , 0.4; Glukoz, 5.5 mmol/L) 6 kere düzenli olarak yıkanarak ortamdan  $Ca^{2+}$ 'un tamamen uzaklaştırılması sağlanmış ve 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 ve 30 mmol  $CaCl_2$  çözeltisi ile doz cevabı kaydedilmiştir.

Organ Tyrode solüsyonu ile yıkanarak inkübe edildikten sonra 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik çözelti ile yıkanmış ve organ bu çözeltideyken *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* venomlarının  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$   $mg.mL^{-1}$  dozları ile 5 dakika ayrı ayrı maruz bırakılmış ve  $CaCl_2$  doz cevaplar alınmıştır.

İzole vas deferens üzerinde *A. crassicauda* venomu ile oluşturulan kastırıcı etki üzerinde *O. onites* uçucu yağının  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  dozları arka arkaya verilerek doz cevap alınmıştır. Çözücünün etkisini kontrol etmek için venom ile aynı süre DMSO'ya maruz bırakılan organda *O. onites*'in  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  dozları arka arkaya verilerek doz cevap alınmıştır.

### **Akrep Venomlarının Elde Edilmesi**

Akrep venomları, Osmangazi Üniversitesi Fen–Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Uzman Figen Çalışkan tarafından elde edilmiştir. *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* türüne ait akrepler 5–6 dakika süresince bir miktar  $CO_2$  ile anestezi edilmiştir (D'Suze ve ark., 1999).

Akrep venomlarının elde edilmesinde elektriksel uyarı oluşturarak sağma yöntemi kullanılmıştır (Gopalakrishnakone ve ark., 1995). 10–15 dakika süresince elektrostimülatör ile, 20 volt, 10 Hertzlik elektrik akımı bir pens yardımıyla kuvvetli bir şekilde tutulan akrep kuyruğuna iki elektrot kullanılarak uygulanmıştır (Kozlov ve ark., 1999). İşlem süresince, akrep venomları eppendorf tüplerin içerisinde toplanmıştır. Elde edilen akrep venomu tetra distile su içerisinde çözülmüş ve 15 dakika süresince  $-4$  °C'de 14,000 rpm'de santrifüj edilmiştir (Tytgat ve ark., 1998). Santrifüj sonrasında süpernatant bir pipet yardımıyla alınarak başka bir temiz eppendorf tüpüne aktarılmış ve kurutma işlemi, vakum kurutma kullanılarak yapılmıştır. Örnekler etiketlenerek ihtiyaç duyulan ana kadar  $-20$  °C'de tüplerin ağzı kapalı olarak saklanmıştır (Davila ve ark., 1996; Kozlov ve ark., 1999).

### **Akrep Venomlarının Saflaştırılması**

Venomun saflaştırılması HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham venomun saflaştırılmasında C 18 ters faz analitik kolon kullanılmış ve hareketli fazın akışı 1 dakikada 1 mL olacak biçimde 60 dakika süresince 230 nm'de absorbans alınarak ayırım gerçekleştirilmiştir (Batista ve ark., 2000).

Ayırım sırasında hareketli faz her bir kromatogram için farklı değerlerde gradient ya da izokratik olarak uygulanmıştır. Hareketli faz olarak A ve B ile belirtilen iki farklı çözelti kullanılmıştır. Ayrılan bileşenler manüel olarak eppendorf tüplerin içine toplanmış ve örnekler etiketlenerek ihtiyaç duyulana kadar -20 °C’de tüplerin ağzı kapalı olarak saklanmıştır (Pimenta ve ark., 2001).

Elde edilen peptitlerin yüksek absorbens değerine sahip ana bileşenlerinin alt bileşenlerine ayrılmasında C-18 Microbore ters-faz kolonu kullanılmıştır. Hareketli fazın akış hızı 1 dakikada 0.2 mL olacak şekilde 60 dakika süresince 230 nm’de absorbens alınarak ayırım gerçeleştirildi. Ayırım sırasında hareketli faz ham venomda olduğu gibi farklı değerlerde lineer gradient ve izokratik olarak uygulanmıştır. Ayrılan bileşenler manüel olarak eppendorf tüplerin içine toplanmış ve örnekler etiketlenerek ihtiyaç duyulana kadar -20 °C’de tüplerin ağzı kapalı olarak saklanmıştır (D’Suze ve ark., 1999).

### **İstatistiksel Değerlendirme**

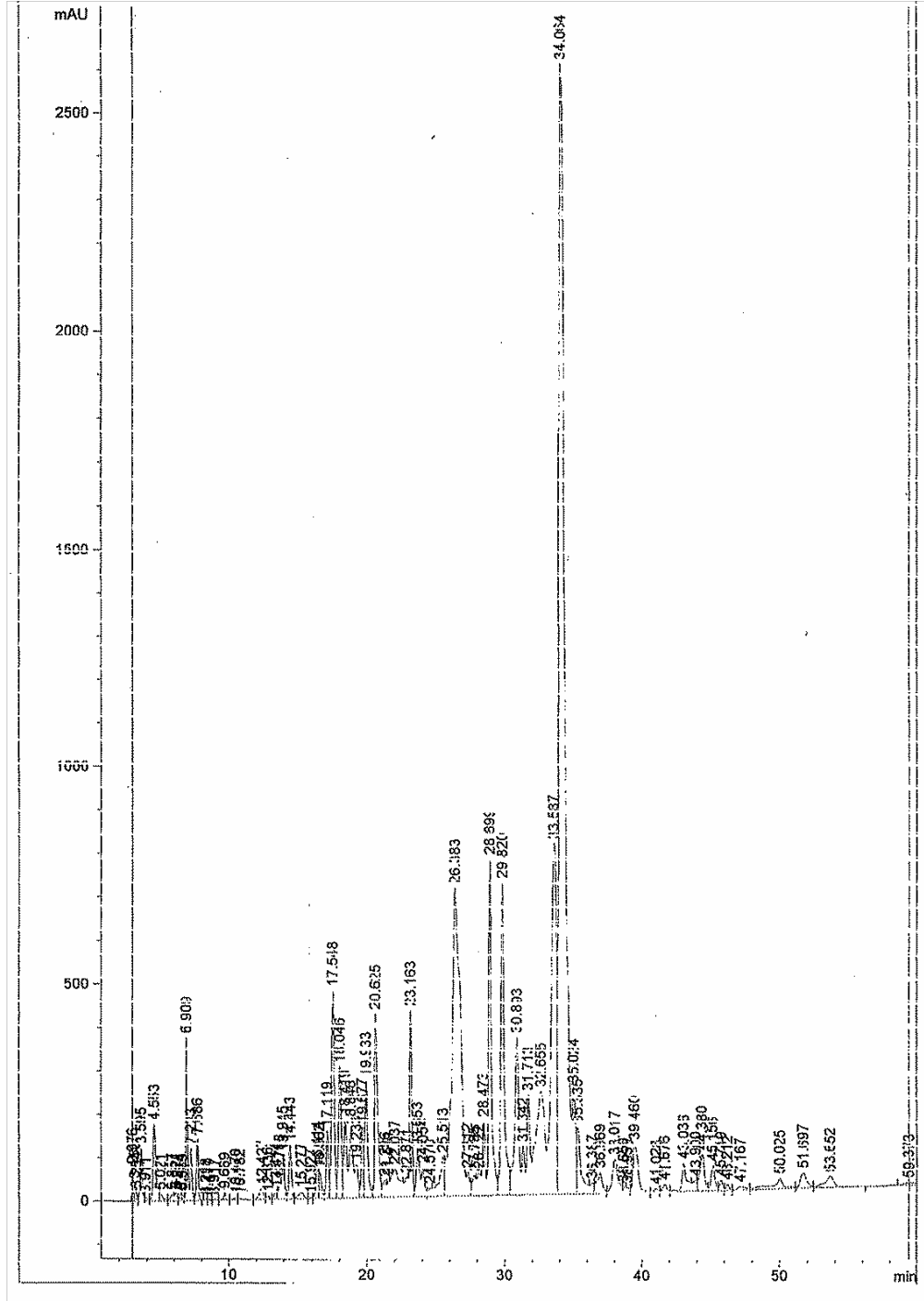
İstatistiksel hesaplamalar için en az yedi hayvandan alınan veriler kullanılmıştır. Deneylerden elde edilen ham veriler, Minitab paket programı kullanılarak Student *t* testi ve/veya tek yönlü varyans analizi uygulanarak değerlendirilmıştir. Varyans analizinden sonra, Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi uygulanmış ve  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel hesaplamalar sonucunda elde edilen değerlerin analizi ve şekilsel gösteriminde Sigmaplot® ve Labplot (GPL) programları kullanılmıştır. Sonuçlar, ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası olarak belirtilmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

*Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) ve *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1832) venomları ile çeşitli çalışmalar rapor edilmiş olmakla birlikte, Türkiye’de yaşayan ve medikal önemi olan bu iki farklı türe ait venomun paralel çalışılması şimdiye kadar literatürde rastlanmamıştır. Dolayısıyla çalışmamız, daha hipotez aşamasında diğer çalışmalardan farklılık göstermiştir.

Deneylerimizde kullanılan akrepler olan aynı Buthidae familyasına içinde sınıflandırılmakla birlikte *A. crassicauda* ve *M. gibbosus* oldukça iki farklı türdür ve aralarında morfolojik açıdan (**Şekil 1 ve 2**) olduğu gibi venomlarının kimyasal özellikleri açısından da farklılıklar bulunduğu görülmektedir (**Şekil 4 ve 5**).





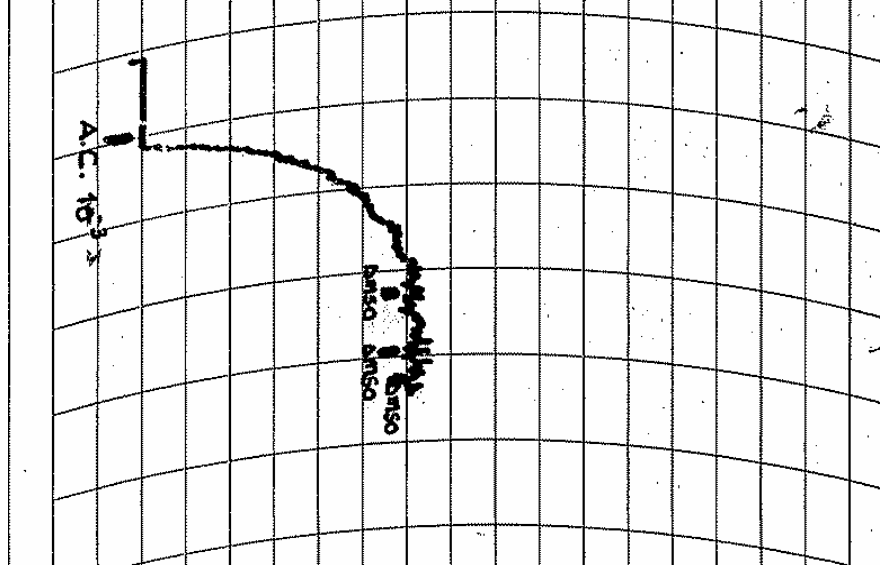
Şekil 5. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun HPLC Kromatogramı



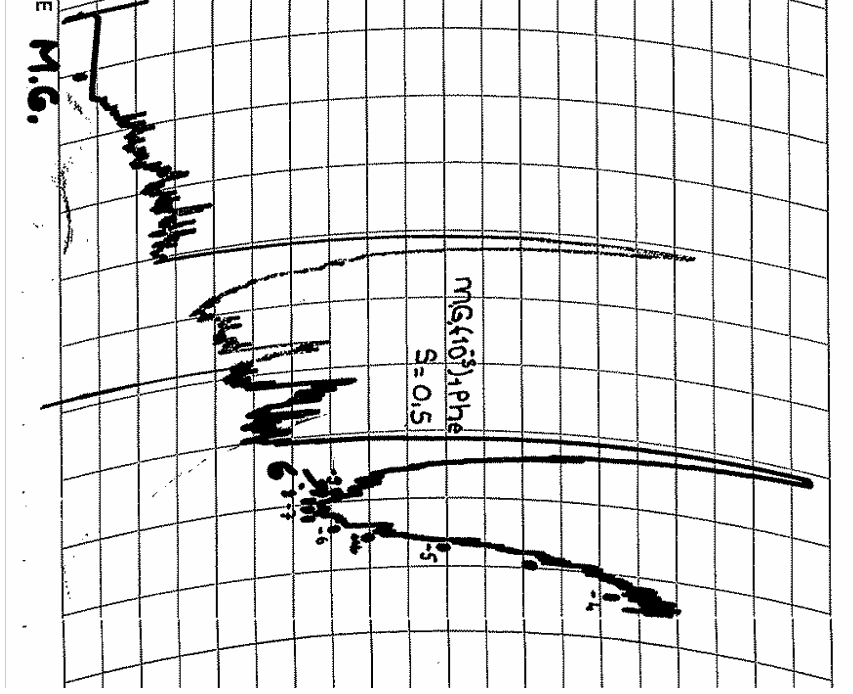
*Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) ve *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1823) venomları arasında gözlenen kimyasal farklılıkların varlığı nedeniyle (**Şekil 4 ve 5**), bu iki venom arasında farmakolojik etkilerin de farklı olması beklenmiştir.

Liyofilize *A. crassicauda* ham venomunun *M. gibbosus* 'a ait liyofilize ham venomuna göre önemli bir farklılığının, etkisinin farklı bir şekilde olarak geri dönüşsüz şekilde (irreversible) olması ve deneyler için önceden tahmin edilenden çok fazla sayıda hayvan ile çalışılmak zorunda kalınmış olmasıdır. Bu özellik birçok test maddesinden önemli bir farklılık göstermesi nedeniyle, ileride akrep venomu ile, özellikle de *Androctonus* venomları ile deneysel çalışma yapacak olanların dikkate alması gereken bir bulgudur.

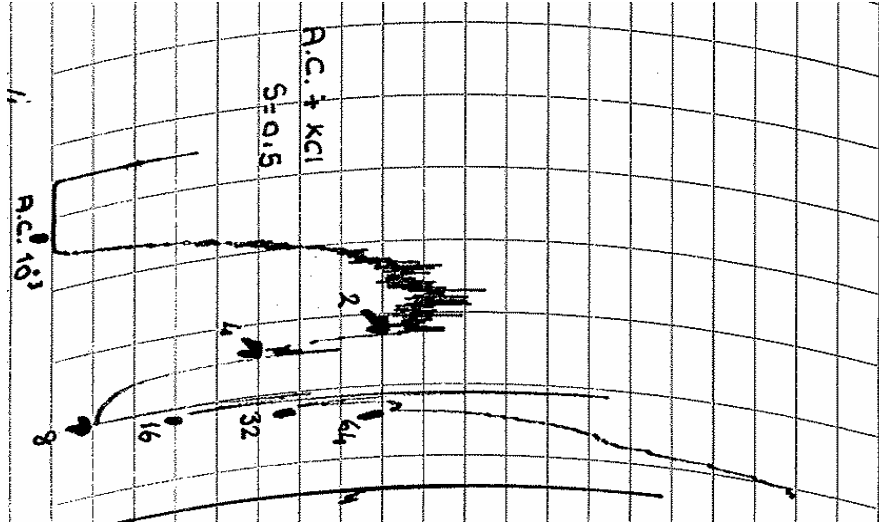
İzole sıçan vas deferens üzerinde yapılan çalışmalarımızda liyofilize *A. crassicauda* ham venomunun tek başına verildiğinde plato yapan ve gevsemeyen özellikte bir kastırıcı etkisi olduğu fakat *M. gibbosus*'a ait liyofilize ham venomunun daha farklı bir şekilde olmak üzere, düzensiz spontan dikensi kasılmalar benzeri aktivite şeklindeki doza bağlı bir şekilde kasılmalara neden olduğu gözlenmiştir (**Şekil 6–20**).



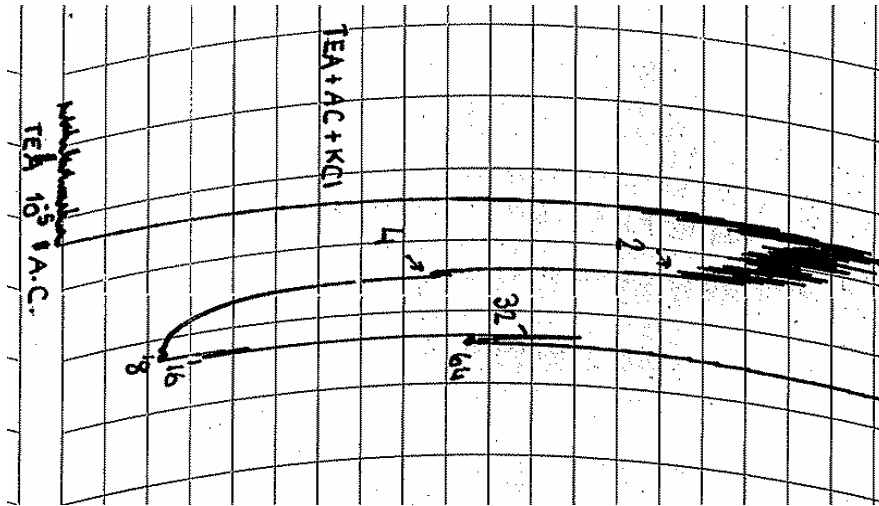
Şekil 6. *Androctonus crassicauda* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Üzerindeki Kastırıcı Etkisi



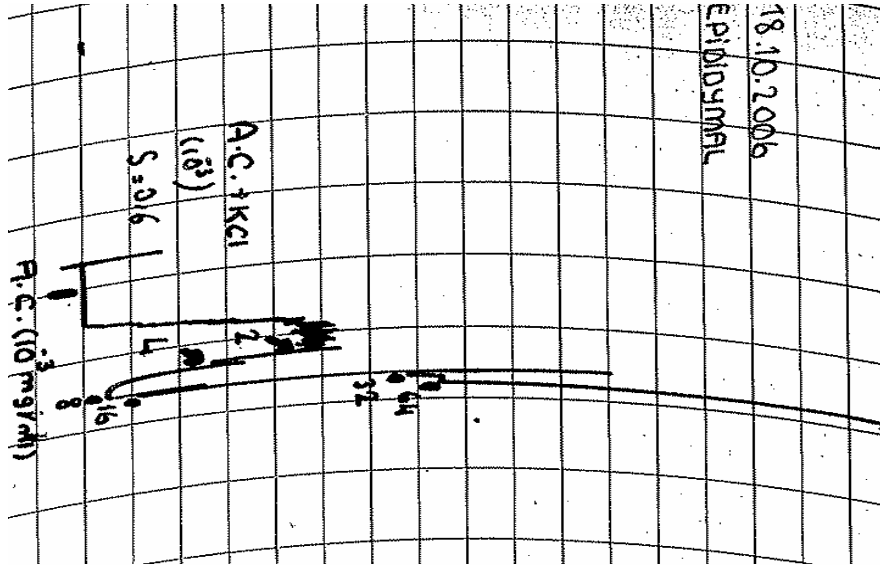
Şekil 7. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



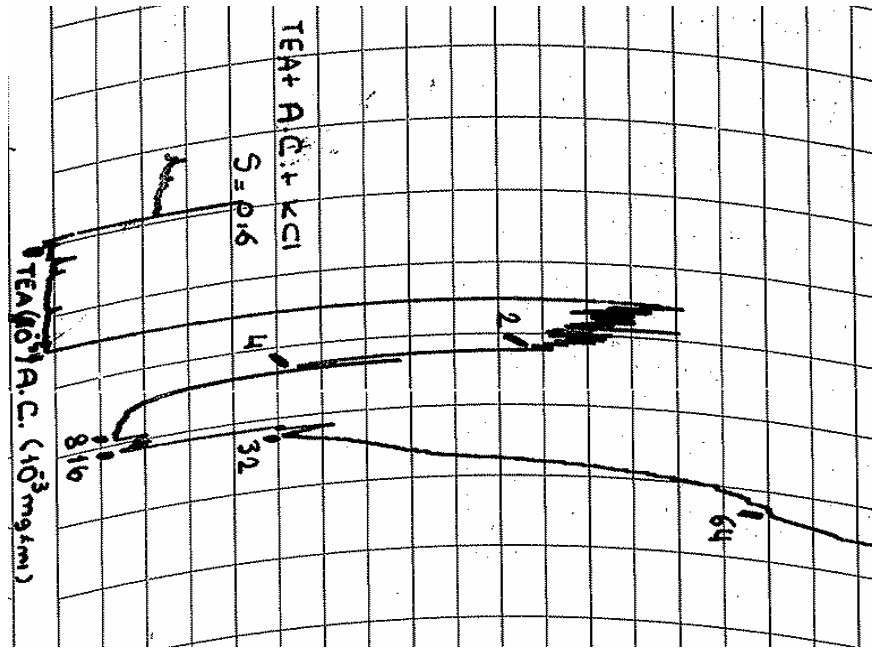
Şekil 8. *Androctonus crassicauda* Venomunun ( $10^{-3} \text{ mg.mL}^{-1}$ ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



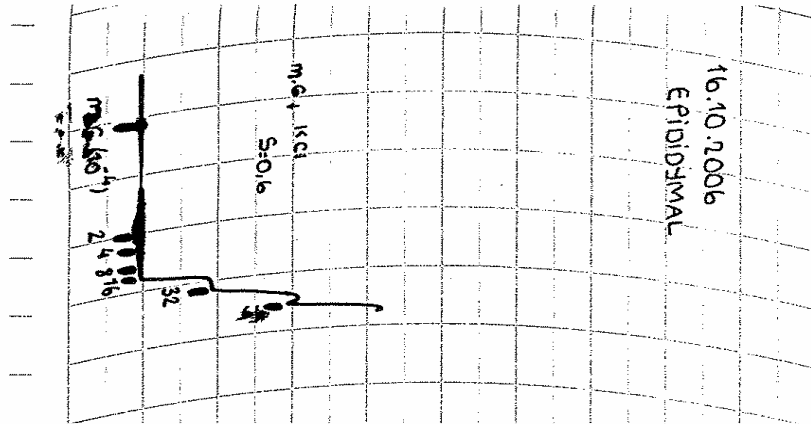
Şekil 9. *Androctonus crassicauda* Venomunun ( $10^{-3} \text{ mg.mL}^{-1}$ ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



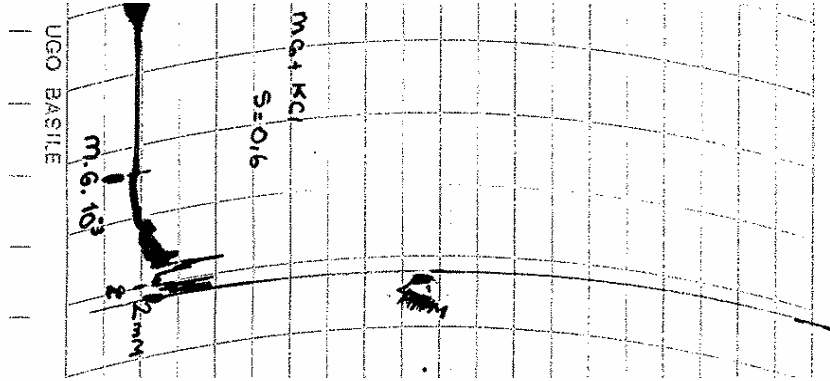
Şekil 10. *Androctonus crassicauda* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



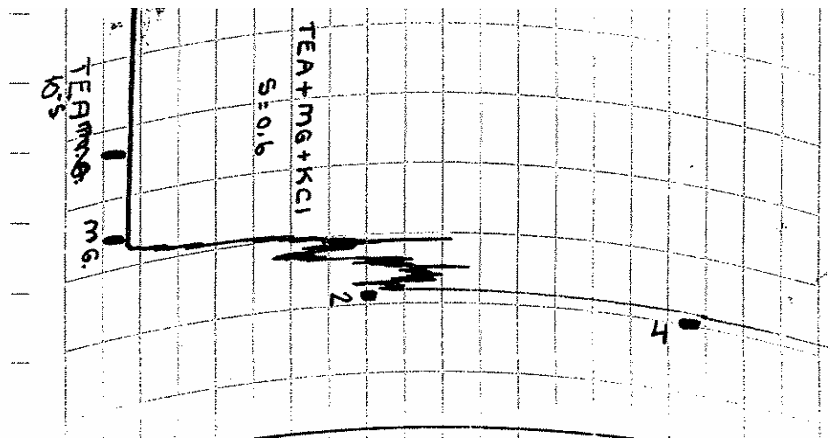
Şekil 11. *Androctonus crassicauda* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



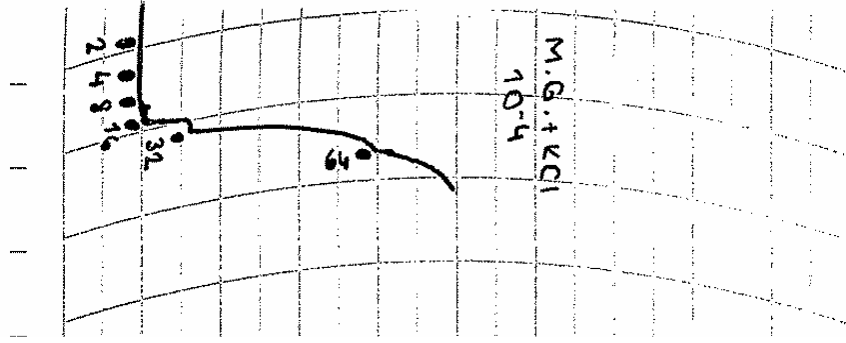
Şekil 12. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-4}$  mg.mL $^{-1}$ ) İzole Siçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



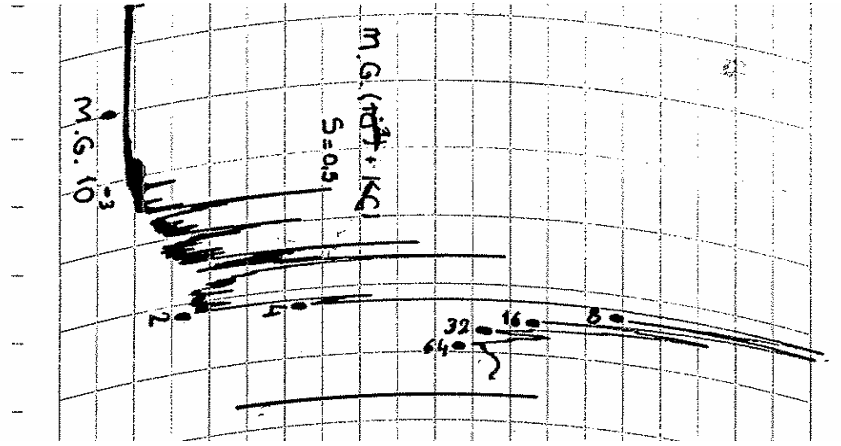
Şekil 13. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL $^{-1}$ ) İzole Siçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



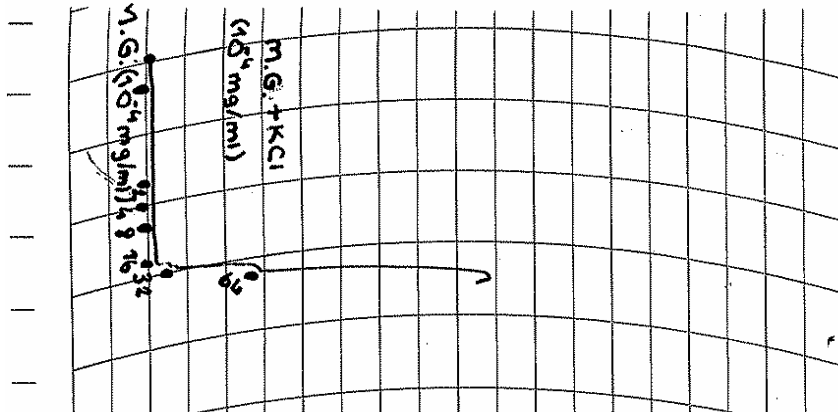
Şekil 14. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL $^{-1}$ ) İzole Siçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



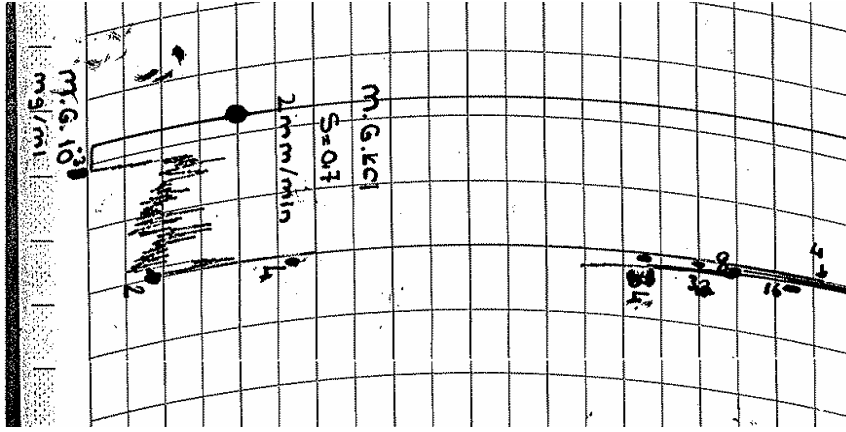
Şekil 15. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-4}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



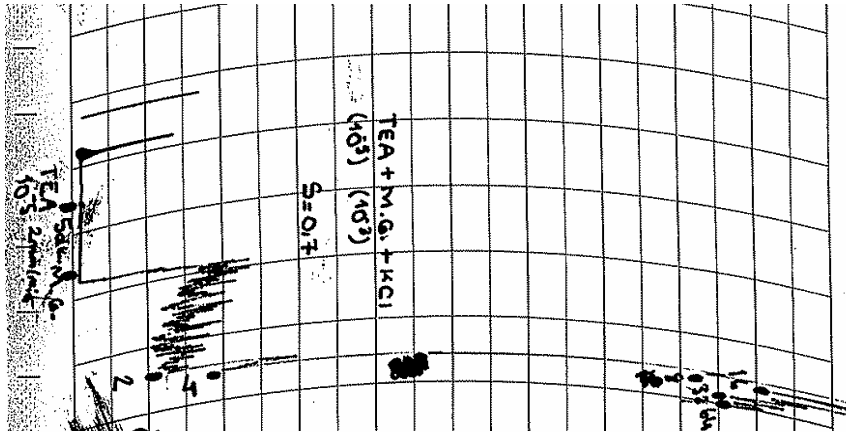
Şekil 16. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



Şekil 17. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-4}$  mg.mL<sup>-1</sup>) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi

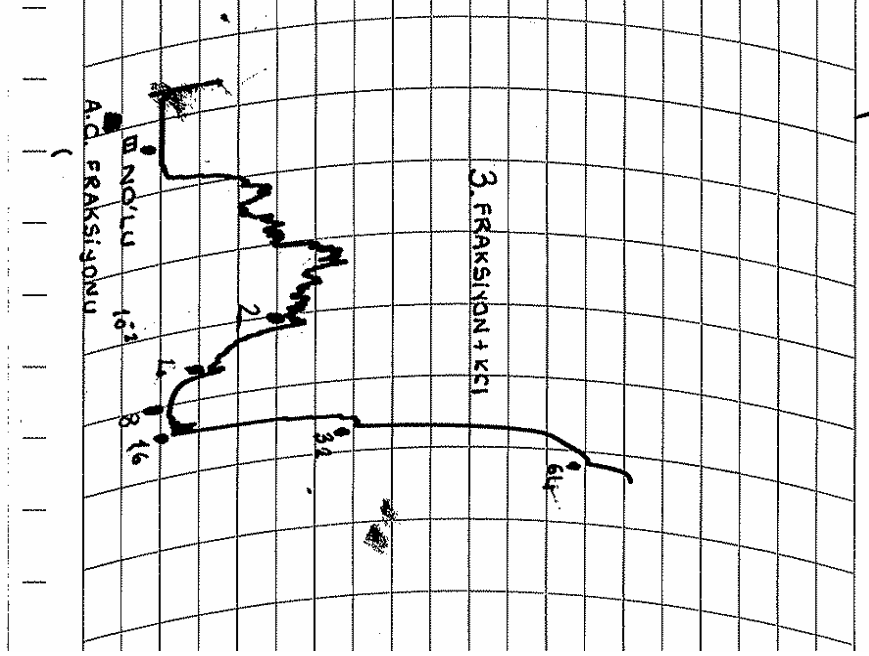


Şekil 18. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL $^{-1}$ ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi



Şekil 19. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun ( $10^{-3}$  mg.mL $^{-1}$ ) İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi

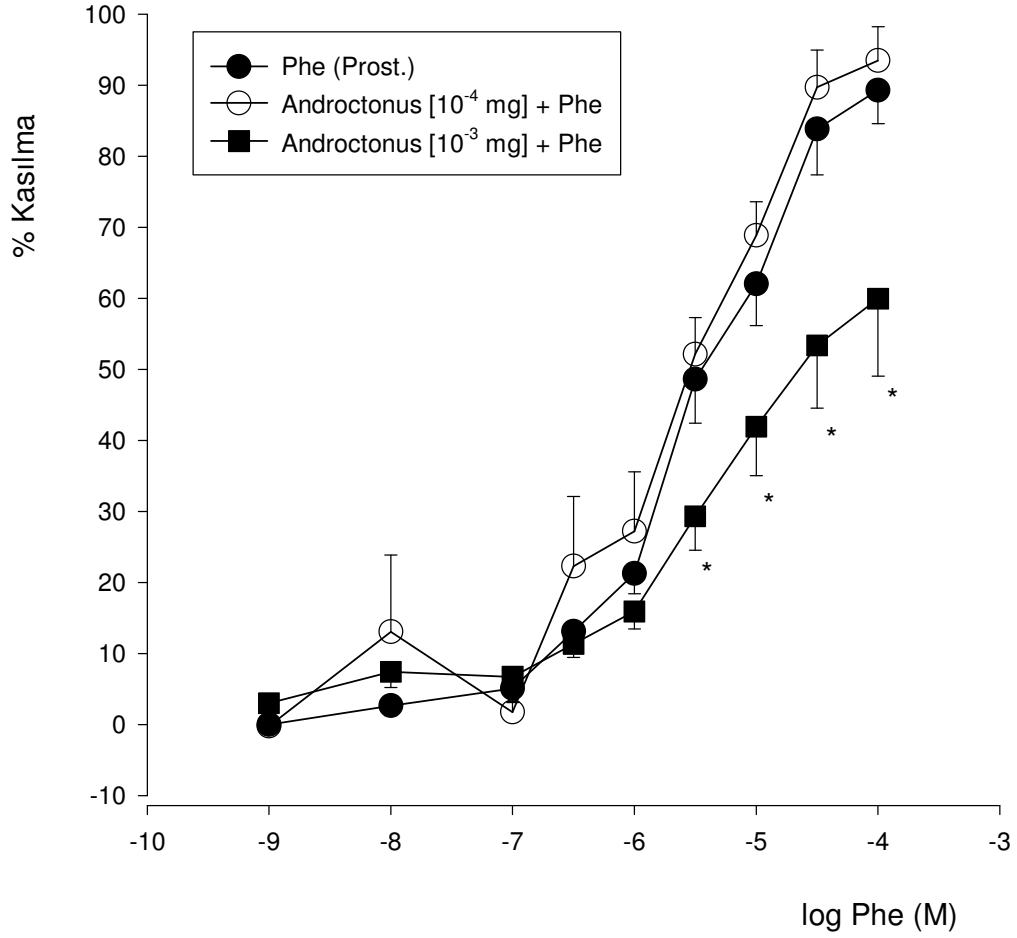




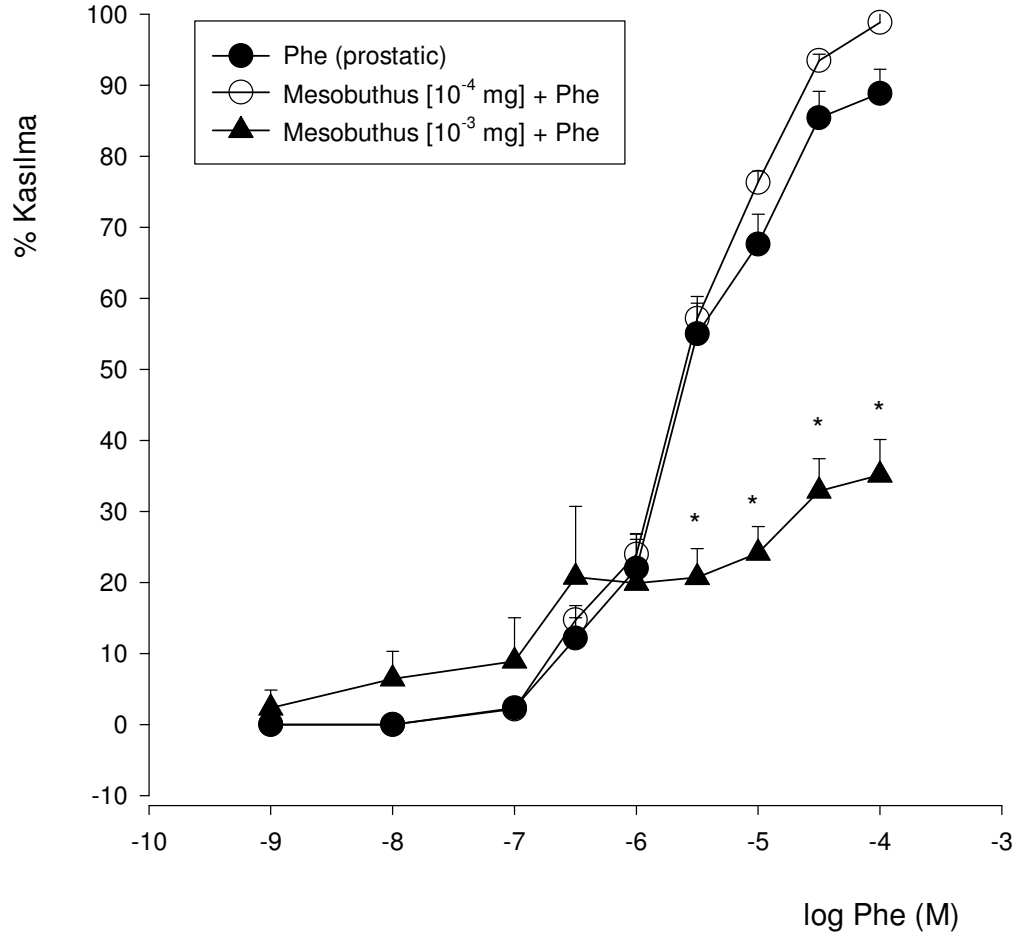
Şekil 20. *Androctonus crassicauda* Venomunun 3 No' lu Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi

*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının vas deferens prostatik kısım üzerinde kasılma cevapları üzerinde etkili oldukları ve bu iki venom arasında farklı etkiler olduğu görülmüştür. Her iki venomun Phe ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde doza bağlı olarak inhibitör etkilerde yaptığı gözlenmiştir. *A. crassicauda* venomu  $5 \times 10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-5}$ , ve  $10^{-4}$  mg dozlarında Phe yanıtları üzerinde inhibitör etkili olurken, *Mesobuthus gibbosus* venomunu ile  $5 \times 10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-5}$ , ve  $10^{-4}$  mg dozunda istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon görülmüş fakat  $10^{-3}$  mg dozundaki venomun etkisinin  $10^{-4}$  M Phe yanıtları üzerinde daha güçlü inhibitör etkisi oluşturduğu bulunmuştur (**Şekil 21 ve 22**).

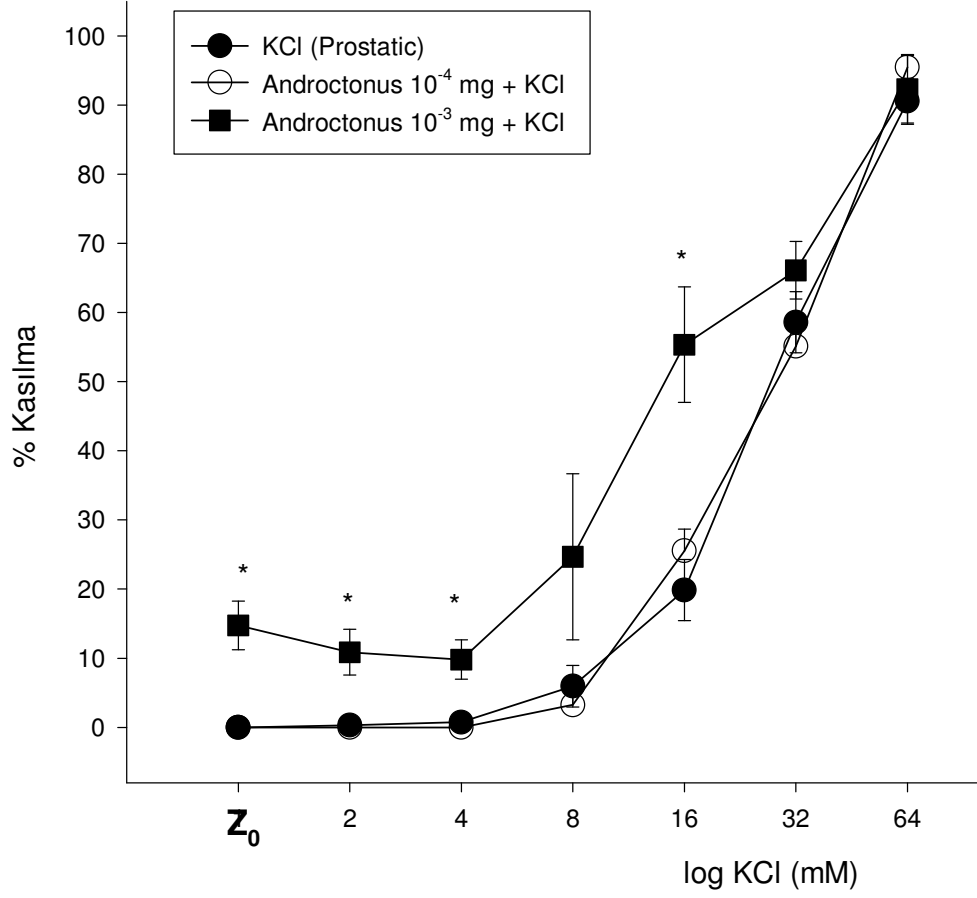
*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomları arasındaki KCl yanıtları üzerindeki farklılıklar, Phe yanıtlarına göre çok daha belirgindir. *A. crassicauda* venomu önce kendisi plato yapan bir kasılma gösterdikten sonra 2 ve 4 mM gibi düşük KCl dozlarında doza bağlı bir gevşeme, daha sonra KCl dozu yükseldikçe doza bağlı olarak kasılmada artış göstermektedir (**Şekil, 6, 8, 9, 23**). *Mesobuthus gibbosus* venomu ise organa uygulandığı zaman *A. crassicauda* venomundan farklı olarak spontan dikensi kasılmalar göstermekle birlikte (**Şekil 7, 12, 13**) KCl ile oluşturulan yanıtların ileri derece artmasına neden olmuştur (**Şekil 24**). İki venom arasındaki bu etkilerin venom içerisindeki hangi bileşenlerden geldikleri bugün bilinmemekte ve eldeki veriler ışığında tahmin edilmesi olası görünmemektedir. Bu gözlemlere daha önce literatürde rastlanılmamıştır. Bu açıdan bakıldığında venom fraksiyonlarıyla ve iki türün karşılaştırılmalı olarak çalışılmasında yarar görülmektedir.



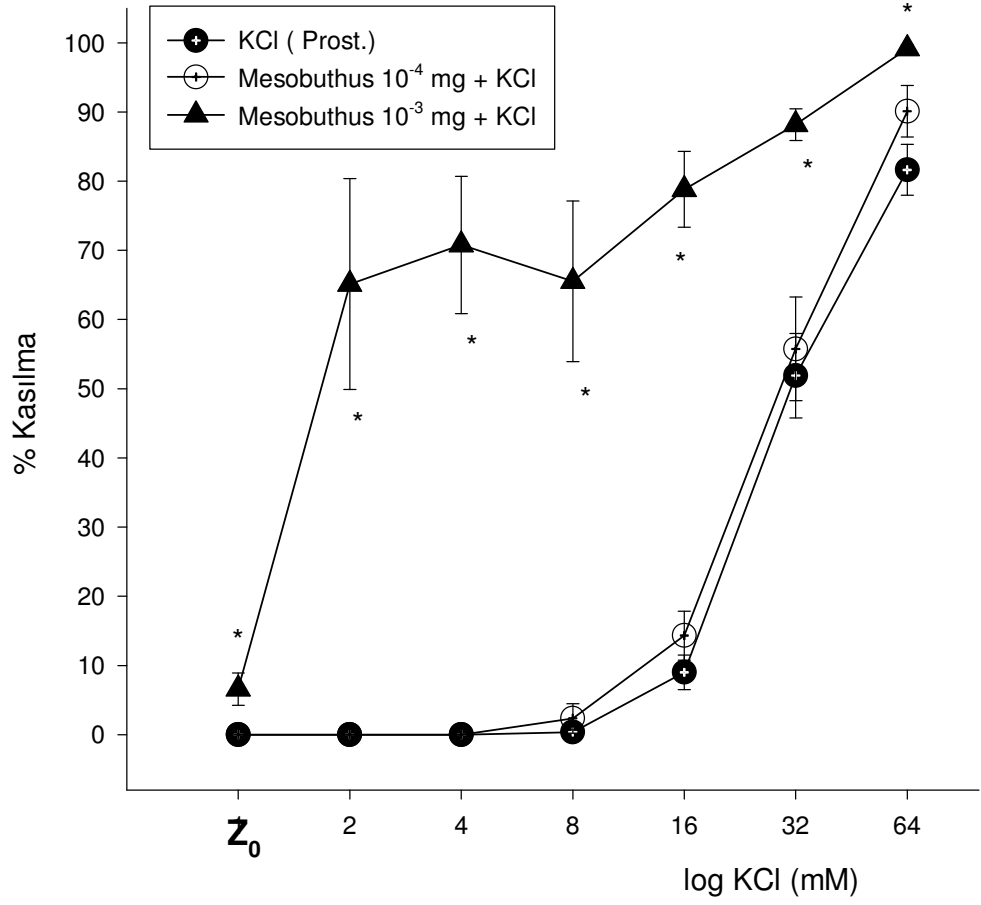
Şekil 21. *Androctonus crassicauda* Venomunun İzole Sığan Vas deferens Prostatik Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (\*)  $p < 0.05$



Şekil 22. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (\*)  $p < 0.05$



**Şekil 23. *Androctonus crassicauda* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi**  
**(Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma,**  
**(\*)  $p < 0.05$**

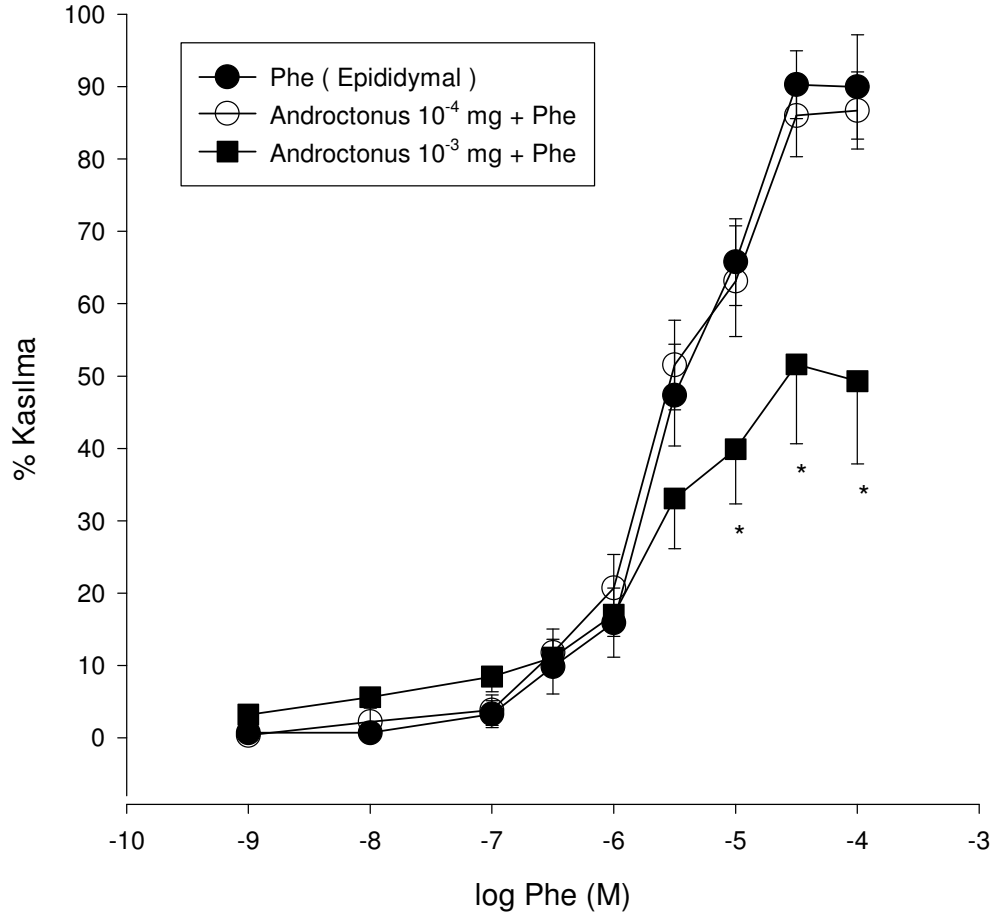


**Şekil 24. *Mesobuthus Gibbosus* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Prostatik Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma, (\*) $p < 0.05$**

*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının vas deferens epididimal kısım üzerinde KCl ve Phe ile oluşturulan yanıtlar üzerinde  $10^{-3}$  mg dozunda etkili oldukları, bir diğer ifade ile venom etkilerinin doza bağlı olduğu ve iki venomun etkilerinin farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir. Phe ile vas deferens epididimal kısım üzerinde *A. crassicauda* venomu ile  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  mg dozlarında Phe yanıtları üzerinde inhibitör etkili olurken (**Şekil 25**), *Mesobuthus gibbosus* venomunu ile herhangi bir inhibisyon görülmemiş, aksine düşük dozlarda Phe kasılmalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar olduğu görülmüştür (**Şekil 26**).

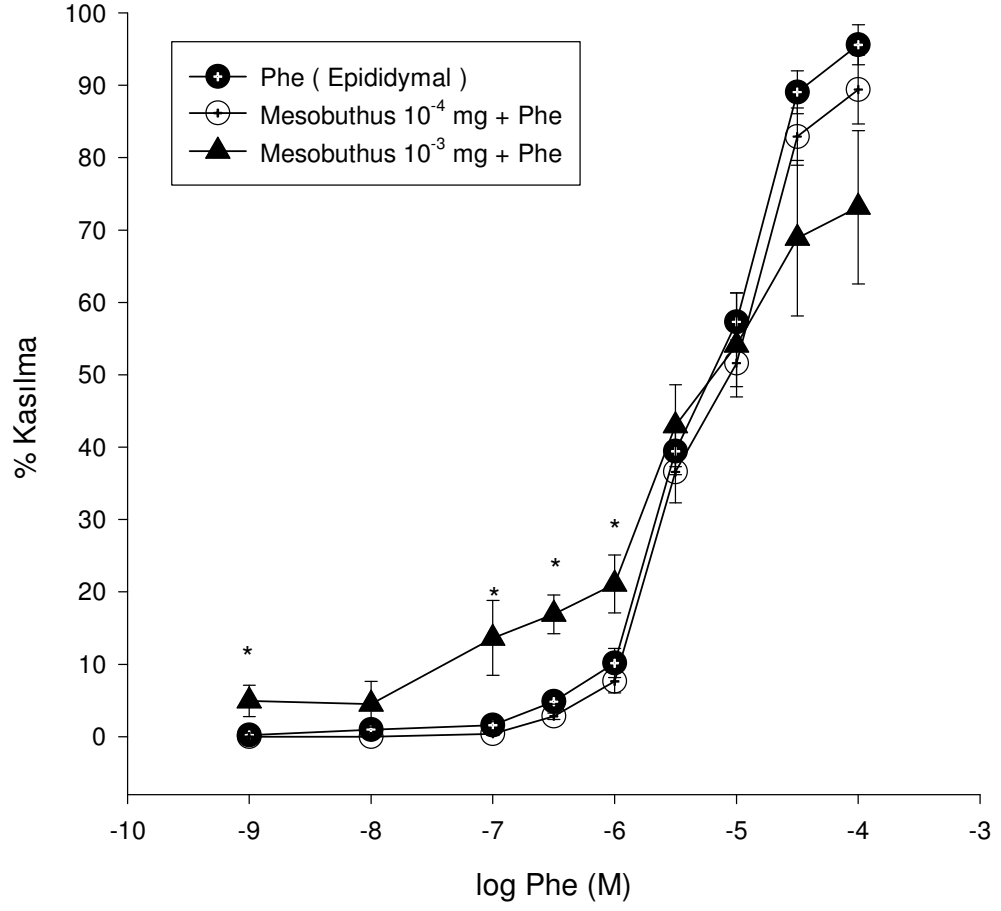
Bu veriler ile *Androctonus* ve *Mesobuthus* venomlarının izole sıçan vas deferens üzerinde etkili olduğu ve iki venom arasındaki etki profilleri arasında önemli farklılıklar bulunduğu gösterilmekle kalınmamış, aynı zamanda vas deferens epididimal ve prostatik parçalar arasında önemli farklılıklar bulunduğu gösterilmiştir (**Şekil 25 ve 26**).

KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde *Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının vas deferens epididimal kısım üzerindeki etkileri, prostatik kısım üzerinde görülen etkilere çok benzemektedir. *Androctonus crassicauda* venomu, prostatik kısımda olduğu gibi, doza bağlı olarak etki göstermiş ve sadece  $10^{-3}$  mg dozunda istatistiksel olarak anlamlı bir kastırıcı etkiye neden olmuştur. Bu kastırıcı etki, 2 ve 4 mM KCl ile geri döndürülmüş daha yüksek KCl dozları ile kasılma artışı gözlenmiştir (**Şekil 6 ve 27**). *Mesobuthus gibbosus* venomu ile epididimal kısımda gözlenen etkiler, prostatik kısımda gözlenen etkilere çok benzer olarak KCl yanıtlarının artışı ile sonuçlanmıştır (**Şekil 28**).

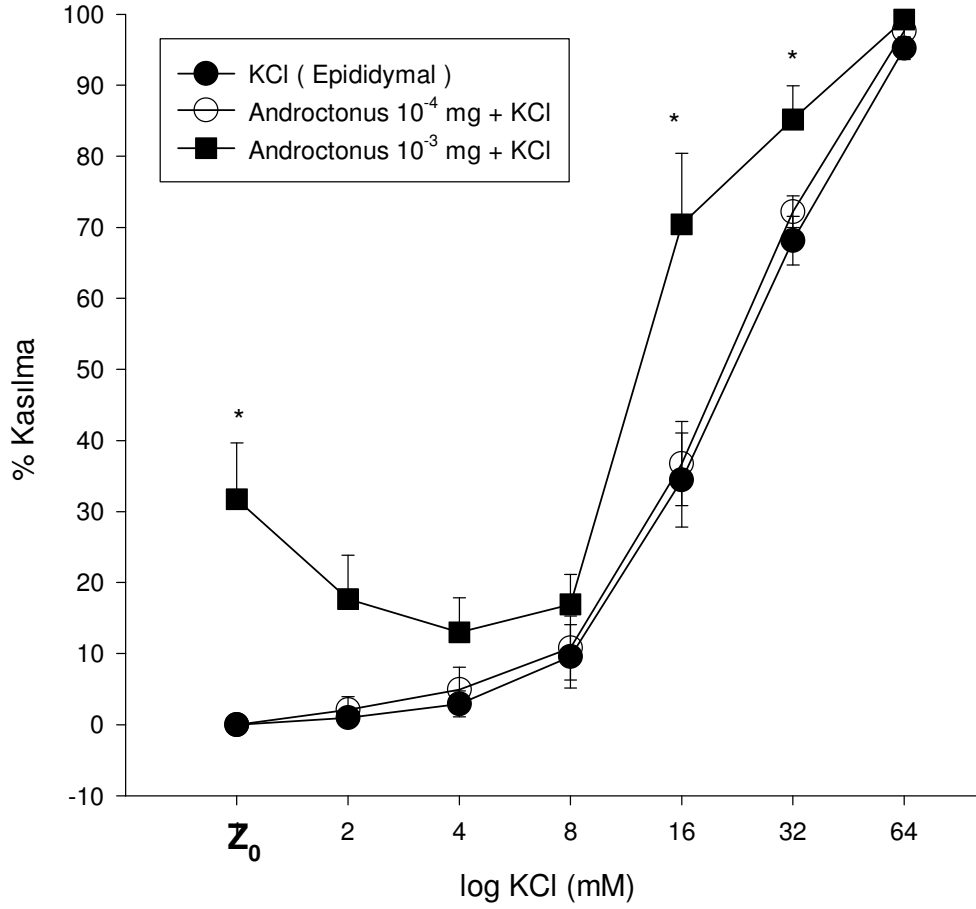


Şekil 25. *Androctonus crassicauda* Venomunun İzole Sığan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (\*)  $p < 0.05$

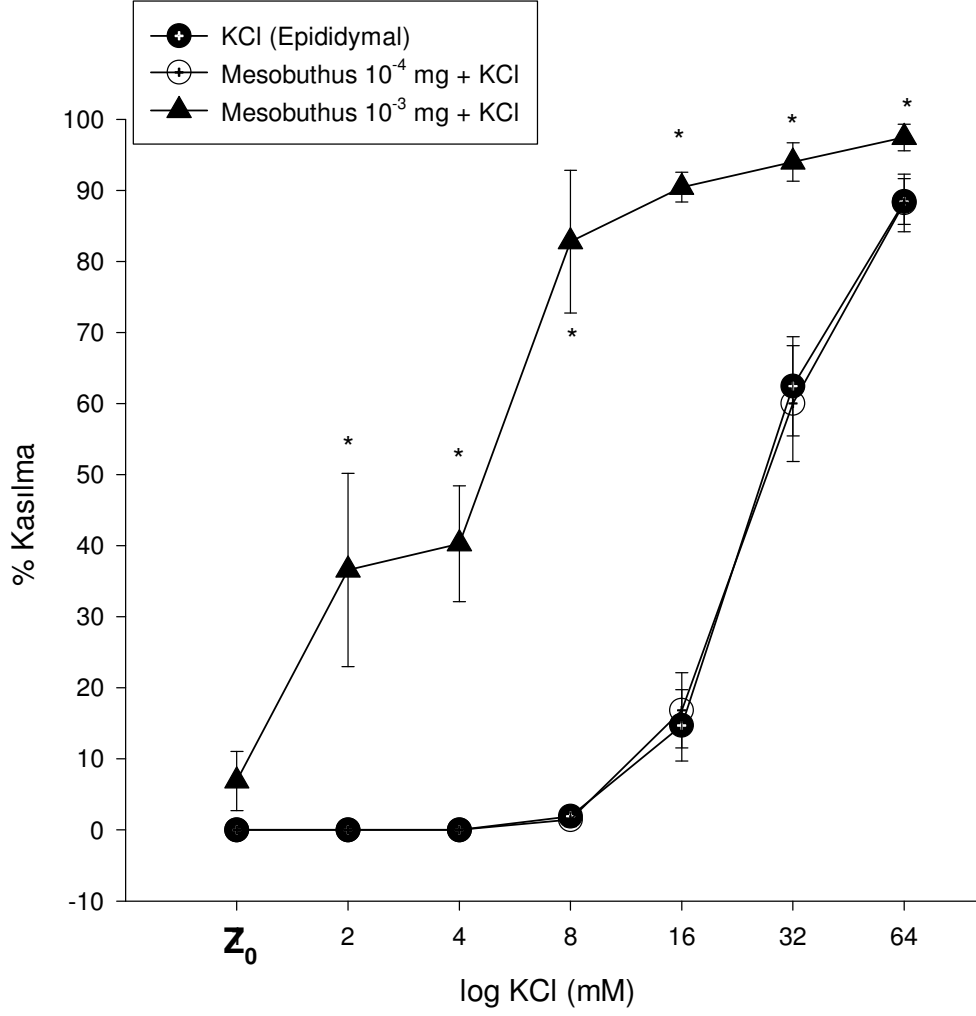




Şekil 26. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında Phe Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (\*)  $p < 0.05$



**Şekil 27. *Androctonus Crassicauda* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma, (\*)*p* < 0.05**

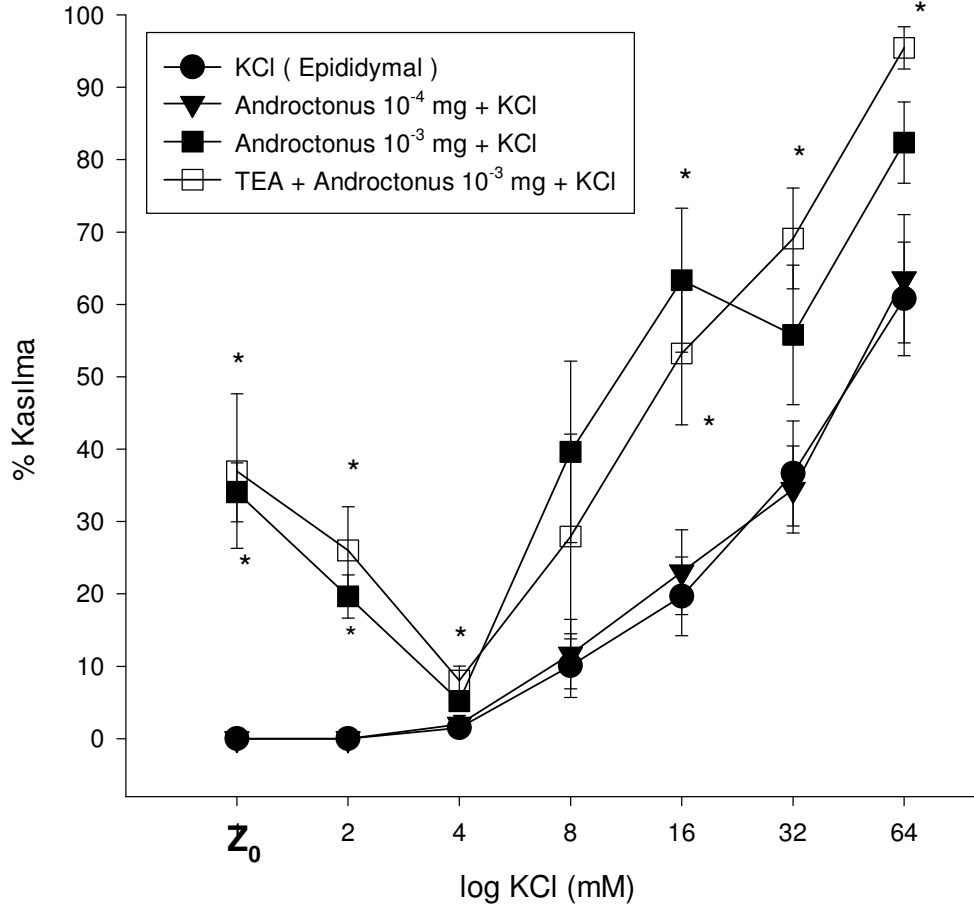


Şekil 28. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi

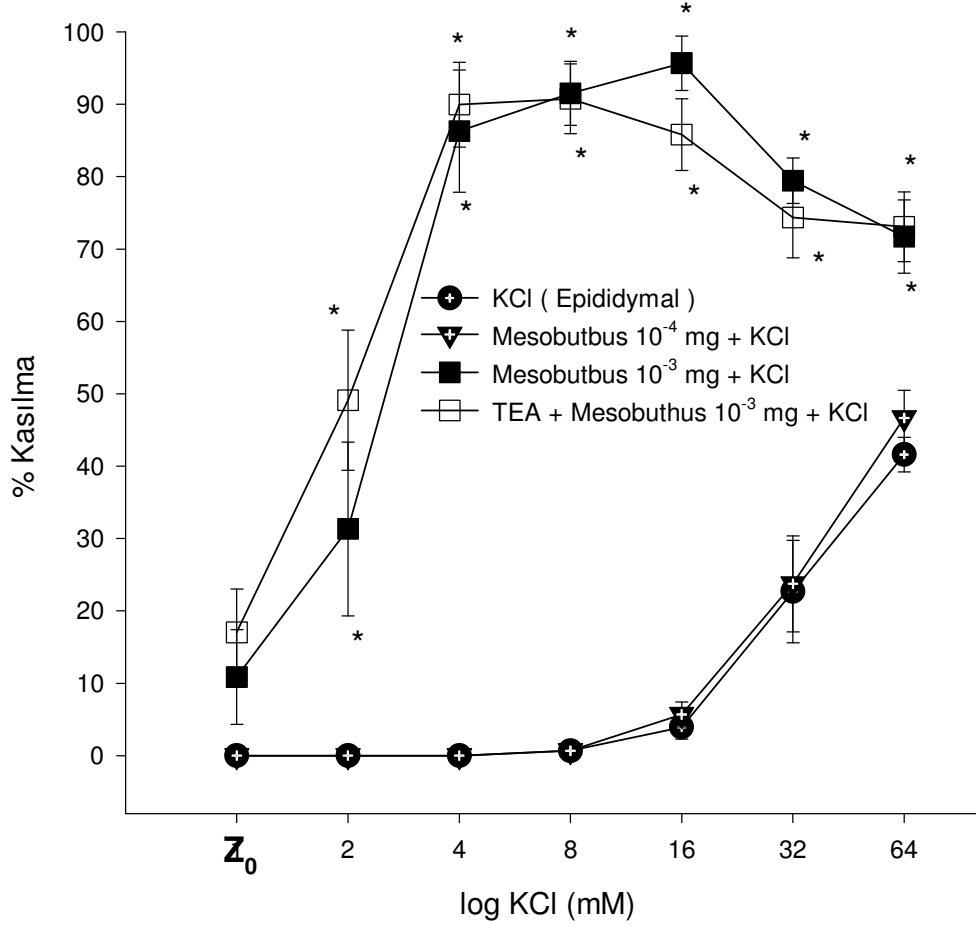
(Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma,

(\*)*p* < 0.05

*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının vas deferens epididimal kısımda KCl ve Phe ile oluşturulan yanıtlar üzerinde potasyum kanal blokerlerinden tetraetilamonyum (TEA) ile etkileşmesi olup olmadığına yönelik yapılan deneylerde venomlar arasında farklı etki profilleri gözlenmiştir. *Mesobuthus gibbosus* venomu TEA varlığında farklı bir etki göstermemiştir. *Androctonus crassicauda* venomunun ise TEA ile etkileştiği ve 64 mM KCl ile oluşturulan kasılma üzerinde sadece  $10^{-3}$  mg dozundaki venomun TEA varlığında istatistiksel olarak daha fazla kasıldığı gözlenmiş ve TEA'ya duyarlı potasyum kanalları ile venom etkileşmesi olduğu bulunmuştur (**Şekil 29 ve 30**). Akrep venomları için varlığı ve etkileşmesi gösterilen sodyum iyon kanallarına yönelik herhangi bir çalışma deneylerimizde yapılmamıştır. Bunun en önemli nedeni venom çalışmalarında harcanan deney hayvanı sayısının tahmin edilenden daha fazla olmasıdır.



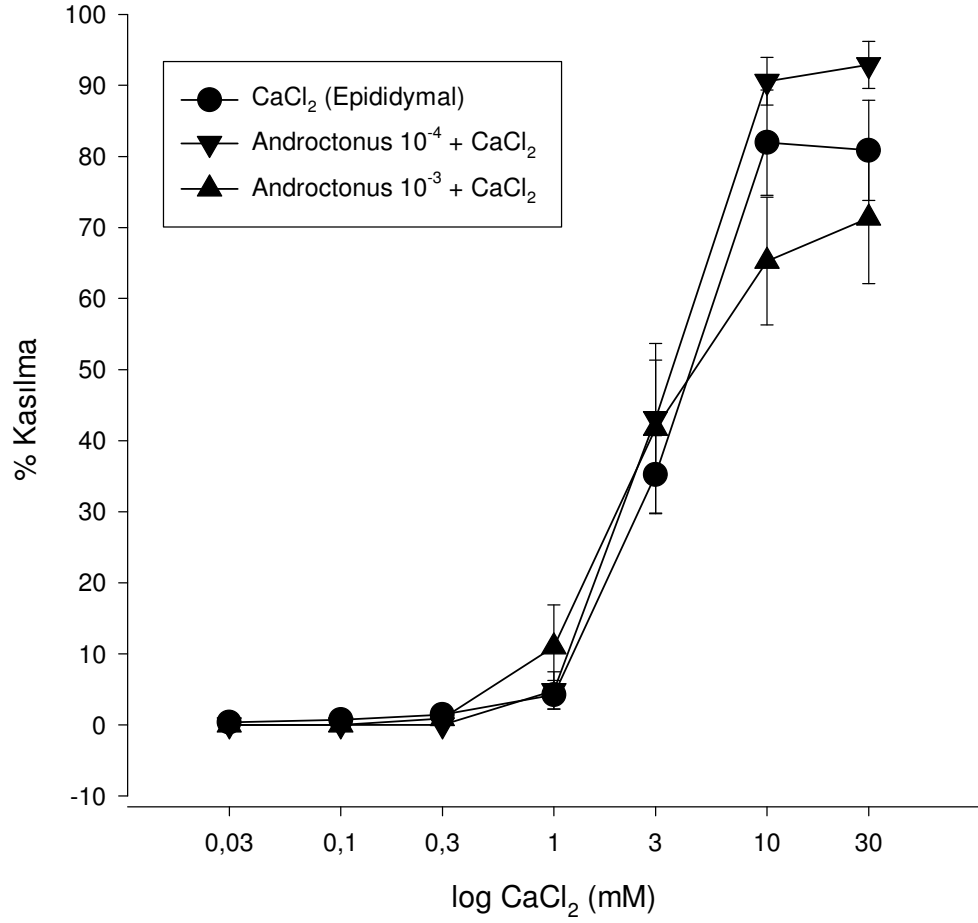
**Şekil 29. *Androctonus Crassicauda* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi (Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma, (\*)*p* < 0.05**



Şekil 30. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun İzole Siçan Vas deferens Epididimal Parçasında TEA Varlığında KCl Kasılmaları Üzerindeki Etkisi  
 (Z<sub>0</sub>) Venomun İlk Verildiği Zaman Tek Başına Yaptığı Kasılma,  
 (\*)  $p < 0.05$

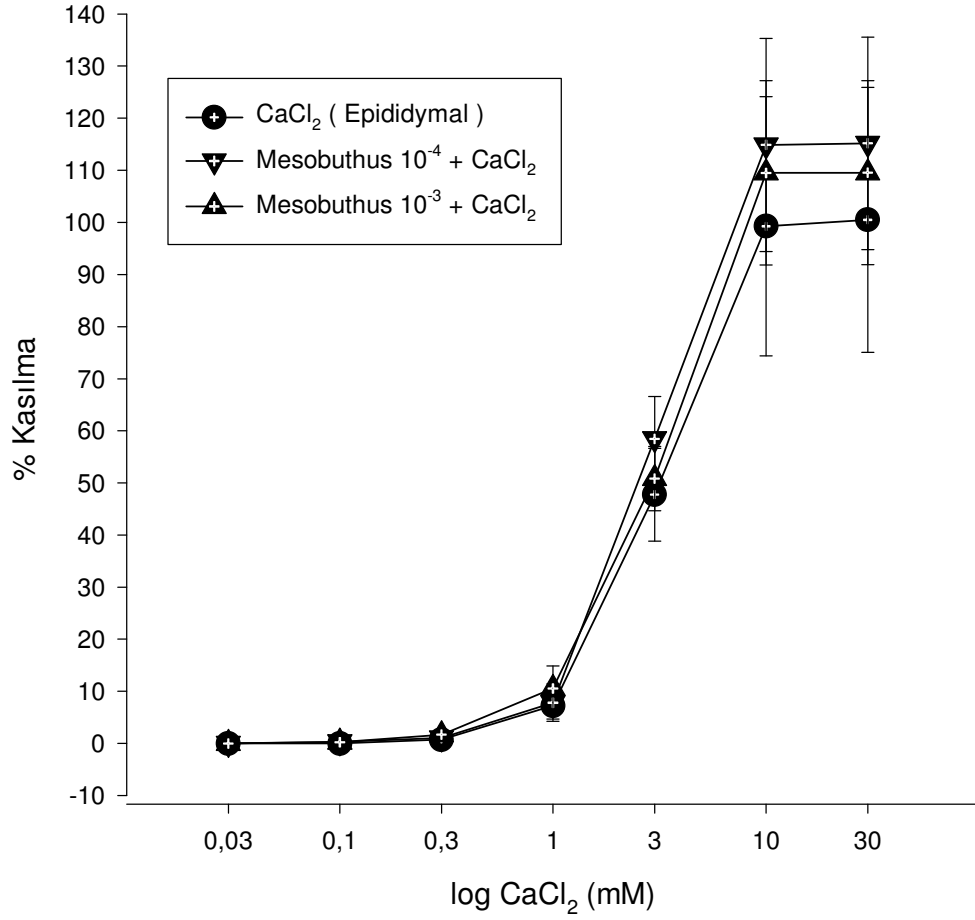
Kalsiyumun hücre içindeki rolünün önemli olduğu ve birçok etkinin yanı sıra düz kasların kasılma ve gevşemelerinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle *Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının vas deferens epididimal kısmında  $\text{CaCl}_2$  yanıtlarına bakılmıştır. İki venomun da kalsiyum yanıtlarını etkilemedikleri ve kalsiyum kanallarıyla etkileşmedikleri görülmüştür (**Şekil 31 ve 32**).

*Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* venomlarının HPLC ile yapılan çalışmalar ile elde edilen fraksiyonlarından sadece birer tanesi ile yapılan çalışmalar sonucunda *M. gibbosus* venom fraksiyonunun KCl kasılmaları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, *A. crassicauda* fraksiyonunun ise sadece uygulanan en yüksek doz olan 64 mM KCl üzerinde kasılmayı artırıcı etkisi gözlenmiştir. Kullanılan venom fraksiyonun etkili olduğu gözlenmekle birlikte, ham venom profili tümüyle görülmediği için venomların diğer fraksiyonları ile de çalışılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (**Şekil 33 ve 34**).

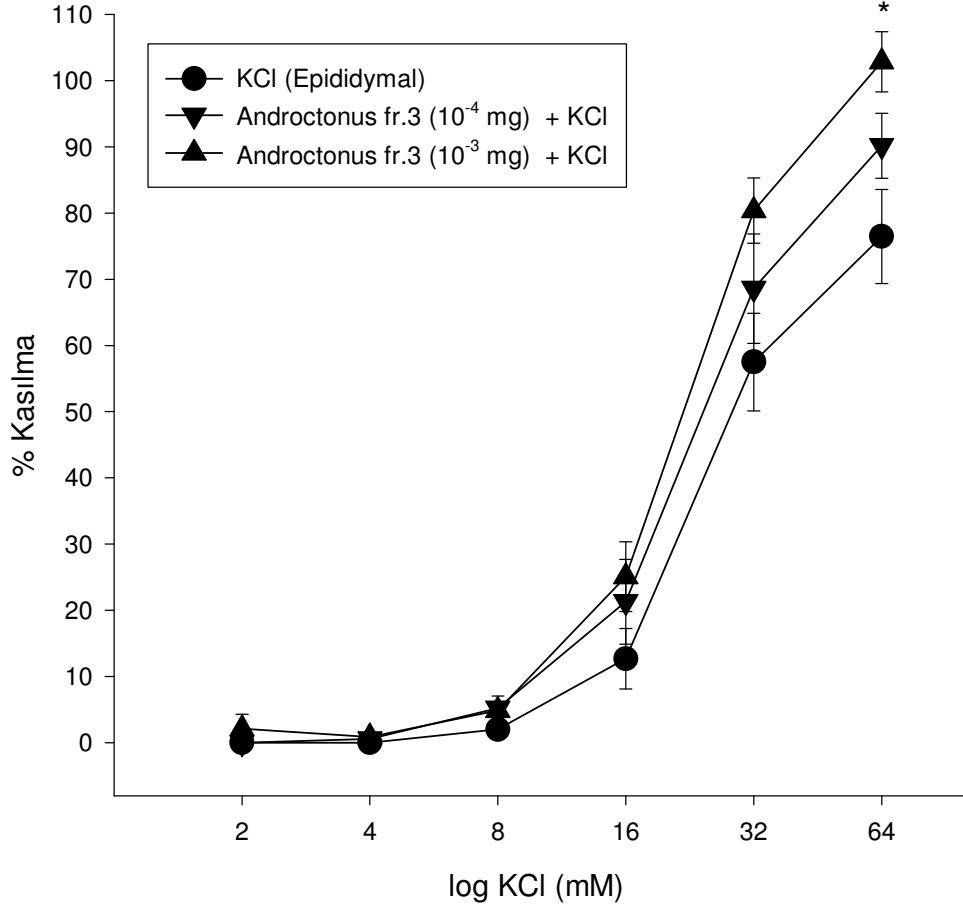


Şekil 31. *Androctonus crassicauda* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında CaCl<sub>2</sub> İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi

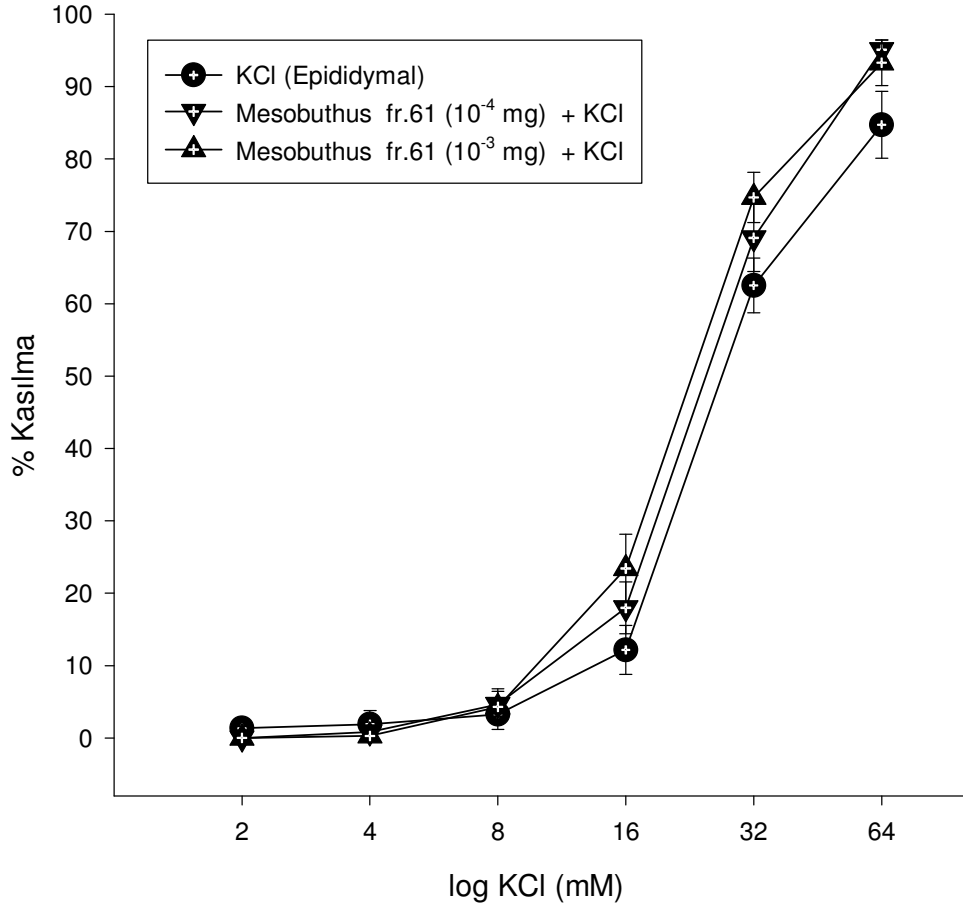




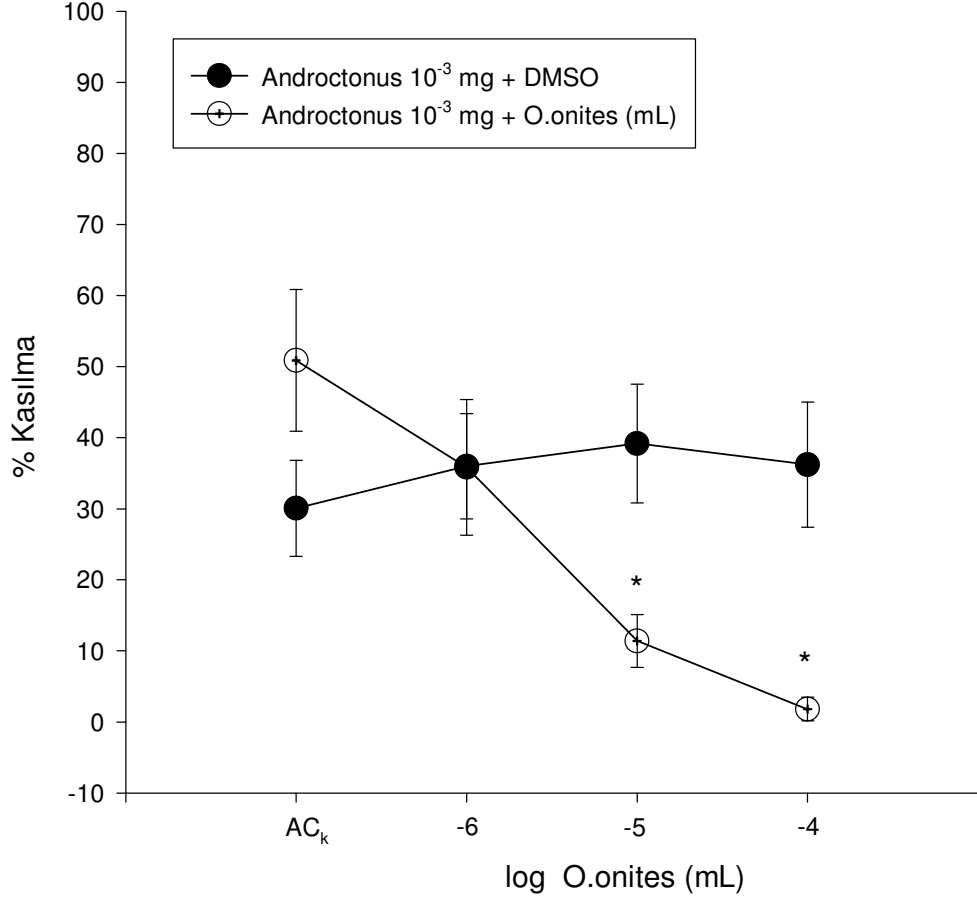
Şekil 32. *Mesobuthus gibbosus* Venomunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında CaCl<sub>2</sub> ile Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi



**Şekil 33. *Androctonus crassicauda* Venomu 3 Numaralı Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi (\*)  $p < 0.05$**



Şekil 34. *Mesobuthus gibbosus* Venomu 61 Numaralı Fraksiyonunun İzole Sıçan Vas deferens Epididimal Parçasında KCl İle Oluşturulan Kasılmalar Üzerindeki Etkisi



**Şekil 35. *Androctonus crassicauda* Venomunun İzole Sıçan Vas deferensinde Oluşturduğu Etkinin *Origanum onites* Uçucu Yağı İnhibisyonu. (\*) $p < 0.05$   
Not: 64 mM KCl İle Görülen Maksimum Kasılma, % 100 Kasılma Değeri Olarak Alınmıştır**

Yukarıdaki veriler birlikte değerlendirilecek olursa, vas deferens üzerinde liyofilize *A. crassicauda* ham venomunun tek başına verildiğinde plato yapan ve gevşemeyen özellikte bir kastırıcı etkisi gözlenmiş (**Şekil 6**) fakat *M. gibbosus*'a ait liyofilize ham venomun böyle bir etkiden farklı olarak düzeniz spontan aktivitede artışlar gözlenmiştir (**Şekil 7**). Ayrıca *A. crassicauda* ham venomunun vas deferens Phe kasılmalarını inhibe edici etkisi gözlenirken (**Şekil 21, 25**), *M. gibbosus* kasılmaları artırmıştır (**Şekil 22, 26**). *A. crassicauda* ham venomu ile Phe etkileşmesinin gözlenmiş olması, venom içindeki moleküllerin adrenerjik reseptörler ile etkileşmekte olduğunu düşündürmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda kolinerjik ve nitreerjik etkilerin yanı sıra, adrenerjik reseptörler ile *A. crassicauda* venomunun etkileştiği bildirilmiştir (Ay ve ark., 1996). Her iki venomun adrenerjik reseptörler ile farklı şekilde etkileştiği sonucuna varılmıştır.

Başlangıçta yapılan deneyler ile vas deferensin prostatik ve epididimal kısımları arasında cevap farklılıkları bulunduğu gözlenmesi nedeniyle (**Şekil 20–27**) daha sonraki çalışmalar sadece epididimal kısım üzerinde yapılmıştır (**Şekil 27–35**). Bu şekilde vas deferens kısımları üzerinde akrep venomlarının farklı etkileri bulunduğu ilk kez çalışmalarımızda gösterilmiş bulunmaktadır. Bu farklılığın etki mekanizması ise henüz bilinmemektedir.

*M. gibbosus* venomunda görülmeyen fakat sadece *A. crassicauda* ham venomunda gözlenen plato şeklindeki kasılmanın KCl ile doza bağlı olarak inhibe olduğu gözlenmiştir (**Şekil 10–11**). Benzer bir etki *A. crassicauda* ham venomunun 3 nolu fraksiyonu (**Şekil 4**) ile de gözlenmiştir (**Şekil 20**).

Organın kasılmasını baseline düzeyine gevşemesi 4 mM KCl dozu ile gözlendikten sonra, daha yüksek KCl dozlarının düz kastaki bilinen tipik KCl kasılma cevaplarını oluşturduğu gözlenmiştir (**Şekil 8–9**). Bu bulgular KCl ile *A. crassicauda* venomunun doza bağlı olarak ve benzer etki yöresi ile olmak üzere etkileştiğini düşündürmektedir. Akrep venomlarının iyon kanalları ve özellikle  $K^+$  kanalları ile etkileştikleri bilinmektedir (Possani ve ark., 1999b).

Daha önce laboratuvarlarımızda yapılan çalışmalarda bu venomun izole sıçan fundus, ileum ve aorta üzerinde KCl tarafından antagonize olan kastırıcı etkilerinin gözlenmemiş olması (Bektas ve ark, 2005) *A. crassicauda* venomunun vas deferens organına spesifik olduğunu düşündürmektedir. *A. crassicauda* venomunun vas deferens epididimal ve prostatik kısımlar arasındaki farklı etkilerine ilişkin sadece bir adet çalışma yayınlanmış bulunmaktadır (Cakmak ve ark., 2006).

Bu çalışmada vas deferensin özellikle epididimal parçasının akrep venomu için bir biyoassay organı olarak kullanılabilceği çalışmamızda gösterilmiş bulunmaktadır. Çalışmalarımızda kullanılan sıçan vas deferensinde gözlenen bu etkilerin fare, kobay ve tavşan gibi diğer deney hayvanlarında gözlenip gözlenmeyeceğine ve türe özgü farklılıkların olup olmadığına ilişkin herhangi bir bilgiye henüz rastlanılmamıştır.

*M. gibbosus* venomunun ise KCl kasılmalarını artırdığı, bazen bu artışların ölçüm yapılmasını zorlaştıracak derecede olduğu gözlenmiştir (**Şekil 12–18, 24, 28**). Bu

açından *M. gibbosus* venomunun etkisi ile *A. crassicauda* venomunun vas deferens üzerindeki etkilerinin birbirinden çok farklı olduğu bulunmuştur. Bu derece farklı etkilerin olması, *M. gibbosus* venomundan farklı olarak, *A. crassicauda* venomunun dünyanın en kuvvetli zehirlerinden birisi olmasını destekleyen bulgulardır ve kimyasal olarak venomdaki hangi peptit(ler)in bu kuvvetli etkiden sorumlu olduklarına ilişkin çalışmalar son zamanlarda yayınlanmaya başlamıştır. Bu açıdan ham venom etkisinin benzerinin gözlenmiş olduğu fraksiyon 3 ile protein yapısı açıklanmış olan (Caliskan ve ark., 2006) proteinlerin benzer olduğu tahmin edilmektedir.

Venom ve özellikle fraksiyon miktarlarının son derece az olmasının yanı sıra venom etkisinin çok uzun süren ve deney boyunca geri dönmeyen türden olması kullanılan deney hayvan sayısında tahminlerimizden daha fazla kullanıma ve bu nedenle de kısıtlayıcı faktörlerin çoğalmasına neden olmuştur. Bu nedenle fraksiyonlar ile daha fazla deneylerin yapılması mümkün olamamıştır.

Voltaja bağlı  $K^+$  kanal blokerlerinden olan TEA varlığında *M. gibbosus* venomunun farklı bir etkisi bulunmamıştır (**Şekil 30**).

*A. crassicauda* venomunun TEA ile etkileşerek kasılmada artış olduğu (**Şekil 9, 11**) ve 64 mM KCl dozunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunun görülmüş olması (**Şekil. 29**), venomun  $K^+$  kanalları üzerinde spesifik olarak etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Her iki venomun, adrenerjik reseptörlerin yanı sıra  $K^+$  kanalları ile farklı şekillerde etkileştiği sonucuna varılmıştır.

*M. gibbosus* venomu ile *A. crassicauda* venomunu çok az ortak özellikleri bulunmaktadır. Bu ortak özelliklerinden birisinin kalsiyum cevapları üzerinde her iki venomun etkisiz olmalarıdır. Her iki venomun kalsiyum kanalları ile herhangi bir etkileşmelerinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

*Origanum onites*'in halk arasında antitoksin olarak kullanılmakta olduğunun bilinmesi nedeniyle *O.onites* ile *A. crassicauda* venomu arasında herhangi bir etkileşme olup olmadığı bu çalışmada araştırılmış ve inhibitör nitelikte bir etkileşmenin varlığı gözlenmiştir (**Şekil 35**). Ön çalışma niteliğindeki bu bulgu daha önce rapor edilmemiş ve yeni bir etkileşim örneği olarak önümüzde durmaktadır.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Medikal ve etnofarmakolojik önemi olan *Androctonus crassicauda* ile *Mesobuthus gibbosus* venomları üzerinde biyokimyasal ve farmakolojik çalışmalar görülmekle birlikte yeterli değildir ve özellikle vas deferens üzerindeki etkiler ilk kez bu çalışmada ortaya konulmuştur. Venomların santral ve kardiyovasküler etkilerinin de bulunduğu dikkate alınacak olursa bu sistemlerdeki etkilerinin, vas deferens'den elde edilen bulgularımız ışığında çalışılması ve özellikle venomların fraksiyonlanması sonucunda elde edilecek toksinler ile yeni çalışmaların yapılmasına gereksinim bulunmaktadır. *Androctonus crassicauda* venomunun K<sup>+</sup> kanallarıyla etkileştiğinin gösterilmiş olmasının yanı sıra *Mesobuthus gibbosus* venomunun farklı inaktif olmayıp farklı açıdan farmakolojik aktivite göstermiş olması, bu alanda biyokimyasal ve farmakolojik birçok yeni çalışmaya gereksinim olduğunu göstermektedir.

Yapılacak yeni çalışmalar ile venomların toksik ve spesifik etkilerinin anlaşılmasının yanı sıra, biyoinformatik alanındaki yeni gelişmeler ile birlikte değerlendirildiğinde, daha önce bilinmeyen yeni etki yöreleriyle etkileşen yeni ilaç moleküllerinin keşfi olasıdır.

## KAYNAKLAR

Abroug, F., Nouria, S., El Atrous, S., Besbes, L., Boukef, R., Boussarsar, M., Marghli, S., Eurin, J., Barthelemy, C., El Ayeb, M., Dellagi, K., Carayon, A., A canine study of immunotherapy in scorpion envenomation, *Intensive Care Med.*, 29, 2266 – 2276 (2003).

Adiguzel, S., Ozkan, O., Inceoglu, B., Epidemiological and clinical characteristics of scorpionism in children in Sanliurfa, Turkey, *Toxicon*, 49, 875 – 880 (2007).

Al-Saleh, S.S., Ghneim, H.K., Haddad, H.Y., Khan, S.U., Separation and purification of *Echis coloratus* venom and some biological and biochemical effects of the proteins, *Cell Biochem. Funct.*, 20, 153 – 162 (2002).

Altan, M., Urfa Yöresi *Androctonus crassicauda* Akrep Zehirinin DeneY Hayvanlarındaki Farmakolojik Etkileri ile Bu Etkilerden Birçoğuna Streptomisin'in Antagonistik Cevapları, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Kürsüsü, Ankara, Türkiye (1979).

Alves, R.S., Nascimento, N.R.F., Barbosa, P.S., Kerntopf, M.R., Lessa, L.M., Sousa, C.M., Martins, R.D., Sousa, D.F., Queiroz, M.G., Toyama, M.H., Fonteles, M.C., Martins, A.M., Monteiro, H.S., Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom, *Toxicon*, 46, 271 – 276 (2005).

Amitai, Y., Mines, Y., Aker, M., Goitein, K., Scorpion sting in children: a review of 51 cases, *Clin. Pediatr.*, 24, 136 – 140 (1985).

Auguste, P., Hugues, M., Mourre, C., Moinier, D., Tartar, A., Lazdunski, M., Scyllatoxin, A blocker of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels; structure, function relationships and brain localization of the binding sites, *Biochemistry*, 31, 648 – 654 (1992).

Ay, I., Tuncer, M., Onur, R., Effects of *Androctonus crassicauda* scorpion venom on endothelium-dependent and independent vascular responses of rabbit aorta, *Gen. Pharmac.*, 27, 519 – 523 (1996).

Bagchi, S., Deshpande, S.B., Indian red scorpion (*Buthus tamulus*) venom-induced augmentation of cardiac reflex is mediated through the involvement of peripheral 5-HT<sub>3</sub> and central 5-HT<sub>1A</sub> receptor subtypes, *Toxicon*, 37, 1697 – 1709 (1999).

Bai, Z.T., Zhao, R., Zhang, X.Y., Chen, J., Liu, T., Ji, Y.H., The epileptic seizures induced by BmK I, a modulator of sodium channels, *Exp. Neurol.*, 197, 167 – 176 (2006).



Barhanin, J., Giglio, J.R., Leopold, P., Schmid, A., Sampaio, S.V., Lazdunski, M., *Tityus serrulatus* venom contains two classes of toxins. Tityus gamma toxin is a new toll with a very high affinity for studying the Na<sup>+</sup> channel, J. Biol. Chem., 257, 12553 – 12558 (1982).

Barhanin, J., Pauron, D., Lombet, A., Norman, R.I., Vijverberg, H.P., Giglio, J.R., Lazdunski, M., Electrophysiological characterization, solubilization and purification of the Tityus gamma toxin receptor associated with the gating component of the Na<sup>+</sup> channel from rat brain, EMBO J., 2, 915 – 920 (1983).

Batista, C.V.F., Gómez – Lagunas, F., Rodriguez de la Vega, R.C., Hadju, P., Panyi, G., Gáspar, R., Possani, L.D., Two novel toxins from the Amazonian scorpion *Tityus cambridgei* that block Kv1.3 and Shaker B K<sup>+</sup>-channels with distinctly different affinities, Biochim. Biophys. Acta, 1601, 123 – 131 (2002).

Bawaskar, H.S., Bawaskar P.H., Abroug F., Nourira S., Elatrous S., Management of scorpion sting, Heart, 82, 253 – 256 (1999).

Bawaskar, H.S., Bawaskar, P.H., Scorpion sting: a review of 121 cases, WMS, 2, 164 – 174 (1991).

Bawaskar, H.S., Bawaskar, P.H., Stings by red scorpions (*Buthotus tamulus*) in Maharashtra state, India: a clinical study, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 83, 858 – 860 (1989).

Bawaskar, H.S., Diagnostic cardiac premonitory signs and symptoms of red scorpion sting, Lancet, 1, 552 – 554 (1982).

Becerril, B., Corona, M., Garcia, C., Bolivar, F., Possani, L.D., Cloning of genes encoding scorpion toxins: an interpretative review, J. Toxicol. Toxin Rev., 14, 339 – 357 (1995).

Becerril, B., Marangoni, S., Possani, L.D., Toxins and gens isolated from scorpions of the genus Tityus, Toxicon, 35, 821 – 835 (1997).

Bektas, N., Aydin, S., Caliskan, F.: *Androctonus crassicauda* türü akrep venomunun vas deferens üzerinde fenilefrin ve KCl cevapları üzerine etkisi. 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 28 Eylül – 1 Ekim 2005, İzmir, Bildiri Özet Kitabı s. 363 (2005).

Bernard, P., Couraud, F., Lissitzky, S., Effects of a scorpion toxin from *Androctonus australis* venom on action potential of neuroblastoma cells in culture, Biochem. Biophys. Res. Commun. 77, 782 – 788 (1977).

Bezprozvanny, I., Tsien R. W., Voltage-dependent blockade of diverse types of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels expressed in *Xenopus oocytes* by the Ca<sup>2+</sup> channel antagonist mibefradil, Mol. Pharmacol., 48, 540 – 549 (1995).

- Bhattacharya, S.K., Anxiogenic activity of centrally administered scorpion (*Mesobuthus tamulus*) venom in rats, *Toxicon*, 33, 1491 – 1499 (1995).
- Bomfim, J.H.G.G., Godoy, M.A.F., Giglio, J.R., Oliveira, A.M., Arantes, E.C., Effects induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its toxins TsTX-I and TsTX-V on the rat isolated retractor penis muscle, *Pharmacology*, 73, 190 – 198 (2005).
- Bonmatin, J.M., Bonnat, J.L., Gallet, X., Vovelle, F., Ptak, M., Reichart, J.M., Hoffmann, J., Keppi, E., Legrain, M., Achstetter, T., Two-dimensional <sup>1</sup>H NMR study of recombinant insect defensin A in water: Resonance assignments, secondary structure and global folding, *J. Biomol.*, 2, 235 – 256 (1992).
- Bontems, F., Roumestand, C., Gilquin, B., Ménez, A., Toma, F., Refined structure of charybdotoxin: Common motifs in scorpion toxins and insect defensins, *Science*, 254, 1521 – 1523 (1991).
- Bormann, J., Electrophysiology of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptor subtypes, *Trends Neuro. Sci.*, 11, 112 – 116 (1988).
- Bruning, T.A., Hendriks, M.G., Chang, P.C., Kuypers, E.A., van Zwieten, P.A., In vivo characterization of vasodilating muscarinic-receptor subtypes in humans, *Circ. Res.*, 74, 912 – 919 (1994).
- Buck, E., Zimanyi, I., Abramson, J.J., Pessah, I.N., Ryanodine stabilizes multiple conformational states of the skeletal muscle calcium release channel, *J. Biol. Chem.*, 267, 23560 – 23567 (1992).
- Bull, R., Marengo, J.J., Suárez-Isla, B.A., Donoso, P., Sutko, J.L., Hidalgo, C., Activation of calcium channels in sarcoplasmic reticulum from frog muscle by nanomolar concentrations of ryanodine, *Biophys. J.*, 56, 749 – 756 (1989).
- Caliskan, F., García, B.I., Coronas, F.I., Batista, C.V., Zamudio, F.Z., Possani, L.D., Characterization of venom components from the scorpion *Androctonus crassicauda* of Turkey: peptides and genes, *Toxicon*, 48, 12 – 22 (2006).
- Cakmak, A., Caliskan, F., Aydin, S., Ozturk, Y.: Contractile activity of scorpion *Androctonus crassicauda* venom on isolated rat vas deferens. The 15th IUPHAR World Congress of Pharmacology (IUPHAR2006), Beijing, China, July 2 – 7, (2006).
- Carbone, E., Prestipino, G., Franciolini, F., Dent, M.A., Possani, L.D., Selective modification of the squid axon Na currents by *Centruroides noxius* toxin II – 10, *J. Physiol.*, 79, 179 – 184 (1984).
- Carbone, E., Wanke, E., Prestipino, G., Possani, L.D., Maelicke, A., Selective blockage of voltage-dependent K<sup>+</sup> channels by a novel scorpion toxin, *Nature*, 296, 90 – 91 (1982).

Carvalho, F.F., Nencioni, A.L.A., Lebrun, I., Dorce, V.A.C. and Sandoval, M.R.L., Convulsive effects of some isolated venom fractions of the *Tityus serrulatus* scorpion: behavioural, electroencephalographic, and neuropathological aspects, *Jour. Venom. Anim. Toxin.*, 6, 238 – 260 (2000).

Catterall, W.A., Purification of a toxic protein from scorpion venom which activates the action potential  $\text{Na}^+$  ionophore, *J. Biol. Chem.*, 251, 5528 – 5536 (1976).

Catterall, W.A., Structure and function of voltage-gated ion channels, *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 493 – 531 (1995).

Catterall, S., Beress, L., Sea anemone toxin and scorpion toxin share a common receptor site associated with the action potential sodium ionophore, *J. Biol. Chem.*, 253, 7393 – 7396 (1978).

Catterall, W.A., Binding of scorpion toxin to receptor sites associated with sodium channels in frog muscle. Correlation of voltage-dependent binding with activation, *J. Gen. Physiol.*, 74, 375 – 391 (1979).

Catterall, W.A., Neurotoxins that act on voltage sensitive sodium channels in excitable membranes, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 20, 15 – 43 (1980).

Catterall, W.A., Chandy, K.G., Gutman, G.A., *The IUPHAR Compendium of Voltage-gated ion channels*. IUPHAR, 2002.

Cestele, S., Catterall, W.A., Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage – gated sodium channels, *Biochimie*, 883 – 892 (2000).

Cestele, S., Qu, Y., Rogers, J.C., Rochat, H., Scheuer, T., Catterall, W.A., Voltage sensor – trapping: Enhanced activation of sodium channels by beta – scorpion toxin bound to the S3–S4 loop in domain II, *Neuron*, 21, 919 – 931 (1998).

Chen, B., Ji, Y.H., Antihyperalgesia effect of BmK AS, a scorpion toxin, in rat by intraplantar injection, *Brain Res.*, 952, 322 – 326 (2002b).

Chen, B., Wang, C.Y., Ji, Y.H., Scorpion BmK venom induces nociceptive of rats by plantar injection, *Neurotoxicol. Teratol.*, 23, 675 – 678 (2001).

Chen, B., Wang, C.Y., Zuo, X.P., Ji, Y.H., Asia scorpion BmK venom induces plasma extravasation and thermal hyperalgesia of rat, *Toxicon*, 40, 527 – 533 (2002a).

Chen, C., Hess, P., Mechanism of gating of T-type calcium channels, *J. Gen. Physiol.*, 96, 603 – 630 (1990).

Chen, H., Heinemann, S.H., Interaction of scorpion alpha – toxins with cardiac sodium channels: binding properties and enhancement of slow inactivation, *J. Gen. Physiol.*, 117, 505 – 518 (2001).

Chen, H., Lu, S., Leipold, E., Gordon, D., Hansel, A., Heinemann, S.H., Differential sensitivity of sodium channels from the central and peripheral nervous system to the scorpion toxins Lqh2 and Lqh3, *Eur. J. Neurosci.*, 16, 767 – 770 (2002).

Chen, J., Tan, Z.Y., Zhao, R., Feng, X.H., Shi, J., Ji, Y.H., The modulation effects of BmK I, an alpha-like scorpion neurotoxin, on voltage-gated Na<sup>+</sup> currents in rat dorsal root ganglion neurons, *Neurosci. Lett.*, 390, 66 – 71 (2005).

Chu, A., Diaz-Munoz, M., Hawkes, M.J., Brush, K., Hamilton, S.L., Ryanodine as a probe for the functional state of the skeletal muscle sarcoplasmic reticulum calcium release channel, *Mol. Pharmacol.*, 37, 735 – 741 (1990).

Chuang, R.S., Jaffe, H., Cribbs, L., Perez – Reyes, E., Swartz, K.J., Inhibition of T – type voltage – gated calcium channels by a new scorpion toxin, *Nat. Neurosci.*, 1, 668 – 674 (1998).

Chung, C.Y., Funamoto, S., Firtel, R.A., Signaling pathways controlling cell polarity and chemotaxis, *Trends Biochem. Sci.*, 26, 557 – 566 (2001).

Clot-Faybesse, O., Devaux, C., Rochat, H., Guieu, R., In vivo neurotoxicity of *Androctonus australis* hector scorpion venom: evidence that the supra-thoracic nervous system is not implicated in the clinical manifestations, *Toxicon*, 39, 1003 – 1007 (2000).

Clot-Faybesse, O., Devaux, C., Rochat, H., Guieu, R., In vivo neurotoxicity of *Androctonus australis* hector scorpion venom: evidence that the supra-thoracic nervous system is not implicated in the clinical manifestations, *Toxicon*, 39, 1003 – 1007 (2001).

Cohen, C. J., McCarthy, R. T., Barrett, P. Q., Rasmussen, H., Ca<sup>2+</sup> channels in adrenal glomerulosa cells: K<sup>+</sup> and angiotensin II increase Ttype Ca<sup>2+</sup> current, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 2412 – 2416 (1988).

Cohen, L., Karbat, I., Gilles, N., Ilan, N., Benveniste, M., Gordon, D., Gurevitz, M., common features in the functional surface of scorpion beta – toxins and elements that confer specificity for insect and mammalian voltage – gated sodium channels, *J. Biol. Chem.*, 280, 5045 – 5053 (2005).

Corona, M., Coronas, F.V., Merino, E., Becerril, B., Gutiérrez, R., Rebolledo-Antunez, S., Garcia, D.E., Possani, L.D., A novel class of peptide found in scorpion venom with neurodepressant effects in peripheral and central nervous system of the rat, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1649, 58 – 67 (2003).

Corona, M., Gurrola, G.B., Merino, E., Restano – Cassulini, R., Valdez – Cruz, N.A., Garcia, B., Ramirez – Dominguez, M.E., Coronas, F.I.V., Zamudio, F.Z., Wanke, E., Possani, L.D., A large number of novel Ergotoxin – like peptides from scorpions of the genus *Centruroides*, *FEBS Lett.*, 532, 121 – 126 (2002).

Correa, M.M., Sampio, S.V., Lopes, R.A., Mancuso, L.C., Cunha, O.A., Franco, J.J., Giglio, J.R., Biochemical and histopathological alterations induced in rats by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major neurotoxin tityustoxin-1, *Toxicon*, 35, 1053 – 1067 (1997).

Couraud, F., Jover, E., Dubois, J.M., Rochat, H., Two types of scorpion receptor sites, one related to the activation, the other to the inactivation of the action potential sodium channel, *Toxicon*, 20, 9 – 16 (1982).

Couraud, F., Rochat, H., Lissitzky, S., Binding of scorpion and sea anemone neurotoxins to a common site related to the action potential  $\text{Na}^+$  ionophore in neuroblastoma cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 83, 1525 – 1530 (1978).

Crest, M., Jacquet, G., Gola, M., Zerrouk, H., Benslimane, A., Rochat, H., Mansuelle, P., Martin-Eauclaire, M.F., Kaliotoxin, a novel peptidyl inhibitor of neuronal BK-type  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channels characterized from *Androctonus mauretanicus* mauretanicus venom, *J. Biol. Chem.*, 267, 1640 – 1647 (1992).

Cui, M., Shen, J., Briggs, J.M., Fu, W., Wu, J., Zhang, Y., Luo, X., Chi, Z., Ji, R., Brownian dynamics simulations of the recognition of the scorpion toxin P05 with the small – conductance calcium – activated potassium channels, *J. Mol. Biol.*, 318, 417 – 428 (2002).

Dauplais, M., Gilquin, B., Possani, L.D., Gurrola–Briones, G., Roumestand, C., Menaz, A., Determination of the three dimensional solution structure of noxiustoxin: analysis of structural differences with related short–chain scorpion toxins, *Biochemistry*, 34, 16563–16573 (1995).

Dauplais, M., Lecoq, A., Song, J., Cotton, J., Jamin, N., Gilquin, B., Roumestand, C., Vita, C., de Medeiros, C.L., Rowan, E.G., Harvey, A.L., Menez, A., On the convergent evolution of animal toxins. Conservation of a diad of functional residues in potassium channel – blocking toxins with unrelated structures, *J. Biol. Chem.*, 272, 4302 – 4309 (1997).

Debin, J.A., Maggio, J.E., Strichartz, G.R., Purification and characterization of chlorotoxin, a chloride channel ligand from the venom of the scorpion, *Am. J. Physiol.*, 264, 361 – 369 (1993).

Debin, J.A., Strichartz, G.R., Chloride channel inhibition by the venom of the scorpion *Leiurus quinquestriatus*, *Toxicon*, 29, 1403 – 1411 (1991).

Dehesa–Davila, M., Possani, L.D., Scorpionism and serotherapy in Mexico, *Toxicon*, 32, 1015 – 1018 (1994).

Demirsoy, A., Yaşamın Temel Kuralları, Cilt II – Kısım I, Meteksan Yayınevi, Ankara, 734 – 740, 1997.

Deshpande, S.B., Alex, A.B., On the management of scorpion sting, *Heart*, 83, 585–586 (2000).

Deshpande, S.B., Bagchi, S., Rai, O.P., Aryya, N.C., Pulmonary edema produced by scorpion venom augments a phenyldiguanide-induced reflex response in anaesthetized rats, *J. Physiol.*, 521, 537 – 544 (1999).

Dhawan, R., Varshney, A., Mathew, M.K., Lala, A.K., BTK -2, a new inhibitor of the Kv1.1. Potassium channel purified from Indian scorpion *Buthus tamulus*, *FEBS Lett.*, 539, 7 – 13 (2003).

Diaz-Munoz, M., Hamilton, S.L., Kaetzel, M.A., Hazarika, P., Dedman, J.R., Modulation of Ca<sup>2+</sup> release channel activity from sarcoplasmic reticulum by annexin VI (67-kDa calcimedin), *J. Biol. Chem.*, 265, 15894 – 15899 (1990).

Did-Hajj, S.D., Tyrrell, L., Cummins, T.R., Black, J.A., Wood, P.M. and Waxman, S.G., Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons, *FEBS Letters*, 462, 117–120 (1999).

Dittrich K., Hemodynamic patterns in patients with scorpion envenomation. *Heart*, 79, 485 – 489 (1998).

Dittrich, K., Power, A.P., Smith, N.A., Scorpion sting syndrome—a ten year experience, *The Annals of Saudimedicine*, 15, 148 – 155 (1995).

Dorce, V.A.C., Sandoval, M.R.L., Effects of *Tityus serrulatus* crude venom on the GABAergic and dopaminergic systems on the rat brain, *Toxicon*, 32, 1641 – 1647 (1994).

Doyle, D.A., Cabral, J.M., Pfeutzner, R.A., Kuo, A., Gulbis, J.M., Cohen, S.L., Chait, B.T., MacKinnon, R., The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity, *Science*, 280, 69 – 76 (1998).

D'Suze, G., Batista, C.V., Frau, A., Murgia, A.R., Zamudio, F.Z., Sevcik, C., Possani, L.D., Prestipino, G., Discrepin, a new peptide of the sub-family alpha-ktx15, isolated from the scorpion *Tityus discrepans* irreversibly blocks K<sup>+</sup>-channels (IA currents) of cerebellum granular cells, *Arch. Biochem. Biophys.*, 430, 256 – 263 (2004).

Dutzler, R., Campbell E.B., Cadene M., Chait B.T., MacKinnon R., X-ray structure of a CIC chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity, *Nature*, 415, 287 – 294 (2002).

Eccles, C.U., Rogowski, R.S., Gu, X., Alger, B.E., Blaustein, M.P., Tityustoxin-Ka, from scorpion venom, blocks voltagegated, non-inactivating potassium current in cultured central neurons, *Neuropharmacology*, 33, 1523 – 1528 (1994).

El-Hayek, R., Antoniu, B., Wang, J., Hamilton, S.L., Ikemoto, N., Identification of calcium release-triggering and blocking regions of the II-III loop of the skeletal muscle dihydropyridine receptor, *J. Biol. Chem.*, 270, 22116 – 22118 (1995b).

El-Hayek, R., Lokuta, A.J., Arevalo, C., Valdivia, H.H., Peptide probe of ryanodine receptor function. Imperatoxin a, a peptide from the venom of the scorpion *Pandinus imperator*, selectively activates skeletal-type ryanodine receptor isoforms, *J. Biol. Chem.*, 270, 28696 – 28704 (1995a).

El-Hayek, R., Valdivia, C., Valdivia, H.H., Hogan, K., Coronado, R., Activation of the Ca<sup>2+</sup> release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum by palmitoyl carnitine, *Biophys. J.*, 65, 779 – 789 (1993).

Ellerkmann, R.K., Remy, S., Chen, J., Sochivko, D., Elger, C.E., Urban, B.W., Becker, A., Beck, H., Molecular and functional changes in voltage dependent Na<sup>+</sup> channels following pilocarpine-induced status epilepticus in rat dentate granule cells, *Neuroscience*, 119, 323 – 333 (2003).

Ellisman, M.H., Deerinck, T.J., Ouyang, Y., Beck, C.F., Tanksley, S.J., Walton, P.D., Airey, J.A., Sutko, J.L., Identification and localization of ryanodine binding proteins in the avian central nervous system, *Neuron*, 5, 135 – 146 (1990).

El-Saadani, M.A., A scorpion venom peptide fraction induced prostaglandin biosynthesis in guinea pig kidneys: incorporation of 14C-linoleic acid, *J. Biochem.*, 135, 109 – 116 (2004).

Facheris, D., New localities of *Iurus dufourei dufourei* (Brullé, 1832) in the Peloponnese, Greece (Scorpiones: Iuridae), *Euscorpius*, 52, 1 – 4 (2007).

Fajloun, Z., Kharrat, R., Chen, L., Lecomte, C., Di Luccio, E., Bichet, D., El Ayeb, M., Rochat, H., Allen, P.D., Pessah, I.N., De Waard, M., Sabatier, J.M., Chemical synthesis and characterization of maurocalcine, a scorpion toxin that activates Ca<sup>2+</sup> release channel/ryanodine receptors, *FEBS Lett.*, 469, 179 – 85 (2000).

Fatani, A.J., Furman, B.L., Zeitlin, I.J., The involvement of plasma kinins in the cardiovascular effects of *Leiurus quinquestriatus* scorpion venom in anesthetized rabbits, *Toxicon*, 36, 523 – 536 (1998).

Fatani, A.J., Harvey, A.L., Furman, B.L., Rowan, E.G., The effects of lignocaine on actions of the venom from the yellow scorpion "*Leiurus quinquestriatus*" in vivo and in vitro, *Toxicon*, 38, 1787 – 1801 (2000).

Fet, V., Braunwalder, M.E., 2000, The scorpions (Arachnida: Scorpiones) of the Aegean area: current problems in taxonomy and biogeography, Belg. J. Zool., 130, 17 – 22 (2000).

Fet, V., Notes on the taxonomy of some Old World scorpions (Scorpiones: Buthidae, Chactidae, Ischnuridae, Scorpionidae), J. Arachnol., 25, 245 – 250 (1997b).

Fet, V., Research note a note on *Euscorpium carpathicus* (Scorpiones: Chactidae) from the Crimea, J. Arachnol., 25, 106 – 108 (1997a).

Fontecilla – Camps, J.C., Alamassy, R.J., Suddath, F.L., Watt, D.D., Bugg, C.E., Three – dimensional structure of a protein from scorpion venom: a new structural class of neurotoxins, Proc. Natl. Acad. Sci., 77, 6496 – 6500 (1980).

Fontecilla–Camps, J.C., Almassy, R.J., Suddath, F.L., Bugg, C.E., The three dimensional structure of scorpion neurotoxins, Toxicon, 20, 1 – 7 (1982).

Froy, O., Gurevitz, M., New insight on scorpion divergence inferred from comparative analysis of toxin structure, pharmacology and distribution, Toxicon, 42, 549 – 555 (2003).

Froy, O., Zilberberg, N., Gordon, D., Turkov, M., Gilles, N. Stankiewicz, M., Pelhate, M., Loret, E., Oren, D.A., Shaanan, B., Gurevitz, M., The putative bioactive surface of insect selective scorpion excitatory neurotoxins, J. Biol. Chem., 274, 5769 – 5776 (1999).

Gajre, G., Dammas, A.S., Scorpion envenomation in children: Should all stings be given antivenom?, Ann. Saudi Med., 19, 444 – 446 (1999).

Galvez, A., Gimenez-Gallego, G., Reuben, J.P., Roy-Contancin, L., Feigenbaum, P., Kaczorowski, G.J., Garcia, M.L., Purification and characterization of a unique, potent, peptidyl probe for the high conductance calcium-activated potassium channel from venom of the scorpion *Buthus tamulus*, J. Biol. Chem., 265, 11083 – 11090 (1990).

Garcia, C., Becerril, B., Selisko, B., Delepierre, M., Possani, L.D., Isolation, characterization and comparison of a novel crustacean toxin with a mammalian toxin from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann, Comp. Biochem. Physiol., 116, 315–322 (1997a).

Garcia, M.L., Gao, Y., McManus, O.B., Kaczorowski, G.J., Potassium channels: from scorpion venom to high-resolution structure, Toxicon, 39, 739–748 (2001).

Garcia, M.L., Garcia-Calvo, M., Hidalgo, P., Lee, A., MacKinnon, R., Purification and characterization of three inhibitors of voltage-dependent K<sup>+</sup> channels from *Leiurus quinquestriatus* var. *hebraeus* venom, Biochemistry, 33, 6834 – 6839 (1994).



Garcia, M.L., Hanner, M., Knaus, H-G., Koch, R., Schmalhofer, W., Slaughter, R.S. and Kaczorowski, G.J., Pharmacology of potassium channels, *Adv. Pharmacol.*, 39, 425 – 471(1997b).

Garcia, M.L., Knaus, H.G., Munujos, P., Slaughter, R.S., Kaczorowski, G.J., Charybdotoxin and its effects on potassium channels, *Am. J. Physiol.*, 269, 1–10 (1995).

Garcia-Calvo, M., Leonard, R.J., Novick, J., Stevens, S.P., Schmalhofer, W., Kaczorowski, G.J., Garcia, M.L., Purification, characterization, and biosynthesis of margatoxin, a component of *Centruroides margaritatus* venom that selectively inhibits voltage-dependent potassium channels, *J. Biol. Chem.*, 268, 18866 – 18874 (1993).

Giangiaco, K.M., Garcia, M.L., McManus, O.B., Mechanism of iberiotoxin block of the large-conductance calcium-activated potassium channel from bovine aortic smooth muscle, *Biochemistry*, 31(29), 6719 – 6727 (1992).

Giangiaco, K.M., Gabriel, J., Fremont, V., Mullmann, T.J., Probing the structure and function of potassium channels with  $\alpha$ -K toxin blockers, *Perspect. Drug Discov.*, 15, 167 – 186 (1999).

Giannini, G., Clementi, E., Ceci, R., Marziali, G., Sorrentino, V., Expression of a ryanodine receptor-Ca<sup>2+</sup> channel that is regulated by TGF-beta, *Science*, 257, 91 – 94 (1992).

Gibson, A., McFadzean, I., Biology of the anococcygeus muscle, *Int. Rev. Cytol.*, 205, 1 – 35 (2001).

Goldstein, S.A.N., Miller, C., Mechanism of charybdotoxin block of a voltage – gated K<sup>+</sup> channel, *Biophys. J.*, 65, 1613 – 1619 (1993).

Gomez – Lagunas, F., Olamendi – Portugal, T., Zamudio, F.Z., Possani, L.D., Two novel toxins from the venom of the scorpion *Pandinus imperator* show that the N-terminal amino acid sequence is important for their affinities towards Shaker B K<sup>+</sup> channels, *J. Membr. Biol.*, 152, 49 – 56 (1996).

Gong, J.P., Kini, R.M., Gwee, M.E., Gopalakrishnakone, P., Chung, M.M., Makatoxin I, a novel toxin isolated from the venom of the scorpion *Buthus martensii* Karsch, exhibits nitrenergic actions, *J. Biol. Chem.*, 272, 8320–8324 (1997).

Gopalakrishnakone P., Gwee M.C.E., Wong P.T.H., The black scorpion. (*Heterometrus longimanus*): Structure of the venom secreting apparatus, *J. Nat. Toxins*, 4, 1 – 18 (1995b).

Gopalakrishnakone, P., Cheah, J., Gwee, M.C.E., Black scorpion (*Heterometrus longimanus*) as a laboratory animal: maintenance of a colony of scorpion for milking of venom for research, using a restraining device, *Lab. Anim.*, 29, 456 – 458 (1995a).

Gordon, D., Ilan, N., Zilberberg, N., Gilles, N., Urbach, D., Cohen, L., Karbat, I., Froy, O., Gaathon, A., Kalen, R.G., Benveniste, M., Gurevitz, M., An 'Old World' scorpion beta – toxin that recognizes both insect and mammalian sodium channels, *Eur. J. Biochem.*, 270, 2663 – 2670 (2003).

Gordon, D., Martin – Eauclaire, M-F., Cetele, S., Kopeyan, C., Carlier, E., Ben Khalifa, R., Pelhate, M., Rochat, H., Scorpion toxins affecting sodium current inactivation bind to distinct homologous receptor sites on rat brain and insect sodium channels, *J. Biol. Chem.*, 271, 8034 – 8045 (1996).

Goudet, C., Chi, C.W., Tytgat, J., An overview of toxins and genes from the venom of the asian scorpion *Buthus martensi* Karsch, *Toxicon*, 40, 1239 – 1258 (2002).

Goyffon, M., Vachon, M., Broglio, M., Epidemiological and clinical characteristics of the scorpion envenomation in Tunisia, *Toxicon*, 1, 337 – 344 (1982).

Guan, R.J., Wang, C.G., Wang, M., Wang, D.C., A depressant insect toxin with a novel analgesic effect from scorpion *Buthus martensii* Karsch, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1549, 9–18 (2001a).

Guan, R.J., Wang, M., Wang, D., Wang, D.C., A new insect neurotoxin AngP1 with analgesic effect from the scorpion *Buthus martensi* Karsch: purification and characterization, *J. Pept. Res.*, 58, 27–35 (2001b).

Gueron, M., Ilia, R., Sofer, S., The cardiovascular system after scorpion envenomation, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 30, 245 – 258 (1992).

Gurrola, G.B., Arevalo, C., Sreekumar, R., Lokuta, A.J., Walker, J.W., Valdivia, H.H., Activation of ryanodine receptors by imperatoxin A and a peptide segment of the II-III loop of the dihydropyridine receptor, *J. Biol. Chem.*, 274, 7879 – 7886 (1999).

Gurrola, G.B., Molinar-Rode, R., Sitges, M., Bayon, A., Possani, L.D., Synthetic peptides corresponding to the sequence of noxiustoxin indicate that the active site of this K<sup>+</sup> channel blocker is located on its amino-terminal portion, *J. Neural. Transm.*, 77, 11 – 20 (1989).

Gwee, M.C., Cheah, L.S., Gopalakrishnakone, P., Involvement of the L-arginine-nitric oxide synthase pathway in the relaxant responses of the rat isolated anococcygeus muscle to a scorpion (*Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*) venom, *Toxicon*, 33, 1141 – 1150 (1995).

Gwee, M.C., Cheah, L.S., Gopalakrishnakone, P., Wong, P.T., Prejunctional action of the venom from the Indian red scorpion *Mesobuthus tamulus* on adrenergic transmission in vitro, *Toxicon*, 32, 201 – 209 (1994).

Gwee, M.C.E., Gopalakrishnakone, P., Cheah, L.S., Wong, P.T.H., Gong, J.P., Kini, R.M., Studies on venom from the Black scorpion *Heterometrus longimanus* and some other scorpion species, *J. Toxicol., Toxin Rev.*, 15, 37 – 57 (1996).

Gwee, M.C.E., Nirthanan, S., Khoo, H., Gopalakrishnakone, P., Kini, R.M., Cheah, L., Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 29, 795 – 801 (2002).

Gwee, M.C.E., Wong, P.T.H., Gopalakrishnakone, P., Cheah, L.S., Low, K.Y., The black scorpion *Heterometrus longimanus*: Pharmacological and biochemical investigation of the venom, *Toxicon*, 31, 1305 – 1314 (1993).

Habersetzer – Rochat, C., Sampieri, F., Structure – function relationships of scorpion neurotoxins, *Biochemistry*, 15, 2254 – 2261 (1976).

Hagiwara, N., Irisawa, H., Kameyama, M., Contribution of two types of calcium currents to the pacemaker potentials of rabbit sino-atrial node cells, *J. Physiol.*, 395, 233 – 253 (1988).

Hakamata, Y., Nakai, J., Takeshima, H., Imoto, K., Primary structure and distribution of a novel ryanodine receptor/calcium release channel from rabbit brain, *FEBS Lett.*, 312, 229 – 235 (1992).

Harootunian, A.T., Kao, J.P., Paranjape, S., Adams, S.R., Potter, B.V., Tsien, R.Y., Cytosolic  $Ca^{2+}$  oscillations in REF52 fibroblasts:  $Ca^{2+}$ -stimulated IP3 production or voltage-dependent  $Ca^{2+}$  channels as key positive feedback elements, *Cell Calcium*, 12, 153 – 164 (1991).

Harvey, A.L., Marshall, D.L., Possani, L.D., Dendrotoxin-like effects of noxiustoxin, *Toxicon*, 30, 1497 – 1500 (1992).

Harvey, A.L., Scorpion envenoming: An introduction, *Toxicon*, 32, 1007 (1994).

Hassani, O., Mansuelle, P., Cestele, S., Bourdeaux, M., Rochat, H., Sampieri, F., Role of lysine and tryptophan residues in the biological activity of toxin VII (Ts gamma) from the scorpion *Tityus serrulatus*, *Eur. J. Biochem.*, 260, 76 – 86 (1999).

Herrmann-Frank, A., Darling, E., Meissner, G., Functional characterization of the  $Ca^{2+}$ -gated  $Ca^{2+}$  release channel of vascular smooth muscle sarcoplasmic reticulum, *Pflugers Arch.*, 418, 353 – 359 (1991).

Hershkovich, Y., Elitsur, Y., Margolis, C.Z., Barak, N., Sofer, S., Moses, S.W., Criteria map audit of scorpion envenomation in Negev. Israel., *Toxicon*, 23, 845 – 854 (1985).

**http-1** Image: Black scorpion.jpg, [http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Black\\_scorpion.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Black_scorpion.jpg) (25.06.2007).

**http-2** gibbosus.jpg, [http://www.futura-sciences.com/uploads/tx\\_oxcsfutura/comprendre/d/images/gibbosus.jpg](http://www.futura-sciences.com/uploads/tx_oxcsfutura/comprendre/d/images/gibbosus.jpg) (25.06.2007).

**http-3** Akrep sokmaları (scorpionizm) ve akrep zehirleri, <http://host.nigde.edu.tr/~akaratah/ASZ.htm> (20.06.2007).

**http-4** Effective new autoimmun disease drugs to use scorpion venom, <http://thyroid.about.com/library/weekly/aa071800a.htm> (25.06.2006).

Huguenard, J. R., Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons, *Annu. Rev. Physiol.*, 58, 329 – 348 (1996).

Ignarro, L.J., Bush, P.A., Buga, G.M., Wood, K.S., Fukuto, J.M., Rajfer, J., Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 170, 843 – 850 (1990).

Imagawa, T., Smith, J.S., Coronado, R., Campbell, K.P., Purified ryanodine receptor from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum is the Ca<sup>2+</sup>-permeable pore of the calcium release channel, *J. Biol. Chem.*, 262(34), 16636 – 16643 (1987).

Inui, M., Saito, A., Fleischer, S., Isolation of the ryanodine receptor from cardiac sarcoplasmic reticulum and identity with the feet structures, *J. Biol. Chem.*, 262, 15637 – 15642 (1987).

İsmail, M., Abd-Elsalam, Al-Ahaidib, M.S., *Androctonus crassicauda* (Olivier), A Dangerous and unduly neglected scorpion-I. Pharmacological and clinical studies, *Toxicon*, 32, 1599 – 1618 (1994).

Ismail, M., The scorpion envenoming syndrome, *Toxicon*, 33, 825 – 858 (1995).

Jaimovich, E., Ildefonse, M., Barhanin, J., Rougier, O., Lazdunski, M., Centruroides toxin, a selective blocker of surface Na<sup>+</sup> channels in skeletal muscle: voltage – clamp analysis and biochemical characterization of the receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 3896 – 3900 (1982).

Jayaraman, T., Brillantes, A.M., Timerman, A.P., Fleischer, S., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Marks, A.R., FK506 binding protein associated with the calcium release channel (ryanodine receptor), *J. Biol. Chem.*, 267, 9474 – 9477 (1992).

Jentsch, T.J., Friedrich, T., Schriever, A. and Yamada, H., The ClC chloride channel family, *Eur. J. Physiol.*, 437, 783 – 795 (1999).

Jentsch, T.J., Guèntner, W., Chloride Channels: an Emerging Molecular Picture, *BioEssays*, 19, 117 – 126 (1997).

Jiang, Y.X., Lee, A., Chen, J.Y., Cadene, M., Chait, B.T., MacKinnon, R., Crystal structure and mechanism of a calcium-gated potassium channel, *Nature*, 417, 515 – 522 (2002).

Jover, E., Couraud, F., Rochat, H., Two types of scorpion neurotoxins characterized by their binding to two separate receptor sites on rat brain synaptosomes, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 95, 1607 – 1614 (1980).

Karataş, A. and Karataş, A., *Mesobuthus eupeus* (C.L. Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in Anatolia, *Euscorpius-Occasional Publications in Scorpiology*, 7, 1 – 7 (2003).

Karataş, A., Doğu Akdeniz Bölgesi Akrep (Scorpiones) Faunası, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye (2001).

Ketelaars, S.O., Gorter, J.A., van Vliet, E.A., Lopes da Silva, F.H., Wadman, W.J., Sodium currents in isolated rat CA1 pyramidal and dentate granule neurones in the post-status epilepticus model of epilepsy, *Neuroscience*, 105, 109 – 120 (2001).

Kharrat, R., Darbon, H., Rochat, H., Garnier, C., Structure – activity relationships of scorpion alpha – toxins, Multiple residues contribute to the interaction with receptors, *Eur. J. Biochem.*, 181, 381 – 390 (1989).

Kim, N., Azadzoï, K.M., Goldstein, I., Saenz de Tejada, I., A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic–noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle, *J. Clin. Invest.*, 88, 112–118 (1991).

Kirsch, G.E., Skattebol, A., Possani, L.D., Brown, A.M., Modification of Na channel gating by an alpha scorpion toxin from *Tityus serrulatus*, *J. Gen. Physiol.*, 93, 67 – 83 (1989).

Korolkova, Y.V., Bocharov, E.V., Angelo, K., Maslennikov, I.V., Grinenko, O.V., Lipkin, A.V., Nosyreva, E.D., Pluzhnikov, K.A., Olesen, S.P., Arseniev, A.S., Grishin, E.V., New binding site on common molecular scaffold provides HERG channel specificity of scorpion toxin BeKm-1, *J. Biol. Chem.*, 277, 43104 – 43109 (2002).

Korolkova, Y.V., Kozlov, S.A., Lipkin, A.V., Pluzhnikov, K.A., Hadley, J.K., Filippov, A.K., Brown, D.A., Angelo, K., Strobaek, D., Jespersen, T., Olesen, S.P., Jensen, B.S., Grishin, E.V., An ERG channel inhibitor from the scorpion *Buthus eupeus*, *J. Biol. Chem.*, 276, 9868 – 9876 (2001).

Kovarik, F., First Report of *Compsobuthus matthiesseni* (Scorpionida: Buthidae) from Turkey, *Klapalekiana*, 32, 53 – 55 (1996).

Krifi, M.N., Kharrat, H., Zghal, K., Abdouli, M., Abroug, F., Bouchoucha, S., Dellagi, K., Development of an ELISA for the detection of scorpion venoms in sera of humans envenomed by *Androctonus australis garzonii* (Aag) and *Buthus occitanus tunetanus* (Bot): correlation with clinical severity of envenoming in Tunisia, *Toxicon*, 36, 887 – 900 (1998).

Lai, F.A., Erickson, H.P., Rousseau, E., Liu, Q.Y., Meissner, G., Purification and reconstitution of the calcium release channel from skeletal muscle, *Nature*, 331, 315 – 319 (1988).

Lebreton, F., Delepierre, M., Ramirez, A.N., Balderas, C., Possani, L.D., Primary and NMR three dimensional structure determination of a novel crustacean toxin from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus limpidus* Karsch, *Biochemistry*, 33, 11135 – 11149 (1994).

Lee, H.C., Aarhus, R., Graeff, R., Gurnack, M.E., Walseth, T.F., Cyclic ADP ribose activation of the ryanodine receptor is mediated by calmodulin, *Nature*, 370, 307 – 309 (1994).

Leipold, E., Hansel, A., Olivera, B., Terlau, S., Heinemann, S.H., Molecular interaction of delta – conotoxins with voltage – gated sodium channels, *FEBS Lett.*, 579, 3881 – 3884 (2005).

Lewis, R.J., Garcia, M.L., Therapeutic potential of venom peptides, *Nature reviews, Drug discovery.*, 2, 790 – 802 (2003).

Lindsay, A.R., Tinker, A., Williams, A.J., How does ryanodine modify ion handling in the sheep cardiac sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -release channel?, *J. Gen. Physiol.*, 104, 425 – 447 (1994).

Lin-Shiau, S.Y., Huang, H.C., Lee, C.Y., A comparison of the actions of cobra cardiotoxin and scorpion toxin II on the guinea-pig taenia coli, *Toxicon*, 24, 131 – 139 (1986).

Lippens, G., Najib, J., Wodak, S.J., Tartar, A., NMR sequential assignments and solution structure of chlorotoxin, a small scorpion toxin that blocks chloride channels, *Biochemistry*, 34, 13 – 21 (1995).

- Little, M.J., Wilson, H., Zappia, C., Cestele, S., Tyler, M.I., Marti-Eauclaire, M.F., Gordon, D., Nicholson, G.M., Delta-attractoxins from Australian funnel-web spiders compete with scorpion alpha-toxin binding on both rat brain and insect sodium channels, *FEBS Lett.*, 439, 246 – 252 (1998).
- Liu, Y.F., Ma, R.L., Wang, S.L., Duan, Z.Y., Zhang, J.H., Wu, L.J., Wu, C.F., Expression of an antitumor-analgesic peptide from the venom of Chinese scorpion *Buthus martensi Karsch* in *Escherichia coli*, *Protein Expr Purif.*, 27, 253–258 (2003).
- Loret, E.P., Mansuelle, P., Rochat, H., Garnier, C., Neurotoxins active on insects: amino acid sequences, chemical modifications, and secondary structure estimation by circular dichroism of toxins from the scorpion *Androctonus australis* Hector, *Biochemistry*, 29, 1492 – 1501 (1990).
- Lourenço, G.A., Lebrun, I., Dorce, V.A., Neurotoxic effects of fractions isolated from *Tityus bahiensis* scorpion venom, *Toxicon*, 40, 149-157 (2002).
- MacKinnon, R., Potassium channels, *FEBS Lett.*, 55, 62 – 65 (2004).
- Maertens C., Wei L., Tytgat J., Droogmans G., Nilius B., Chlorotoxin does not inhibit volume-regulated, calcium-activated and cyclic AMP-activated chloride channels, *Br. J. Pharmacol.*, 129(4), 791-801 (2000).
- Magalhaes, M.M., Pereira, M.E., Amaral, C.F., Rezende, N.A., Campolina, D., Bucarechi, F., Gazinelli, R.T., Cunha-Melo, J.R., Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting, *Toxicon*, 37, 155–164 (1999).
- Marban E., Yamagishi T., Tomaselli G.F., Structure and function of voltage-gated sodium channels, *J. Physiol.*, 508, 647 – 657 (1998).
- Martin, M.F., Rochat, H., Large scale purification of toxins from the venom of the scorpion *Androctonus australis* Hector, *Toxicon*, 24, 1131 – 1139 (1986).
- Maruo, V.M., Lebrun, I., Dorce, V.A.C., Effects of scorpion *Tityus serrulatus* venom toxin TS-8F on rat learning and memory, *J. Venom. Anim. Toxins*, 8, 7487 – 7496 (2002).
- McPherson, P.S., Kim, Y.K., Valdivia, H., Knudson, C.M., Takekura, H., Franzini-Armstrong, C., Coronado, R., Campbell, K.P., The brain ryanodine receptor: a caffeine-sensitive calcium release channel, *Neuron*, 7, 17 – 25 (1991).
- Meissner, G., El-Hashem, A., Ryanodine as a functional probe of the skeletal muscle sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  release channel, *Mol. Cell. Biochem.*, 114, 119 – 123 (1992).

Meissner, G., Ryanodine receptor/ $\text{Ca}^{2+}$  release channels and their regulation by endogenous effectors, *Annu. Rev. Physiol.*, 56, 485 – 508 (1994).

Menez, A., Functional architectures of animal toxins: a clue to drug design?, *Toxicon*, 36, 1557 – 1572 (1998).

Merdivenci, A., *Medikal Entomoloji*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 284 – 289, 1981.

Meves, H., Rubly, N., Watt, D.D., Effect of toxins isolated from the venom of the scorpion *Centruroides sculpturatus* on the Na currents of the node of Ranvier, *Pflugers Arch.*, 393, 56 – 62 (1982).

Meves, H., Simard, J.M., Watt, D.D., Interactions of scorpion toxins with the sodium channel, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 479, 113 – 132 (1986).

Meyer, M.D., Decker, M.W., Rueter, L.E., Anderson, D.J., Dart, M.J., Kim, K.H., Sullivan, J.P., Williams, M., The identification of novel structural compound classes exhibiting high affinity for neuronal nicotinic acetylcholine receptors and analgesic efficacy in preclinical models of pain, *Eur. J. Pharmacol.*, 393, 171 – 177 (2000).

Miller, C., Moczydlowski, E., Latorre, R., Phillips, M., Charybdotoxin, a protein inhibitor of single  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels from mammalian skeletal muscle, *Nature (Lond.)*, 313, 316–318 (1985).

Miller, C., The Charybdotoxin family of  $\text{K}^{+}$  channel – blocking peptides, *Neuron*, 15, 5 – 10 (1995).

Moerman, L., Bosteels, S., Noppe, W., Willems, J., Clynen, E., Schoofs, L., Thevissen, K., Tytgat, J., Van Eldere, J., Van Der Walt, J., Verdonck, F., Antibacterial and antifungal properties of alpha-helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa, *Eur. J. Biochem.*, 269(19), 4799 – 4810 (2002).

Morrisette J., Beurg M., Sukhareva M., Coronado R., Purification and characterization of ryanotoxin, a peptide with actions similar to those of ryanodine, *Biophys. J.*, 71, 707 – 721 (1996).

Mozhayeva, G.N., Naumov, A.P., Nosyreva, E.D., Grishin, E.V., Potential – dependent interaction of toxin from venom of the scorpion *Buthus eupeus* with sodium channels in myelinated fibre: voltage clamp experiments, *Biochim. Biophys. Acta*, 597, 587 – 602 (1980).

Murthy, K.R.K., Sheno, R., Vaidyanathan, P., Kelker, K., Sharma, N., Birewar, N., Rao, S., Mehta, M.N., Insulin reverses haemodynamic changes and pulmonary edema in children stung by Indian red scorpion *Mesobuthus tamulus* concanesis, *Pocock, Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 85, 651–657 (1991).



Murthy, K.R.K., The scorpion envenoming syndrome: a different perspective. The physiological basis of the role of insulin in scorpion envenoming, *J. Venom. Anim. Toxins*, 6, 4 – 40 (2000).

Murthy, K.R.K., Zare, M.A., Effect of Indian red scorpion (*Mesobuthus tamulus* concanensis, Pocock) venom on thyroxine and triiodothyronine in experimental myocarditis and its reversal by the species specific antivenom, *Indian J. Exp. Biol.*, 36, 16 – 21 (1997).

Nascimento, E.B., Jr., Costa, K.A., Bertollo, C.M., Oliveira, A.C., Rocha, L.T., Souza, A.L., Glória, M.B., Moraes-Santos, T., Coelho, M.M., Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*, *Toxicon*, 45, 585 – 593 (2005).

Nastainczyk, W., Meves, H., Watt, D.D., A short – chain peptide toxin isolated from *Centruroides sculpturatus* scorpion venom inhibits ether-a-go-go-related gene K<sup>+</sup> channels, *Toxicon*, 40, 1053 – 1058 (2002).

Nencioni, A.L.A., Carvalho, F.F., Lebrun, I., Sandoval, M.R.L. and Dorce, V.A.C., Neurotoxic effects of three fractions isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom, *Pharmacology and Toxicology*, 86, 149 – 155 (2000).

Nieto, A.R., Gurrola, G.B., Vaca, L., Possani, L.D., Noxiustoxin 2, a novel K<sup>+</sup> channel blocking peptide from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann, *Toxicon*, 34, 913 – 922 (1996).

Nirthanan, S., Joseph, J.S., Gopalakrishnakone P., Khoo, H.E., Cheah, L.S., Gwee, M.C.E., Biochemical and pharmacological characterization of the venom of the black scorpion (*Heterometrus spinifer*), *Biochem. Pharmacol.*, 63, 49 – 55 (2002).

Nouira, S., Elatrous, S., Besbes, L., Boukef, R., Devaux, C., Aubrey, N., Elayeb, M., Abroug, F., Neurohormonal activation in severe scorpion envenomation: correlation with hemodynamics and circulating toxin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 208, 111 – 116 (2005).

Olamendi – Portugal, T. Garcia, B.I., Lopez – Gonzalez, I., Van Der Walt, J., Dyason, K., Ulens, C., Tytgat, J., Felix, R., Darszon, A., Possani, L.D., Two new scorpion toxins that target voltage-gated Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> channels, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 299, 562 – 568 (2002).

Olamendi – Portugal, T., Gomez-Lagunas, F., Gurrola, G.B., Possani, L.D., A novel structural class of K<sup>+</sup> *Tityus serrulatus* -channel blocking toxin from the scorpion *Pandinus imperator*, *Biochem. J.*, 315, 977 – 981 (1996).

Oren, D.A., Froy, O., Amit, E., Kleinberger – Doron, N., Gurevitz, M., Shaanan, B., An excitatory scorpion toxin with a distinctive feature: an additional alpha helix at the C terminus and its implications for interaction with insect sodium channels., *Structure*, 6, 1095 – 1103 (1998).

Osborne, R.H., Insect neurotransmission: Neurotransmitters and their receptors, *Pharmacol. Ther.*, 69, 117 – 142 (1996).

Otsu, K., Willard, H.F., Khanna, V.K., Zorzato, F., Green, N.M., MacLennan, D.H., Molecular cloning of cDNA encoding the Ca<sup>2+</sup> release channel (ryanodine receptor) of rabbit cardiac muscle sarcoplasmic reticulum, *J. Biol. Chem.*, 265, 13472 – 13483 (1990).

Ozkan, O., Adıguzel, S., Kar, S., Kurt, M., Yakistiran, S., Cesaretli, Y., Orman, M., Karaer, Z., Effects of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) (scorpiones: Buthidae) venom on rats: correlation among acetylcholinesterase activities and electrolytes levels, *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, 13, 69 – 81 (2007).

Ozkan, O., Adıguzel, S., Yakistiran, S., Cesaretli, Y., Orman, M., Karaer, K.Z., *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807), scorpionism in the Sanliurfa of Turkey, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30, 239 – 245 (2006a).

Ozkan, O., Adıguzel, S., Yakistiran, S., Filazi, A., Study of The Relationship Between *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807; Scorpiones, Buthidae) Venom Toxicity And Telson Size, Weight And Storing Condition, *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, 12, 2, 297 – 309 (2006b).

Özkan, Ö., Filazi, A., *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) türü akrelerden değişik yöntemlerle elde edilen venomların farelerde akut LD<sub>50</sub> miktarlarının belirlenmesi, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 28, 50–53 (2004).

Ozkan, O., Karaer, Z., The scorpions in Turkey, *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 60, 55 – 62 (2003).

Ozkan, O.I., Adıguzel, S.I., Kar, S., Parametric values of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) (scorpiones: buthidae) from Turkey, *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, 12, 549 – 559 (2006).

Pandey, R., Deshpande, S.B., Protective effects of aprotinin on respiratory and cardiac abnormalities induced by *Mesobuthus tamulus* venom in adult rats, *Toxicon*, 44, 201 – 205 (2004).

Parmakelis, A., Stathi, I., Spanos, L., Louis, C., Mylonas, M., Phylogeography of *Iurus dufourei* (Brullé, 1832) (Scorpiones, Iuridae) *Journal of Biogeography*, 33, 251 – 260 (2006).

Pelhate, M., Zlotkin, E., Actions of insect toxin and other toxins derived from the venom of the scorpion *Androctonus australis* in isolated giant axons of the cockroach (*Periplaneta americana*), *J. Exp. Biol.*, 97, 67 – 77 (1982).

Pessah, I.N., Stambuk, R.A., Casida, J.E.,  $\text{Ca}^{2+}$ -activated ryanodine binding: mechanisms of sensitivity and intensity modulation by  $\text{Mg}^{2+}$ , caffeine, and adenine nucleotides, *Mol. Pharmacol.*, 31, 232 – 238 (1987).

Pimenta, A.M.C., Martin-Eauclaire, M., Rochat, H., Figueiredo, S.G., Kalapothakis, E., Afonso, L.C.C., De Lima, M.E., Purification, amino-acid sequence and partial characterization of two toxins with anti-insect activity from the venom of the South American scorpion *Tityus bahiensis* (Buthidae), *Toxicon*, 39, 1009 – 1019 (2001).

Possani, L.D., Becerril, B., Delepierre, M., Tytgat, J., Scorpion toxins specific for  $\text{Na}^{+}$ -channels, *Eur. J. Biochem.*, 264, 287 – 300 (1999a).

Possani, L.D., Martin, B., Svendsen, I., The primary structure of noxiustoxin: a  $\text{K}^{+}$  channel blocking peptide from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann, *Carlsberg Res. Comm.*, 47, 285 – 289 (1982).

Possani, L.D., Merino, E., Corona, M., Bolivar, F., Beceril, B., Peptides and genes coding for scorpion toxins that affect ion – channels, *Biochimie*, 82, 861 – 868 (2000).

Possani, L.D., Selisko, B., Gurrola, G., Structure and function of scorpion toxins affecting  $\text{K}^{+}$  channels, *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 15 – 16, 15 – 40 (1999b).

Radmanesh, M., *Androctonus crassicauda* sting and its clinical study in Iran, *J. of Trop. Med. Hyg.*, 93, 323 – 326 (1990).

Rajendra, W., Armugam, A., Jeyaseelan, K., Toxins in anti-nociception and anti-inflammation, *Toxicon*, 44, 1 – 17 (2004).

Rardon, D.P., Krause, P.C., Purification of a ryanodine-sensitive channel protein from human neutrophils, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 311, 405 – 406 (1992).

Rash, L.,D., Hodgson, W.C., Pharmacology and biochemistry of spider venoms, *Toxicon*, 40, 3, 225 – 254 (2002).

Robertson, B., The real life of voltage-gated  $\text{K}^{+}$  channels: more than model behaviour, *Trends Pharmacol. Sci.*, 18, 474 – 483 (1997).

Rodriguez de la Vega, R.C., Merino, E., Beceril, B., Possani, L.D., Novel interactions between  $\text{K}^{+}$  channels and scorpion toxins, *Trends Pharmacol. Sci.*, 24, 222 – 227 (2003).

Rodríguez de la Vega, R.C., Possani L.D., Overview of scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup> channels and related peptides: biodiversity, structure–function relationships and evolution, *Toxicon*, 46, 831 – 844 (2005).

Rodriguez de la Vega, R.C., Possani, L.D., Current views on scorpion toxins specific for K<sup>+</sup> channels, *Toxicon*, 43, 865 – 875 (2004).

Rogers, J.C., Qu, Y., Tanada, T.N., Scheuer, T., Catterall, W.A., Molecular determinants of high affinity binding of alpha–scorpion toxin and sea anemone toxin in the S3 – S4 extracellular loop in domain IV of the Na<sup>+</sup> channel alpha subunit, *J. Biol. Chem.*, 271, 950 – 962 (1996).

Rogowski, R.S., Krueger, B.K., Collins, J.H., Blaustein, M.P., Tityustoxin Ka blocks voltage-gated non-inactivating KC channels and unblocks inactivating KC channels blocked by a-dendrotoxin in synaptosomes, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 91, 1475–1479 (1994).

Romey, G., Chicheportiche, R., Lazdunski, M., Rochat, H., Miranda, F., Lissitzky, S., Scorpion neurotoxin–a presynaptic toxin which affects both Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> channels in axons, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 64, 115 – 121 (1975).

Romi – Lebrun, R., Lebrun, B., Martin – Eauclaire, M.F., Ishiguro, M., Escoubas, P., Wu, F.Q., Hisada, M., Pongs, O., Nakajima, T., Purification, characterization, and synthesis of three novel toxins from Chinese scorpion *Buthus martensi*, which act on K<sup>+</sup> channels, *Biochemistry*, 36, 13473 – 13482 (1997).

Rousseau, E., Smith, J.S., Meissner, G., Ryanodine modifies conductance and gating behavior of single Ca<sup>2+</sup> release channel, *Am. J. Physiol.*, 253, 364 – 368 (1987).

Rowan, E.G., Vatanpour, H., Furman, B.L., Harvey, A.L., Tanira, M.O.M., Gopalkrishnakone, P., The effects of Indian red scorpion *Buthus tamulus* venom in vivo and in vitro, *Toxicon*, 30, 1157 – 1164 (1992).

Sabatier, J.M., Zerrouk, H., Darbon, H., Mabrouk, K., Benslimane, A., Rochat, H., Martin-Eauclaire, M.F., Van Rietschoten, J., P05, a new leiurotoxin I-like scorpion toxin: synthesis and structure-activity relationships of the alpha-amidated analog, a ligand of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels with increased affinity, *Biochemistry*, 32, 2763 – 2770 (1993).

Sabbadini, R.A., Betto, R., Teresi, A., Fachechi-Cassano, G., Salviati, G., The effects of sphingosine on sarcoplasmic reticulum membrane calcium release, *J. Biol. Chem.*, 267, 15475 – 15484 (1992).

Sampieri, F., Habersetzer – Rochat, C., Structure–function relationships in scorpion neurotoxins. Identification of the superreactive lysine residue in toxin I of *Androctonus australis* Hector, *Biochim. Biophys. Acta*, 535, 100–109 (1978).

Sampieri, F., Habersetzer-Rochat, C., Martin, M.F., Kopeyan, C., Rochat, H., Amino acid sequence of toxin XI of the scorpion *Buthus occitanus tunetanus*. Evidence of a mutation having an important effect upon neurotoxic activity, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 29, 231 – 237 (1987).

Sands, S.B., Lewis, R.S., Cahalan, M.D., Charybdotoxin blocks voltage-gated K<sup>+</sup> channels in human and murine T lymphocytes, *J. Gen. Physiol.*, 93, 1061 – 1074 (1989).

Sautière, P., Cestèle, S., Kopeyan, C., Martinage, A., Drobecq, H., Doljansky, Y., Gordon, D., New toxins acting on sodium channels from the scorpion *Leiurus quinquestriatus hebraeus* suggest a clue to mammalian vs insect selectivity, *Toxicon*, 36, 1141 – 1154 (1998).

Savino E.A., Catanzaro O.L., Effects of tityustoxin on the rat isolated tail artery, *Acta. Physiol. Pharmacol. Latinoam.*, 35, 119 – 27 (1985).

Seino, A., Kobayashi, M., Kobayashi, J., Fang, Y.I., Ishibashi, M., Nakamura, H., Momose, K., Ohizumi, Y., 9-methyl-7-bromoedistomin D, a powerful radio-labelable Ca<sup>2+</sup> releaser having caffeine-like properties, acts on Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> release channels of sarcoplasmic reticulum, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 256, 861 – 867 (1991).

Selisko, B, Garcia, C, Becerril, B, Delepierre, M, Possani, L.D., An insect-specific toxin from *Centruroides noxius* Hoffmann. cDNA, primary structure, three-dimensional model and electrostatic surface potentials in comparison with other toxin variants, *Eur. J. Biochem.*, 242, 235–242 (1996).

Shoshan-Barmatz, V., Zhang, G.H., Garretson, L., Kraus-Friedmann, N., Distinct ryanodine- and inositol 1,4,5-trisphosphate-binding sites in hepatic microsomes, *Biochem. J.*, 268, 699 – 705 (1990).

Sitges, M., Possani, L.D., Bayon, A., Noxiustoxin, a short-chain toxin from the Mexican scorpion *Centruroides noxius*, induces transmitter release by blocking K<sup>+</sup> permeability, *J. Neurosci.*, 6, 1570 – 1574 (1986).

Smith, J.S., Imagawa, T., Ma, J., Fill, M., Campbell K.P., Coronado, R., Purified ryanodine receptor from rabbit skeletal muscle is the calcium- release channel of sarcoplasmic reticulum, *J. Gen. Physiol.*, 92, 21 – 26 (1989).

Smith, K.G.V., *Insects and Other Arthropods of Medical Importance*, The trustees of the British Museum (Natural History), London, 417 – 423, 1973.

Song, Y.M., Tang, X.X., Chen, X.G., Gao, B.B., Gao, E., Bai, L., Lv, X.R., Effects of scorpion venom bioactive polypeptides on platelet aggregation and thrombosis and plasma 6-keto-PG F1 $\alpha$  and TXB2 in rabbits and rats, *Toxicon*, 46, 230 – 235 (2005).

Soroceanu, L., Gillespie, Y., Khazaeli, M.B., Sontheimer, H. Use of chlorotoxin for targeting of primary brain tumors, *Cancer. Res.*, 58, 4871 – 4879 (1998).

Stachel, S., Stockwell, S.A. Vrankken, D.L.V., The Fluorescence Of Scorpions and Cataractogenesis, *Chemistry and Biology*, 6, 531 – 539 (1999).

Strong P.N., Weir S.W., Beech D.J., Hiestand P., Kocher H.P., Effects of potassium channel toxins from *Leiurus quinquestriatus hebraeus* venom on responses to cromakalim in rabbit blood vessels, *Br. J. Pharmacol.*, 98, 817 – 826 (1989).

Strong, P.N., Potassium channel toxins, *Pharmacol. Ther.*, 46, 137–162 (1990).

Sutko, J.L., Airey, J.A., Ryanodine receptor  $Ca^{2+}$  release channels: does diversity in form equal diversity in function?, *Physiol.*, 76, 1027 – 1071 (1996).

Takehima, H., Nishimura, S., Matsumoto, T., Ishida, H., Kangawa, K., Minamino, N., Matsuo, H., Ueda, M., Hanaoka, M., Hirose, T., Hirose, T., Numa, S., Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor, *Nature*, 339, 439 – 445 (1989).

Tammaro, P., Conti, F., Moran, O., Modulation of sodium current in mammalian cells by an epilepsy-correlated h1-subunit mutation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 291, 1095 – 1101 (2002).

Tan, Z.Y., Mao, X., Xiao, H., Zhao, Z.Q., Ji, Y.H., *Buthus martensi* Karsch agonist of skeletal-muscle RyR-1, a scorpion active polypeptide: antinociceptive effect on rat peripheral nervous system and spinal cord, and inhibition of voltage-gated  $Na^{+}$  currents in dorsal root ganglion neurons, *Neurosci. Lett.*, 297, 65 – 68 (2001b).

Tan, Z.Y., Xiao, H., Mao, X., Wang, C.Y., Zhao, Z.Q., Ji, Y.H., The inhibitory effects of BmK IT2, a scorpion neurotoxin on rat nociceptive flexion reflex and a possible mechanism for modulating voltage-gated  $Na^{+}$  channels, *Neuropharmacology*, 40, 352 – 357 (2001a).

Tanabe, T., Beam, K.G., Adams, B.A., Niidome, T., Numa, S., Regions of the skeletal muscle dihydropyridine receptor critical for excitation-contraction coupling, *Nature*, 346, 567–569 (1990).

Teixeira, C. E., Teixeira, S. A., Antunes, E., De Nucci, G., The role of nitric oxide on the relaxations of rabbit corpus cavernosum induced by *Androctonus australis* and *Buthotus judaicus* scorpion venoms, *Toxicon*, 39, 5, 633 – 639 (2001).

Teixeira, C.E., Bento, A.C., Lopes-Martins, R.A.B., Teixeira, S. A., Eickstedt, V., Muscara, M.N., Arantes, E.C., Giglio, J.R., Antunes, E., Nucci, G., *Tityus serrulatus* scorpion venom relaxes the isolated rabbit corpus cavernosum by activating NANC nitrenergic nerve fibers, *Br. J. Pharmacol.*, 123, 435 – 442 (1998).

Teixeira, C.E., Bento, A.C., Lopes-Martins, R.A.B., Teixeira, S.A., von Eickstedt, V., Muscara', M.N., Arantes, E.C., Giglio, J.R., Antunes, E., De Nucci, G., *Tityus serrulatus* scorpion venom relaxes the isolated rabbit corpus cavernosum by activating NANK nitrergic nerve fibres, *Br. J. Pharmacol.* 123, 435 – 442 (1998).

Teixeira, C.E., de Oliveira, J.F., Baracat, J.S., Priviero, F.B., Okuyama, C.E., Rodrigues, Netto, N. Jr., Fregonesi, A., Antunes, E., De Nucci, G., Nitric oxide release from human corpus cavernosum induced by a purified scorpion toxin, *Urology*, 63, 184 – 189 (2004).

Tenenholz, T.C., Klenk, K.C., Matteson, D.R., Blaustein, M.P., Weber, D.J., Structural determinants of scorpion toxin affinity: the charybdotoxin (alpha-KTX) family of K<sup>+</sup>-channel blocking peptides, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 140, 135 – 185 (2000).

Touloun, O., Slimani, T., Boumezzough, A., Epidemiological survey of scorpion envenomation in Southwestern Morocco, *J. Venom. Anim. Toxins*, 7, 199 – 218 (2001).

Tripathy, A., Resch, W., Xu, L., Valdivia, H.H., Imperatoxin A induces Subconductance States in Ca<sup>2+</sup> Release Channels (Ryanodine Receptors) of Cardiac and Skeletal Muscle, *J. Gen. Physiol.*, 111, 79 – 690 (1998).

Tulga, T., Scorpions found in Turkey and paraspecific action of an antivenin produced with the venom of the species *Androctonus crassicauda*, *Turk. Bull. Hyg. Exp. Biol.*, 24, 146 – 155 (1964).

Tytgat, J., Chandy, K.G., Garcia, L.M., Gutman, G.A., Martin – Eauclaire, M.F., van del Walt, J.J., Possani, L.D., A unified nomenclature for short chain peptides isolated from scorpion venoms: alpha – KTx molecular subfamilies, *Trends Pharmacol. Sci.*, 20, 445 – 447 (1999).

Tytgat, J., Debont, T., Rostoll, K., Muller, G.J., Verdonck, F., Daenens, P., Van Der Walt, J.J. Possani, L.D., Purification and partial characterization of a 'short' insectotoxin-like peptide from the venom of the scorpion *Parabuthus schlechteri*, *FEBS Lett.*, 441, 387 – 391 (1998).

Ucar, G., Tas, C., Tümer, A., Monoamin oxidase inhibitory activities of the scorpion *Mesobuthus gibbosus* (Buthidae) venom peptides, *Toxicon*, 45, 43 – 52 (2005).

Uchitel, O.D., Toxins affecting calcium channels in neurons, *Toxicon*, 35, 1161 – 1191 (1997).

Ullrich, N., Bordey, A., Gillespie, G.Y., Sontheimer, H., Expression of voltage-activated chloride currents in acute slices of human gliomas, *Neuroscience*, 83, 1161 – 1173 (1998).

- Valdivia, H.H., Coronado, R., Inhibition of dihydropyridine-sensitive calcium channels by the plant alkaloid ryanodine, *FEBS Lett.*, 244, 333 – 337 (1989).
- Valdivia, H.H., Fuentes, O., el-Hayek, R., Morrissette, J., Coronado, R., Activation of the ryanodine receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channel of sarcoplasmic reticulum by a novel scorpion venom, *J. Biol. Chem.*, 266, 19135 – 19138 (1991).
- Valdivia, H.H., Kirby, M.S., Lederer, W.J., Coronado, R., Scorpion toxins targeted against the sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  release channel of skeletal and cardiac muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 12185 – 12189 (1992).
- Valerio, A.A., Corradini, A.C., Panunto, P.C., Mello, S.M., Hyslop, S., Purification and characterization of a phosphodiesterase from *Bothrops alternatus* snake venom, *J. Protein Chem.*, 21, 495 – 503 (2002).
- Valverde, P., Kawai, T., Taubman, M.A., Potassium channel-blockers as therapeutic agents to interfere with bone resorption of periodontal disease, *J. Dent. Res.*, 84, 488 – 499 (2005).
- Vasconcelos, F., Lanchote, V.L., Bendhack, L.M., Giglio, J.R., Sampaio, S.V., Arantes, E.C., Effects of voltage-gated  $\text{Na}^+$  channel toxins from *Tityus serrulatus* venom on rat arterial blood pressure and plasma catecholamines, *Comp. Biochem. Physiol. C., Toxicol. Pharmacol.*, 141, 85 – 92 (2005).
- Vatanpour, H., Effects of black scorpion *Androctonus crassicauda* venom on striated muscle preparation in vitro, *Iranian J. of Pharmaceutical Research*, 17 – 22 (2003).
- Vetter, R.S., Visscher, P.K., Bites and Stings of medically important venomous arthropods, *IJD*, 37, 481 – 496 (1998).
- Villarroel, A., Alvarez, O., Oberhauser, A., Latorre, R., Probing a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channel with quaternary ammonium ions, *Pflugers Arch.*, 413, 118 – 126 (1988).
- Wang, G.K., Strichartz, G., Simultaneous modifications of sodium channel gating by scorpion toxins, *Biophys. J.*, 40, 175 – 179 (1982).
- Wang, G.K., Strichartz, G.R., Purification and physiological characterization of neurotoxins from venoms of the scorpions *Centruroides sculpturatus* and *Leiurus quinquestriatus*, *Mol. Pharmacol.*, 23, 519 – 533 (1983).
- Wang, Y.X., Pang, C.C., NG-nitro-L-arginine contracts vascular smooth muscle by an endothelium-independent mechanism, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 24, 59 – 63 (1994).



Wheeler, K.P., Watt, D.D., Lazdunski, M., Classification of Na<sup>+</sup> channel receptors specific for various scorpion toxins, *Eur. J. Physiol.*, 397, 164 – 165 (1983).

Willems, J., Noppe, W., Moerman, L., Van der Walt, J., Verdonck, F., Cationic peptides from scorpion venom can stimulate and inhibit polymorphonuclear granulocytes, *Toxicon*, 40, 1679 – 1683 (2002).

Xiong, Y.M., Lan, Z.D., Wang, M., Liu, B., Liu, X.Q., Fei, H., Xu, L.G., Xia, Q.C., Wang, C.G., Wang, D.C., Chi, C.W., Molecular characterization of a new excitatory insect neurotoxin with an analgesic effect on mice from the scorpion BmK, *Toxicon*, 37, 1165 – 1180 (1999).

Xu, C.Q., Zhu, S:Y., Chi, C.W., Tytgat, J., Turret and pore block of K<sup>+</sup> channels: what is the difference?, *Trends Pharmacol. Sci.*, 24, 446 – 448 (2003).

Xu, L., Lai, F.A., Cohn, A., Etter, E., Guerrero, A., Fay, F.S., Meissner, G., Evidence for a Ca<sup>2+</sup>-gated ryanodine-sensitive Ca<sup>2+</sup> release channel in visceral smooth muscle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91, 3294 – 3298 (1994).

Yatani, A., Kirsh, G.E., Possani, L.D., Brown, A.M., Effects of new world scorpion toxins on single channel and whole cell cardiac sodium channels, *Am. J. Physiol.*, 254, 443 – 451 (1988).

Yu, F.H., Catterall, W.A., Overview of the voltage-gated sodium channel family, *Genome Biology*, 4, 207 – 213 (2003).

Zamudio, F.Z., Conde, R., Arévalo, C., Beceril, B., Martin, B.M., Valdivia, H.H., Possani, L.D., The mechanism of inhibitor of ryanodine receptor channels by imperatoxin I, a heterodimeric protein from the scorpion *Pandinus imperator*, *J. Biol. Chem.*, 272, 11886 – 11894 (1997b).

Zamudio, F.Z., Gurrola, G.B., Arévalo, C., Sreekumar, R., Walker, J.W., Valdivia, H.H., Possani, L.D., Primary structure and synthesis of imperatoxin A (IpTxa), a peptid activator of Ca<sup>2+</sup> release channels/ryanodine receptors, *FEBS Lett.*, 405, 385 – 389 (1997a).

Zhang, X.Y., Zhang, J.W., Chen, B., Bai, Z.T., Shen, J., Ji, Y.H., Dynamic determination and possible mechanism of amino acid transmitter release from rat spinal dorsal horn induced by the venom and a neurotoxin (BmK I) of scorpion *Buthus martensi* Karsch, *Brain Res. Bull.*, 58, 27 – 31 (2002).

Zhu, S., Huys, I., Dyason, K., Verdonk, F., Tytgat, J., Evolutionary trace analysis of scorpion toxins specific for K-channels, *Proteins*, 54, 361 – 370 (2004).

Zhu, X., Gurrola, G., Jiang, M.T., Walker, J.W., Valdivia, H.H., Conversion of an inactive cardiac dihydropyridine receptor II-III loop segment into forms that activate skeletal ryanodine receptors, *FEBS Lett.*, 450, 221 – 226 (1999).

Zhu, X., Zamudio, F.Z., Olbinski, B.A., Possani, L.D., Activation of Skeletal Ryanodine Receptors by Two Novel Scorpion Toxins from *Buthotus judaicus*, J. Biol. Chem., 279, 26588 – 26596 (2004).

Zlotkin, E., Gurevitz, M., Fowler, E, Adams, M.E., Depressant insect selective neurotoxins from scorpion venom: chemistry, action, and gene cloning, Arch. Insect Biochem. Physiol., 22, 55 – 73 (1993).

Zlotkin, E., Kadouri, D., Gordon, D., Pelhate, M., Martin, M.F., Rochat, H., An excitatory and a depressant insect toxin from scorpion venom both affect sodium conductance and possess a common binding site, Arch. Biochem. Biophys., 240, “877 – 887 (1995).

Zlotkin, E., The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides, Annu. Rev. Entomol., 44, 429 – 455 (1999).