

**Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**  
**Σχολή Επιστημών Υγείας**  
**Τμήμα Ιατρικής**  
**ΠΜΣ: Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες (ΒΒΕ)**

**Οφικά δηλητήρια: Εφαρμογές και Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών  
Ορών**



**Νέστωρα Αλεξάνδρα**

**A.M.: 187**

**Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Μπούμπα Βασιλική**

**Ιωάννινα 2024-2025**

## Περιεχόμενα

<b>Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων</b> .....	<b>2</b>
<b>Οφικά δηλητήρια: Εφαρμογές και Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών</b> .....	<b>2</b>
<b>Γενικό Μέρος</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Εισαγωγή</b> .....	<b>9</b>
1.2 Δομή της Εργασίας .....	9
<b>2. Ιστορία Φιδιών και Δηλητηρίων</b> .....	<b>9</b>
2.1 Χρήση Δηλητηρίων στην Αρχαιότητα (Ελλάδα, Αίγυπτος).....	10
2.2 Ελιξίρια ή Δηλητήρια .....	10
2.3 Σύγχρονη Ιατρική .....	11
2.4 Είδη Δηλητηριωδών Φιδιών .....	11
2.5 Συχνότητα Δηλητηριάσεων από Φίδια .....	12
<b>3. Εξελικτική Ιστορία Οφικών Δηλητηρίων</b> .....	<b>14</b>
3.1 Ρόλος των Δηλητηρίων στη Φύση (Θήρευση – Προστασία) .....	14
3.2 Μοριακοί Μηχανισμοί Ανάπτυξης (Διπλασιασμός Γονιδίων) .....	15
<b>4. Σύνθεση και Κατηγορίες Οφικών Δηλητηρίων</b> .....	<b>16</b>
4.1 Χημική Σύσταση των Οφικών Δηλητηρίων .....	16
4.2 Κατηγορίες Δηλητηρίων με Βάση τις Επιπτώσεις τους .....	17
<b>5. Βασικές Τοξίνες στα Οφικά Δηλητήρια</b> .....	<b>18</b>
5.1 3-Finger Toxins (3FTxs).....	20
5.2 Φωσφολιπάσες A2 (PLA2s).....	21
5.3 Μεταλλοπρωτεϊνάσες (Snake Venom Metalloproteinases - SVMs).....	21
5.4 Πρωτεϊνάσες Σερίνης (Snake venom serine proteases - SVSPs).....	22
5.5 Πλούσιες σε Κυστεΐνη Εκκριτικές Πρωτεΐνες (Cysteine-Rich Secretory Proteins - CRISPs) .....	22
5.6 Οξειδάσες L-αμινοξέων (L-amino-acid oxidases - LAOs).....	23
<b>6. Ιστορική Αναδρομή στην Ανάπτυξη Αντιοφικών Ορών</b> .....	<b>24</b>
6.1 Ο Albert Calmette και η Πρώτη Παραγωγή Αντιοφικού Ορού.....	24
6.2 Ανάπτυξη και Εμπορευματοποίηση των Αντιοφικών Ορών .....	25
<b>7. Χρήση Δηλητηρίων ή Συστατικών Δηλητηρίων στη Φαρμακευτική και τη Βιοτεχνολογία</b> .....	<b>26</b>
7.1 Εφαρμογές των Δηλητηρίων στην Ιατρική.....	26
7.1.1 Χρήση Τοξινών ως Φάρμακα.....	26
7.1.2 Νευροτοξίνες και Εφαρμογές στη Νευρολογία.....	27

7.1.3 Αντιπηκτικά από Οφικά Δηλητήρια .....	28
7.1.4 Χρήση Δηλητηρίων στη Θεραπεία Καρδιαγγειακών Παθήσεων .....	29
7.1.5 Χρήση Δηλητηρίων για την Αντιμετώπιση Καρκινικών Κυττάρων .....	29
7.2 Χρήση Δηλητηρίων στη Βιοτεχνολογία.....	31
7.2.1 Δηλητήρια Φιδιών στη Νανοβιοτεχνολογία .....	31
7.2.2 Γενετική Μηχανική και Ανασυνδυασμένα Μόρια Τοξινών .....	32
<b>Ειδικό μέρος.....</b>	<b>34</b>
<b>8. Σκοπός της Εργασίας.....</b>	<b>34</b>
<b>9. Μεθοδολογία .....</b>	<b>35</b>
<b>10. Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών .....</b>	<b>36</b>
10.1 Παραδοσιακή Μέθοδος Παραγωγής Αντιοφικών Ορών .....	36
10.1.1 Συλλογή Δηλητηρίου από Φίδια.....	37
10.1.2 Επιλογή Ζώου για Ανοσοποίηση (Άλογα, Πρόβατα, Κουνέλια) .....	38
10.1.3 Διαδικασία Ανοσοποίησης και Ανάπτυξη Αντισωμάτων .....	38
10.1.4 Καθαρισμός και Απομόνωση Αντισωμάτων (IgG, F(ab') <sub>2</sub> , Fab).....	39
10.1.5 Αποστείρωση και Έλεγχος Αποτελεσματικότητας.....	39
10.2 Νέες Προσεγγίσεις και Σύγχρονες Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών..	40
10.2.1 Τεχνολογία Έκθεσης σε Βακτηριοφάγους (Φάγους) (Phage Display Technology).....	40
10.2.2 Τεχνολογία Αντισωμάτων Μονής Αλυσίδας – Nanobodies Technology (Single-domain antibodies (Nanobodies)).....	42
10.2.3 Παραγωγή αντιοφικών ορών χωρίς τη χρήση δηλητηρίου φιδιών .....	44
<b>11. Αποτελέσματα – Συζήτηση .....</b>	<b>46</b>
11.1 Προβλήματα και Μειονεκτήματα των Παραδοσιακών Μεθόδων .....	46
11.1.1 Μεταβλητότητα στη Σύνθεση του Δηλητηρίου.....	46
11.1.2 Αλλεργικές Αντιδράσεις και Παρενέργειες .....	47
11.1.3 Περιορισμένη Εξουδετέρωση Όλων των Τοξινών .....	47
11.1.4 Κόστος και Δυσκολία Μαζικής Παραγωγής.....	48
11.1.5 Επιλογή μεταξύ Μονοσθενών και Πολυσθενών Αντιοφικών Ορών .....	48
11.2 Σύγκριση Παραδοσιακών και Σύγχρονων Μεθόδων Παραγωγής.....	48
11.3 Πιθανές Μελλοντικές Ιατρικές Εφαρμογές .....	49
<b>12. Συμπεράσματα.....</b>	<b>50</b>
<b>13. Πηγές .....</b>	<b>52</b>



## Πρόλογος

Με την παρούσα διπλωματική εργασία ολοκληρώνονται οι σπουδές μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες (BBE) του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου στα γνωστικά αντικείμενα που παρακολούθησα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, καθώς με τη γνώση και την εμπειρία τους συνέβαλαν στην διεύρυνση των γνωστικών μου οριζόντων. Ιδιαίτερα επιθυμώ να ευχαριστήσω την καθηγήτρια και επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας κυρία Μπούμπα Βασιλική για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε και την καθοδήγησή της. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για τη στήριξή τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## Περίληψη

Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο τη διερεύνηση της σύνθεσης και της λειτουργίας των οφικών δηλητηρίων, την ανάδειξη των πολλαπλών εφαρμογών τους, καθώς και την ανάλυση των παραδοσιακών και σύγχρονων μεθόδων παραγωγής αντιοφικών ορών. Αποτελεί μια διεπιστημονική μελέτη ανασκόπησης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας γύρω από τα οφικά δηλητήρια, τις φαρμακολογικές και βιοτεχνολογικές τους χρήσεις, αλλά και τις προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί για την αντιμετώπιση των δηλητηριάσεων.

Τα οφικά δηλητήρια, προϊόντα μακράς εξελικτικής πορείας, αποτελούν πολύπλοκα βιοχημικά μίγματα με σημαντική φυσιολογική δράση. Στην εργασία αναλύονται η χημική τους σύνθεση, η ταξινόμηση και οι βασικές κατηγορίες τοξινών, καθώς και οι τρόποι με τους οποίους αξιοποιούνται σε διάφορες εφαρμογές.

Η δηλητηρίαση από δάγκωμα φιδιού κατατάσσεται στις παραμελημένες τροπικές ασθένειες (Neglected Tropical Diseases – NTDs) σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, γεγονός που καθιστά την ανάπτυξη ασφαλών και αποτελεσματικών αντιδότην επείγουσα ανάγκη. Στο πλαίσιο αυτό, εξετάζεται η ιστορική εξέλιξη των αντιοφικών ορών και συγκρίνονται οι παραδοσιακές μέθοδοι παραγωγής, με τις σύγχρονες βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις.

Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην ανάγκη για βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας, της ασφάλειας και της προσβασιμότητας των αντιοφικών σκευασμάτων, ιδίως σε περιοχές με υψηλή επιδημιολογική επιβάρυνση. Συνολικά, η εργασία αναδεικνύει τη διττή φύση των οφικών δηλητηρίων: αφενός ως απειλή για τη δημόσια υγεία και αφετέρου ως πολύτιμη πηγή καινοτομίας για τη σύγχρονη επιστήμη και τη φαρμακευτική έρευνα.

## Abstract

The present thesis aims to investigate the composition and function of snake venoms, highlight their multiple applications, and analyze both traditional and modern methods of antivenom production. It is an interdisciplinary review of the existing literature on snake venoms, their pharmacological and biotechnological uses, as well as the approaches that have been developed to address envenomation.

Snake venoms, the result of a long evolutionary process, are complex biochemical mixtures with significant physiological activity. This study analyzes their chemical composition, classification, and the main toxin groups, along with the ways in which they are currently utilized in pharmacology, neurology, biotechnology, and agriculture.

Snakebite envenomation is classified by the World Health Organization as a Neglected Tropical Disease (NTD), making the development of safe and effective antivenoms an urgent priority. In this context, the historical development of antivenoms is examined, and traditional production methods—based on animal immunization—are compared with modern biotechnological approaches, such as monoclonal antibodies, recombinant molecules, and genetic engineering techniques.

Particular emphasis is placed on the need to optimize the efficacy, safety, and accessibility of antivenom therapies, especially in regions with a high epidemiological burden. Overall, this thesis highlights the dual nature of snake venoms: on the one hand, as a threat to public health, and on the other as a valuable source of innovation for modern science and pharmaceutical research.

# Οφικά δηλητήρια: Εφαρμογές και Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών

## Γενικό Μέρος

### 1. Εισαγωγή

Τα οφικά δηλητήρια, προϊόντα εκατομμυρίων ετών εξέλιξης, αποτελούν εξαιρετικά πολύπλοκα βιοχημικά μίγματα με ισχυρή φυσιολογική δράση. Από την αρχαιότητα μέχρι τη σύγχρονη ιατρική και βιοτεχνολογία, τα δηλητήρια των φιδιών έχουν αποτελέσει αντικείμενο δέους, φόβου, αλλά και επιστημονικού ενδιαφέροντος. Η παρούσα εργασία εξετάζει τη βιολογική, ιστορική και εφαρμοσμένη διάσταση των οφικών δηλητηρίων, δίνοντας έμφαση στις μεθόδους παραγωγής αντιοφικών ορών και στις σύγχρονες δυνατότητες αξιοποίησης των τοξινών.

#### 1.2 Δομή της Εργασίας

Η εργασία αναπτύσσεται σε δώδεκα κεφάλαια που καλύπτουν την ιστορική, βιολογική, τεχνολογική και εφαρμοσμένη προσέγγιση του θέματος, καταλήγοντας σε μία συνολική αποτίμηση.

### 2. Ιστορία Φιδιών και Δηλητηρίων

Η ιστορία των φιδιών και των δηλητηρίων τους είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την εξέλιξη του ανθρώπινου πολιτισμού. Από μυθικά σύμβολα σοφίας και αναγέννησης μέχρι φοβερές απειλές και θεραπευτικά μέσα, τα φίδια έχουν καταλάβει κεντρική θέση στη φαντασία και τη γνώση πολλών πολιτισμών. Η επιστημονική μελέτη των οφικών δηλητηρίων σήμερα φέρνει στο φως όχι μόνο τη βιολογική πολυπλοκότητα αυτών των ουσιών, αλλά και τις δυνατότητες αξιοποίησής τους σε σύγχρονες θεραπευτικές και βιοτεχνολογικές εφαρμογές (Oliveira et al., 2022; Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

## 2.1 Χρήση Δηλητηρίων στην Αρχαιότητα (Ελλάδα, Αίγυπτος)

Στην αρχαία Ελλάδα και Αίγυπτο, τα δηλητήρια των φιδιών δεν αποτελούσαν μόνο σύμβολα θεότητας, αλλά και αντικείμενα μελέτης για ιατρικούς σκοπούς. Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι υπήρξαν εξαίρετοι παρατηρητές της φύσης και του κόσμου γύρω τους. Τα φίδια κατείχαν σημαντική θέση στην καθημερινότητά τους, γεγονός που αντανακλάται στην παρουσία πολλών αιγυπτιακών θεοτήτων με χαρακτηριστικά φιδιών. Παράλληλα με τη μαγική-θρησκευτική ερμηνεία του κόσμου, οι Αιγύπτιοι κατέγραψαν με συστηματικό τρόπο στοιχεία για τα φίδια και το δηλητήριό τους.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο Πάπυρος του Μπρούκλιν (Brooklyn Papyrus), αρχαίο ιατρικό κείμενο που χρονολογείται στον 7ο–6ο αιώνα π.Χ.. Στο κείμενο αυτό περιλαμβάνονται παράγραφοι που αφορούν την καταγραφή και ταξινόμηση φιδιών με βάση φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, το μέγεθος, το σχήμα του κεφαλιού και του λαιμού. Επιπλέον, καταγράφονται συμπτώματα μετά από δάγκωμα δηλητηριώδους φιδιού, όπως πυρετός, λιποθυμίες, κρίσεις και κώμα, εκτιμήσεις για την πρόγνωση των ασθενών, καθώς και προτεινόμενες θεραπείες (Wexler et al., 2014).

Στην αρχαία Ελλάδα, ο Ασκληπιός, θεός της ιατρικής, απεικονιζόταν να κρατά ραβδί με φίδι, σύμβολο που υποδηλώνει τη δυαδικότητα των δηλητηρίων: αφενός ως δύναμη καταστροφής και αφετέρου ως πηγή θεραπείας. Ιστορικές πηγές δείχνουν ότι η χρήση δηλητηρίων – και ιδιαίτερα των οφικών – ήταν ήδη γνωστή στην αρχαιότητα για φαρμακευτικές εφαρμογές. Αναφέρεται ότι ορισμένα από τα πρώτα φαρμακευτικά σκευάσματα βασίζονταν σε οφικά δηλητήρια και στα αντίδοτά τους. Ο Ιπποκράτης και ο Διοσκουρίδης περιέγραψαν μεθόδους αξιοποίησης δηλητηρίων για ιατρικούς σκοπούς, ενώ ο Σωκράτης εκτελέστηκε με το δηλητήριο του κώνειου, δείχνοντας πως οι τοξίνες αποτελούσαν επίσης μέσο θανατηφόρας τιμωρίας. Παράλληλα, αναφέρεται ότι δηλητήρια φιδιών χρησιμοποιούνταν σε ορισμένες περιπτώσεις εκτελέσεων (Limneos et al., 2020).

## 2.2 Ελιξίρια ή Δηλητήρια

Η διαχωριστική γραμμή μεταξύ φαρμάκου και δηλητηρίου ήταν ήδη γνωστή στην αρχαιότητα και εκφράστηκε χαρακτηριστικά από τον Παράκελσο: *“όλα είναι δηλητήρια και τίποτα δεν είναι δηλητήριο – η δόση κάνει το δηλητήριο”*. Τα δηλητήρια των φιδιών

χρησιμοποιούνταν σε μικρές δόσεις ως θεραπευτικά ελιξίρια, ιδίως για παθήσεις του αίματος ή του νευρικού συστήματος (Limneos et al., 2020).

Στη σύγχρονη μελέτη των δηλητηρίων, αυτή η ιδέα επιβεβαιώνεται: ορισμένες τοξίνες, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (metalloproteinases) ή οι φωσφολιπάσες A2 (phospholipases A2, PLA2s), έχουν εξαιρετικά ισχυρή βιολογική δράση, η οποία σε ελεγχόμενες ποσότητες μπορεί να χρησιμοποιηθεί προς όφελος του οργανισμού (Babaie et al., 2013). Οι ίδιες τοξίνες που προκαλούν αιμορραγία ή νέκρωση, υπό κατάλληλες συνθήκες, μπορούν να τροποποιηθούν και να λειτουργήσουν ως θεραπευτικά εργαλεία, για παράδειγμα κατά του καρκίνου ή της θρόμβωσης (Hiu et al., 2020; Castillo-Beltrán et al., 2019).

### 2.3 Σύγχρονη Ιατρική

Σήμερα, η επιστήμη έχει μετατρέψει τα οφικά δηλητήρια σε ισχυρά εργαλεία για την ανάπτυξη φαρμάκων. Το χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το *Captopril*, το πρώτο φάρμακο για την υπέρταση που βασίστηκε σε μόρια από το δηλητήριο του *Bothrops jararaca* (Mladic et al., 2017, Farias et al., 2018). Παρόμοια, πολλές άλλες ουσίες από δηλητήρια έχουν αξιοποιηθεί στη φαρμακολογία, όπως νευροτοξίνες για νευρολογικές διαταραχές ή αιμοτοξίνες για αντιπηκτικά.

Ταυτόχρονα, τα οφικά δηλητήρια αποτελούν αντικείμενο εντατικής μελέτης για την ανάπτυξη ασφαλών και αποτελεσματικών αντιοφικών ορών. Οι σημερινοί οροί βασίζονται στην ανοσοποίηση ζώων με δηλητήρια και την παραγωγή αντισωμάτων — μια τεχνική που έχει βελτιωθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες (Rathore et al., 2023; Lalloo et al., 2003). Παράλληλα, η έρευνα επικεντρώνεται στη διερεύνηση της μεγάλης ποικιλομορφίας των οφικών δηλητηρίων, με στόχο την ανάπτυξη ορών πιο αποτελεσματικών και με ευρύτερο φάσμα δράσης (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

### 2.4 Είδη Δηλητηριωδών Φιδιών

## Οικογένειες Δηλητηριωδών Φιδιών



Elapidae



Viperidae



Atractaspidae



Colubridae

Εικόνα 1: Infographic. Οι 4 οικογένειες δηλητηριωδών φιδιών. Η εικόνα δημιουργήθηκε στο canva.

Παγκοσμίως έχουν αναγνωριστεί περίπου 3.900 είδη φιδιών, εκ των οποίων περίπου το 15% είναι δηλητηριώδη. Τα δηλητηριώδη φίδια ανήκουν κυρίως σε τέσσερις οικογένειες: *Elapidae* (όπως κόμπρες, θαλάσσια φίδια και κροταλίες), *Viperidae* (όπως οχιές), *Atractaspidae* και *Colubridae* (μερικά είδη). Η γεωγραφική κατανομή των δηλητηριωδών φιδιών έχει άμεση σχέση με την επιδημιολογία των δηλητηριάσεων. (Avella et al., 2022; Farrar et al., 2014).

Οι σημαντικότερες οικογένειες που προκαλούν δηλητηριάσεις στον άνθρωπο είναι οι *Viperidae* και *Elapidae*. Τα δηλητήριά τους διαφέρουν σημαντικά ως προς τη σύνθεση και τη δράση: τα δηλητήρια της οικογένειας *Elapidae* είναι κυρίως νευροτοξικά ενώ της οικογένειας *Viperidae* προκαλούν κυρίως αιμορραγίες και νεκρώσεις σε διάφορους ιστούς (Galizio et al., 2018).

### 2.5 Συχνότητα Δηλητηριάσεων από Φίδια

Η δηλητηρίαση από δάγκωμα φιδιού (snakebite envenomation) παραμένει σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες (Gutiérrez, 2018).

Ορίζεται ως η παθολογική κατάσταση που προκύπτει όταν το δηλητήριο ενός φιδιού εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό. Η μετάδοση του δηλητηρίου γίνεται κυρίως μέσω έγχυσης κατά το δάγκωμα, αλλά σε ορισμένα είδη μπορεί να συμβεί και με εκτόξευση προς τα μάτια, προκαλώντας σοβαρές βλάβες στους ιστούς (GBD 2019 Snakebite Envenomation Collaborators, 2022 – with minor processing by Our World in Data).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας την κατατάσσει στις παραμελημένες τροπικές ασθένειες (Neglected Tropical Diseases – NTDs). Εκτιμάται ότι ετησίως συμβαίνουν πάνω από 5 εκατομμύρια δαγκώματα φιδιών, εκ των οποίων περίπου 2,7 εκατομμύρια οδηγούν σε δηλητηρίαση, με 80.000-140.000 θανάτους και πολλαπλές περιπτώσεις αναπηρίας (Uko et al., 2024a).

Η θνησιμότητα από δηγήματα δηλητηριωδών φιδιών δεν οφείλεται αποκλειστικά στη δράση του ίδιου του δηλητηρίου, αλλά επηρεάζεται σημαντικά από εξωτερικούς παράγοντες. Η καθυστερημένη πρόσβαση σε ιατρική φροντίδα, η έλλειψη αντιοφικών ορών σε απομακρυσμένες περιοχές και η χρήση αναποτελεσματικών παραδοσιακών θεραπειών αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο για τον ασθενή. Παράλληλα, η μεγάλη βιοποικιλότητα στη σύνθεση των οφικών δηλητηρίων δυσχεραίνει την αποτελεσματικότητα των ορών, καθώς οι υπάρχουσες θεραπείες δεν ανταποκρίνονται πάντα επαρκώς σε κάθε είδος τοξίνης (Braga et al., 2022).

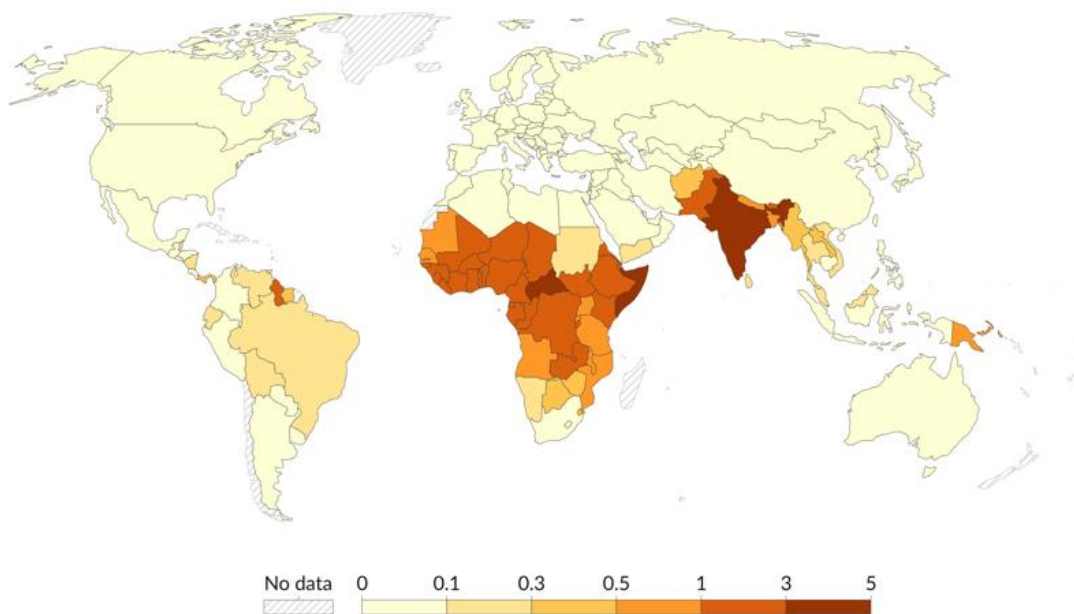
Οι περιοχές οι οποίες πλήττονται περισσότερο από δάγκωμα φιδιών βρίσκονται στην Αφρική, στη Νοτιοανατολική Ασία και στη Νότιο Αμερική (GBD 2019 Snakebite Envenomation Collaborators, 2022 – with minor processing by Our World in Data).

Η έρευνα σήμερα εστιάζει στην αναβάθμιση των αντιοφικών θεραπειών, με σκοπό την παραγωγή ορών που να συνδυάζουν υψηλή αποτελεσματικότητα, χαμηλό κόστος και ευρεία διαθεσιμότητα σε περιοχές του κόσμου όπου τα περιστατικά δηγμάτων είναι συχνά και επικίνδυνα (Guidolin et al., 2016).

## Death rate from venomous snakes, 2019



Estimated annual number of deaths from snakebite envenoming<sup>1</sup> per 100,000 people. Snakebite envenoming is a potentially fatal disease caused by toxins in the bite or spit of a venomous snake.



Data source: GBD 2019 Snakebite Envenomation Collaborators (2022)

OurWorldinData.org/causes-of-death | CC BY

Εικόνα 2: Εκτιμώμενα ποσοστά θανάτων από δηλητηρίαση από δάγκωμα φιδιού το 2019 (ανά 100.000 άτομα, ηλικιακά τυποποιημένα). Τα δεδομένα προέρχονται από το GBD 2019 Snakebite Envenomation Collaborators (2022) με επεξεργασία από το Our World in Data ((GBD 2019 Snakebite Envenomation Collaborators, 2022 – with minor processing by Our World in Data).

### 3. Εξελικτική Ιστορία Οφικών Δηλητηρίων

Η ποικιλομορφία και η λειτουργικότητα των οφικών δηλητηρίων αντανακλούν πολύπλοκους μηχανισμούς μοριακής προσαρμογής, οι οποίοι σχετίζονται τόσο με την άμυνα όσο και με τη θήρευση. Τα φίδια έχουν εξελίξει εξειδικευμένα συστήματα έκκρισης και τροποποίησης τοξικών ουσιών, προσαρμοσμένα στις οικολογικές τους ανάγκες. Η μελέτη της εξελικτικής ιστορίας αυτών των ουσιών αποκαλύπτει σημαντικές πτυχές της βιοποικιλότητας, της γενετικής προσαρμοστικότητας και της λειτουργίας των βιοδραστικών πρωτεϊνών.

#### 3.1 Ρόλος των Δηλητηρίων στη Φύση (Θήρευση – Προστασία)

Τα οφικά δηλητήρια επιτελούν κρίσιμο ρόλο στην επιβίωση των φιδιών, λειτουργώντας ως εργαλείο θήρευσης και αυτοάμυνας. Σε θηρευτικό πλαίσιο, το δηλητήριο επιτρέπει στο φίδι να ακινητοποιεί και να αρχίζει τη διαδικασία πέψης του θηράματος προτού καν το καταπιεί. Αυτό προσφέρει σημαντικό πλεονέκτημα έναντι άλλων θηρευτών,

καθώς μειώνει την πιθανότητα τραυματισμού από αντίσταση του θηράματος (Rao et al., 2022).

Στην άμυνα, τα δηλητήρια λειτουργούν αποτρεπτικά ενάντια σε θηρευτές ή επιθετικά σε απειλές. Είδη όπως οι κόμπρες (*Naja* spp.) ανασηκώνουν το εμπρόσθιο μέρος του σώματος και εκτοξεύουν το δηλητήριό τους από απόσταση, αποτρέποντας την προσέγγιση. Παράλληλα, η αποχρωματική διαφοροποίηση του σώματος ή τα ηχητικά προειδοποιητικά σήματα (π.χ. κρόταλο) συνδέονται εξελικτικά με την ύπαρξη ισχυρών δηλητηρίων (Braga et al., 2022; Rao et al., 2022).

Το οικολογικό πλαίσιο κάθε είδους –δηλαδή ο τύπος θηράματος, η γεωγραφική κατανομή και η πίεση από θηρευτές– επηρεάζει τη χημική σύσταση του δηλητηρίου. Για παράδειγμα, οι *Bothrops* διαθέτουν αιμοτοξικά δηλητήρια κατάλληλα για θηλαστικά, ενώ τα *Elapidae* έχουν ισχυρές νευροτοξίνες αποτελεσματικές ενάντια σε ερπετά και πουλιά (Braga et al., 2022).

### 3.2 Μοριακοί Μηχανισμοί Ανάπτυξης (Διπλασιασμός Γονιδίων)

Η μοριακή εξέλιξη των οφικών δηλητηρίων προέκυψε μέσα από διάφορους μηχανισμούς, με κυριότερο τον διπλασιασμό γονιδίων. Μέσω αυτού του φαινομένου, ένα γονίδιο αντιγράφεται και η νέα του εκδοχή αποκτά διαφορετική λειτουργία, οδηγώντας στην ανάπτυξη πληθώρας τοξινών με ποικίλες βιολογικές δράσεις (Casewell et al., 2013a).

Αρχικά, πολλές τοξίνες των φιδιών προήλθαν από φυσιολογικές πρωτεΐνες που εκτελούν λειτουργίες όπως η πήξη του αίματος, η φλεγμονώδης απόκριση ή η νευροδιαβίβαση. Με τη σταδιακή διαφοροποίηση των αντιγράφων, κάποιες πρωτεΐνες απέκτησαν ισχυρή τοξικότητα ή τάση για εξειδικευμένη δέσμευση σε κυτταρικούς υποδοχείς.

Για παράδειγμα, οι *phospholipases A2 (PLA2s)* αρχικά υπήρχαν σε όλους τους οργανισμούς ως ένζυμα πέψης λιπών, αλλά στα φίδια μετατράπηκαν σε νευροτοξίνες ή μυοτοξίνες. Ομοίως, οι *metalloproteinases* έχουν προέλθει από πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αναδόμηση ιστών και πλέον προκαλούν αιμορραγία ή καταστροφή αιμοφόρων αγγείων (Casewell et al., 2013a; Farias et al., 2018).

Η γονιδιακή ποικιλία αυτών των πρωτεϊνών είναι τόσο μεγάλη, που φίδια του ίδιου είδους μπορεί να έχουν δηλητήρια με διαφορετική σύνθεση ανάλογα με το γεωγραφικό τους περιβάλλον, τη διατροφή και την εξέλιξη του τοπικού οικοσυστήματος (Casewell et al., 2013a; Nie et al., 2022).

#### 4. Σύνθεση και Κατηγορίες Οφικών Δηλητηρίων

Η σύνθεση των οφικών δηλητηρίων είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Είναι σύνθετα μείγματα και αποτελούνται από εκατοντάδες βιομόρια, κυρίως πρωτεΐνες και πεππίδια, τα οποία δρουν συνεργικά ή αλληλοσυμπληρωματικά για να ακινητοποιήσουν, σκοτώσουν ή ξεκινήσουν τη διάλυση του θηράματος. Η μελέτη της χημικής τους σύνθεσης και η ταξινόμησή τους ανάλογα με τη δράση που προκαλούν αποτελούν θεμέλιο για την ανάπτυξη αντιοφικών ορών και φαρμακευτικών προϊόντων (Castillo-Beltrán et al., 2019; Munawar et al., 2018).

##### 4.1 Χημική Σύσταση των Οφικών Δηλητηρίων

Τα δηλητήρια των φιδιών αποτελούνται κατά κύριο λόγο από:

- **Πρωτεΐνες:** Υψηλού μοριακού βάρους, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (SVMPs), πρωτεϊνάσες σερίνης (SVSPs), PLA2s.
- **Πεππίδια:** Μικρότερες αλυσίδες αμινοξέων, συχνά με νευροτοξική δράση, όπως οι *3-finger toxins*.
- **Άλλα βιομόρια:** Υδατάνθρακες, ιόντα μετάλλων ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ), αμινοξέα και λιπίδια (Waheed et al., 2017).

Οι πρωτεΐνες και τα πεππίδια είναι τα πιο άφθονα συστατικά των δηλητηρίων των φιδιών και αποτελούν το 90-95% του ξηρού τους βάρους. Μπορούν είτε να έχουν ενζυμική δράση είτε όχι (Babaie et al., 2014; Waheed et al., 2017).

Η σύνθεση του δηλητηρίου και η αναλογία των παραπάνω συστατικών ποικίλει εκτενώς μεταξύ των ειδών ακόμα και εντός του ίδιου είδους. Παράγοντες, όπως οι κλιματικές συνθήκες, η ηλικία, το φύλο ή ο τύπος της θήρας που είναι διαθέσιμη, μπορεί επίσης να επηρεάσουν τη σύνθεση του δηλητηρίου (Oliveira et al., 2022; Waheed et al., 2017).



Εικόνα 3: Infographic. Κατηγορίες μορίων που απαντώνται στα οφικά δηλητήρια, με ταξινόμηση σε πρωτεΐνες, πεπτίδια και άλλα βιομόρια. Τα κυριότερα παραδείγματα κάθε κατηγορίας παρατίθενται ενδεικτικά. Η εικόνα δημιουργήθηκε στο canva.

#### 4.2 Κατηγορίες Δηλητηρίων με Βάση τις Επιπτώσεις τους

Τα οφικά δηλητήρια κατηγοριοποιούνται συχνά με βάση την κυρίαρχη φυσιολογική επίδρασή τους στον οργανισμό του θύματος:

- **Νευροτοξικά:** Προκαλούν παράλυση μέσω αναστολής της νευρομυϊκής σύναψης. Συνήθως εντοπίζονται στα *Elapidae* (κόμπρες, θαλάσσια φίδια). Κύριες τοξίνες: *3-finger toxins*, PLA2s (Bittenbinder et al., 2024).
- **Αιμοτοξικά:** Διαταράσσουν την αιμόσταση, προκαλώντας αιμορραγίες, πήξη ή καταστροφή αιμοφόρων αγγείων. Χαρακτηριστικές στα *Viperidae*. Κύριες τοξίνες: *metalloproteinases*, *serine proteinases* (Farias et al., 2018).
- **Κυτταροτοξικά/Μυοτοξικά:** Προκαλούν καταστροφή κυττάρων και μυϊκού ιστού. Ενδείκνυται για την πρόκληση τοπικών βλαβών και νέκρωσης (Galizio et al., 2018).

- **Καρδιοτοξικά και άλλες ειδικές κατηγορίες:** Δρουν στην καρδιακή λειτουργία ή στο ενδοκρινικό σύστημα. Ορισμένα δηλητήρια έχουν δράσεις πολλαπλών επιπέδων, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητά τους στην εξουδετέρωση του θηράματος (Bittenbinder et al., 2024).

Η κατανομή των διαφορετικών κατηγοριών τοξινών διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ειδών, αντανακλώντας την εξελικτική προσαρμογή κάθε οικογένειας φιδιών και οδηγώντας σε διαφορετικό τοξικό προφίλ και κλινική εικόνα της δηλητηρίασης. Για παράδειγμα, τα δηλητήρια των Elapidae χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε νευροτοξίνες, ενώ εκείνα των Viperidae εμφανίζουν αυξημένες συγκεντρώσεις αιμοτοξικών πρωτεϊνών και ενζύμων που προκαλούν εκτεταμένες τοπικές βλάβες και καταστροφή ιστών (Babaie et al., 2014; Bittenbinder et al., 2024; Munawar et al., 2018).

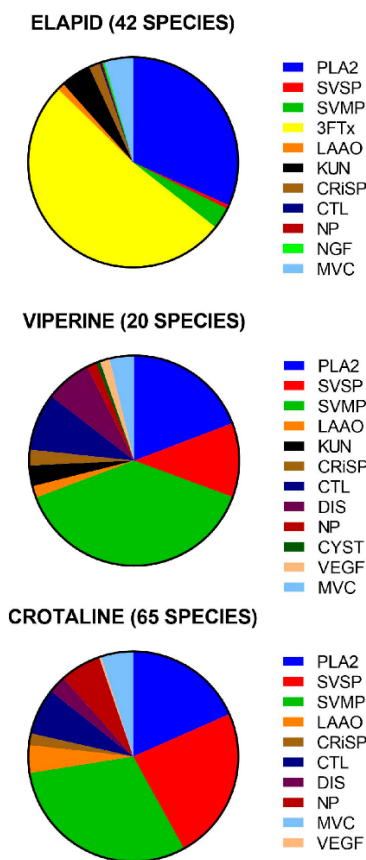
Η κατανόηση αυτών των κατηγοριών είναι κρίσιμη όχι μόνο για την αντιμετώπιση δηλητηριάσεων αλλά και για την ανάπτυξη στοχευμένων αντιοφικών και φαρμακευτικών σκευασμάτων.



Εικόνα 4: Infographic. Κατάταξη δηλητηρίων με βάση τις επιπτώσεις τους στον οργανισμό. Η εικόνα δημιουργήθηκε στο canva.

Τα οφικά δηλητήρια αποτελούν εξαιρετικά πολύπλοκα μίγματα βιοδραστικών μορίων, με τις βασικές τους τοξίνες να είναι πρωτεΐνες και πεπτιδία που δρουν στοχευμένα σε

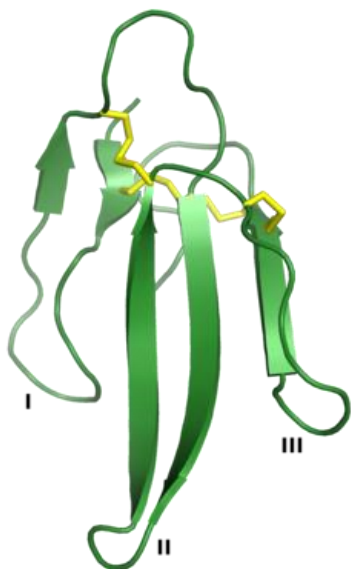
φυσιολογικά συστήματα του θύματος. Οι τέσσερις οικογένειες τοξινών που θεωρούνται γενικά ως οι πλέον σημαντικές, τόσο από κλινική σκοπιά όσο και από οικολογική σκοπιά, είναι οι 3-Finger Toxins (3FTxs), φωσφολιπάσες A2 (PLA2s), μεταλλοπρωτεϊνάσες (Snake Venom Metalloproteinases - SVMPS), πρωτεϊνάσες σερίνης (snake venom serine proteases - SVSPs). Άλλες ευρέως διαδεδομένες οικογένειες πρωτεϊνών δηλητηρίου φιδιών περιλαμβάνουν τις πλούσιες σε κυστεΐνη εκκριτικές πρωτεΐνες (CRISPs), τις οξειδάσες L-αμινοξέων (LAAOs) και τις C-type Lectin-like Proteins (CTLs) (Rao et al., 2022).



Εικόνα 5: Οι σχετικές αναλογίες των διαφορετικών οικογενειών πρωτεϊνών στα δηλητήρια των φιδιών υπολογισμένες ως μέσος όρος από τον αριθμό των ειδών που αναφέρονται στις παρενθέσεις (Tasoulis et al., 2017).

Οι βασικές ομάδες τοξινών που περιέχονται στα περισσότερα οφικά δηλητήρια περιγράφονται παρακάτω:

## 5.1 3-Finger Toxins (3FTxs)



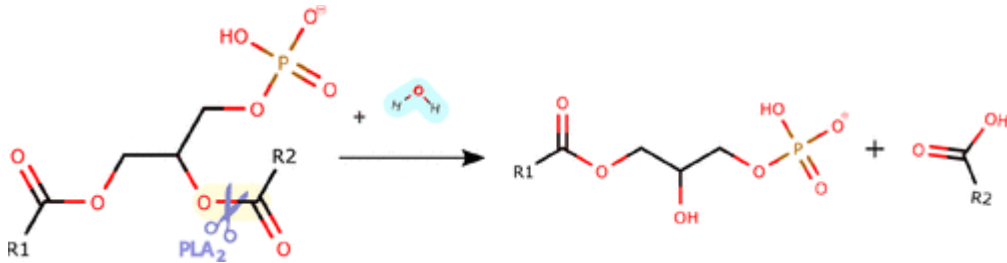
Εικόνα 6: Η δομή της Erabutoxin A, μιας νευροτοξίνης που ανήκει στις 3FTx. Συναντάται στα δηλητήρια των ελαπιδών. Τα τρία «δάχτυλα» επισημαίνονται ως I, II και III, ενώ οι δισουλφιδικοί δεσμοί εμφανίζονται με κίτρινο χρώμα (Nastoroulos et al., 1998).

Οι 3FTxs είναι μία από τις υπεροικόγειες των πρωτεϊνών που συναντώνται στα οφικά δηλητήρια (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019). Πρόκειται για μικρά πεπτίδια με χαρακτηριστική δομή που αποτελείται από έναν πυρήνα και γύρω του 3 βρόχους β-πτυχωτών αλυσίδων που σταθεροποιούνται από δισουλφιδικούς δεσμούς. Η δομή αυτή μοιάζει με 3 «δάχτυλα», γεγονός που έδωσε και την ονομασία στην ομάδα, και παρατηρείται κυρίως στα δηλητήρια της οικογένειας *Elapidae*. Έχουν ποικιλία βιολογικών λειτουργιών και περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων τοξίνες που δρουν στο νευρικό σύστημα, στο καρδιαγγειακό σύστημα, στο αίμα και αναστολείς διαύλων ιόντων (Roly et al., 2014; Son et al., 2021).

Η χαρακτηριστική, αυτή, δομή των 3 δακτύλων, τους δίνει υψηλή εξειδίκευσή. Συγκεκριμένα έχουν τη δυνατότητα να στοχεύουν νικοτινικούς και μουσκαρινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, προκαλώντας αναστολή της νευρομυϊκής μετάδοσης και μυϊκή παράλυση. Επίσης σε άλλες περιπτώσεις μπορούν να οδηγήσουν σε παράλυση των αναπνευστικών μυών και να προκαλέσουν θάνατο λόγω ασφυξίας. Ωστόσο, η υψηλή συγγένεια σύνδεσης που εμφανίζουν με νευρικούς υποδοχείς τις

καθιστά χρήσιμες σε φαρμακευτική έρευνα για νευρολογικές ασθένειες (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

## 5.2 Φωσφολιπάσες A2 (PLA2s)



Εικόνα 7: Η χημική αντίδραση που καταλύεται από τις PLA2s. Τα ένζυμα αυτά δρουν στα μόρια γλυκερόλης και υδρολύουν τον εστερικό δεσμό απελευθερώνοντας ένα lysophospholipid (λυσοφωσφολιπίδιο) και ένα ελεύθερο λιπαρό οξύ. Τα R1 και R2 αντιστοιχούν στις αλυσίδες λιπαρών οξέων (Castro-Amorim et al., 2023).

Οι PLA2s είναι μία υπεροικογένεια εστερασών που καταλύουν τη διάσπαση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης (Castro-Amorim et al., 2023; Farias et al., 2018). Συγκεκριμένα καταλύουν την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από μόρια γλυκερόλης (den Berg et al., 1995). Έχουν μυτοξική δράση, ενώ παράλληλα παρουσιάζουν φλεγμονώδεις, αντιπηκτικές και νευροτοξικές ιδιότητες.

Είναι τοξίνες ευρέως διαδεδομένες και απαντώνται σχεδόν σε όλα τα είδη δηλητηριωδών φιδιών, όπως στις οικογένειες Elapidae και Viperidae (Farias et al., 2018, Huanchahuire-Vega et al., 2014; Resende et al., 2017). Οι PLA2s μπορούν να οδηγήσουν σε εκτεταμένες μυϊκές βλάβες, πτώση της αρτηριακής πίεσης και θάνατο των ιστών (Farias et al., 2018). Σε μικρότερες δόσεις μελετώνται για χρήση σε νευρολογικές παθήσεις και καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες (Babaie et al., 2013).

## 5.3 Μεταλλοπρωτεϊνάσες (Snake Venom Metalloproteinases - SVMs)

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (SVMs) αποτελούν μία ομάδα ενζύμων που εξαρτώνται από ιόντα μετάλλων (κυρίως ψευδαργύρου) και έχουν ανιχνευθεί σε μεγάλο αριθμό δηλητηριωδών φιδιών. Συγκεκριμένα, απαντώνται εκτεταμένα στα φίδια της οικογένειας Viperidae και της υποοικογένειας Crotalinae, ενώ σε μικρότερο βαθμό ανευρίσκονται στις οικογένειες Elapidae, Atractaspididae και Colubridae. Χωρίζονται σε τρεις υποκατηγορίες ανάλογα με τη δομή τους (P-I, P-II, P-III), με τα πιο σύνθετα ένζυμα να εμφανίζουν υψηλότερη παθολογική δράση (Olaoba et al., 2020).

Οι SVMPs επηρεάζουν το σύστημα πήξης του αίματος, οδηγώντας σε αιμορραγίες και εκτεταμένες συστηματικές διαταραχές (Castillo-Beltrán et al., 2019). Συγκεκριμένα, μπορούν να προκαλέσουν αιμορραγία, πρωτεολυτική αποδόμηση του ινωδογόνου και του ινώδους, καθώς και να οδηγήσουν σε απόπτωση και αναστολή της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων.

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η παρουσία των SVMPs σχετίζεται με το περιβάλλον στο οποίο ζουν τα φίδια, δηλαδή επιγενετικοί παράγοντες επηρεάζουν τη λειτουργία των γονιδίων των τοξινών. Συγκεκριμένα, είδη που κατοικούν σε περιοχές με ηπιότερους χειμώνες και μικρότερη εποχική διακύμανση της θερμοκρασίας διαθέτουν αιμοτοξικό δηλητήριο, το οποίο αποτελείται κυρίως από SVMPs (Olaoba et al., 2020).

#### 5.4 Πρωτεϊνάσες Σερίνης (Snake venom serine proteases - SVSPs)

Οι πρωτεϊνάσες σερίνης (SVSPs) αποτελούν μια ομάδα εκτενώς μελετημένων τοξινών, οι οποίες απαντώνται ευρέως στο δηλητήριο φιδιών των οικογενειών Viperidae, Elapidae και Crotalidae (Boldrini-França et al., 2020).

Πρόκειται για πολύπλοκα ένζυμα με πολλές λειτουργίες ενώ η σημαντικότερή τους δράση αφορά διαδικασίες που σχετίζονται με την πήξη του αίματος, όπως και οι SVMPs. Δρουν με μηχανισμό που μιμείται αυτόν της θρομβίνης ή της πλασμίνης και μπορούν είτε να ενεργοποιούν είτε να αναστέλλουν συγκεκριμένα στάδια του πηκτικού καταρράκτη. Η παρουσία τους σχετίζεται με συμπτώματα όπως θρομβώσεις, διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) και αιμορραγικά επεισόδια. Οι τοξίνες αυτές διεγείρουν την παραγωγή ινώδους και ταυτόχρονα καταστρέφουν τα φυσικά ανασταλτικά μόρια του οργανισμού, προκαλώντας ανισορροπία στο αιμοστατικό σύστημα (Alomran et al., 2021).

#### 5.5 Πλούσιες σε Κυστεΐνη Εκκριτικές Πρωτεΐνες (Cysteine-Rich Secretory Proteins - CRISPs)

Οι πλούσιες σε κυστεΐνη εκκριτικές πρωτεΐνες (CRISPs) έχουν αναγνωρισθεί ως ευρέως διαδεδομένα συστατικά των οφικών δηλητηρίων. Δεν έχουν ενζυμική δράση. Παρατηρούνται στα δηλητήρια πολλών ειδών όπως σε αυτά των οικογενειών *Elapidae*, *Viperidae* και *Colubridae*.

Ορισμένες από τις CRISPs δρουν ως τοξίνες που αναστέλλουν ιοντικούς διαύλους, όπως τα L-type κανάλια ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ) και τα CNG κανάλια (cyclic nucleotide-gated ion channels), επηρεάζοντας ζωτικές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η μυϊκή συστολή, η νευροδιαβίβαση και οι αισθητηριακές διεργασίες. Παρ' όλα αυτά, για πολλές CRISPs οι ακριβείς λειτουργίες παραμένουν άγνωστες, γεγονός που υπογραμμίζει την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα. Η μελέτη τους όχι μόνο θα συμβάλει στην κατανόηση του ρόλου τους στα δηλητήρια των φιδιών, αλλά ενδέχεται να ρίξει φως και στις μέχρι σήμερα αδιευκρίνιστες λειτουργίες αντίστοιχων πρωτεϊνών σε άλλους οργανισμούς (Yamazaki et al., 2004).

### 5.6 Οξειδάσες L-αμινοξέων (L-amino-acid oxidases - LAOs)

Οι οξειδάσες L-αμινοξέων (LAOs) είναι ένζυμα που καταλύουν την οξείδωση των L-αμινοξέων, παράγοντας υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ένα ισχυρά αντιδραστικό μόριο που προκαλεί οξειδωτικό στρες. Το ένζυμο αυτό απαντάται ευρέως στη φύση και περιλαμβάνεται σε πολλά δηλητήρια φιδιών. Εντοπίζεται σε αρκετά είδη της οικογένειας Viperidae και Elapidae, με τη μεγαλύτερη ποικιλία να παρατηρείται στα δηλητήρια των φιδιών της οικογένειας Crotalidae (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

Η δράση των LAOs στον οργανισμό μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική απόπτωση και θρομβωτικές διαταραχές, ενώ έχει συνδεθεί με συμπτώματα όπως οίδημα, μυοτοξικότητα και βλάβες σε διάφορους κυτταρικούς τύπους (Costal-Oliveira et al., 2019).

### 5.7 C-type Lectin-like Proteins (CTLPs)

Τα δηλητήρια των φιδιών, εκτός από ένζυμα, περιέχουν και μη ενζυμικές πρωτεΐνες, οι οποίες συμβάλλουν κυρίως στην ακινητοποίηση του θηράματος. Συνήθως δρουν σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, σε διαύλους ιόντων ή σε πρωτεΐνες του πλάσματος, προκαλώντας διαταραχές στις φυσιολογικές λειτουργίες του θηράματος μέσω νευροτοξικών και καρδιοτοξικών επιδράσεων (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

Σε αυτήν την κατηγορία εντάσσονται και οι C-type Lectin-like Proteins (CTLPs), οι οποίες δρουν δεσμευόμενες σε επιφανειακούς υποδοχείς αιμοπεταλίων και άλλων κυττάρων. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αιμόστασης, είτε

αναστέλλοντας είτε διεγείροντας τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Ορισμένες CTLPs επηρεάζουν τη διαδικασία της πήξης, ενώ άλλες λειτουργούν ως αγωνιστές ή ανταγωνιστές ενζυμικών συστημάτων. Χάρη σε αυτές τις ιδιότητες, αποτελούν πολύτιμα εργαλεία για τη μελέτη της θρόμβωσης και της αιμορραγίας (Farias et al., 2018).

## Συμπεράσματα

Οι τοξίνες των φιδιών αποτελούν μια ετερογενή ομάδα πρωτεϊνών και ενζύμων με εξειδικευμένη δομή και ισχυρή βιολογική δράση. Στοχεύουν διαφορετικά συστήματα του οργανισμού (νευρικό, αιμοστατικό, καρδιαγγειακό, μυϊκό) προκαλώντας σοβαρές παθολογικές καταστάσεις, όπως παράλυση, αιμορραγίες, θρομβώσεις και εκτεταμένες ιστικές βλάβες. Παρά την τοξικότητά τους, η υψηλή εξειδίκευση και η εκλεκτική δράση τους καθιστούν τις οφικές τοξίνες πολύτιμα εργαλεία για τη φαρμακευτική έρευνα και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

## 6. Ιστορική Αναδρομή στην Ανάπτυξη Αντιοφικών Ορών

Η ανάπτυξη των αντιοφικών ορών έχει μακρά ιστορία που ξεκινά από τα τέλη του 19ου αιώνα, όταν οι επιστήμονες άρχισαν να αναζητούν τρόπους αντιμετώπισης των δηλητηριάσεων από φίδια. Οι αντιοφικοί οροί αποτελούν μέχρι σήμερα τη βασική θεραπεία για τα δαγκώματα από δηλητηριώδη φίδια, εξουδετερώνοντας τις τοξίνες που περιέχονται στα δηλητήρια (Alomran et al., 2021).

### 6.1 Ο Albert Calmette και η Πρώτη Παραγωγή Αντιοφικού Ορού

Ο πρώτος επιστήμονας που κατάφερε να παραγάγει αντιοφικό ορό ήταν ο Albert Calmette στα τέλη του 19ου αιώνα. Ο Calmette, μέλος του Ινστιτούτου Παστέρ, ανέπτυξε την πρώτη επιτυχημένη μέθοδο παραγωγής αντιοφικού ορού βασισμένη σε πειράματα ανοσοποίησης με δηλητήριο φιδιών (Alfaro-Chinchilla et al., 2021). Ενώ βρισκόταν στη Σαϊγκόν, ο Calmette άρχισε να ερευνά την τοξικότητα του δηλητηρίου της ινδικής κόμπρας (*Naja naja*), πραγματοποιώντας πειράματα σε ζώα και αναπτύσσοντας τις πρώτες μορφές ανοσοποίησης μέσω επαναλαμβανόμενων εμβολιασμών με μικρές δόσεις δηλητηρίου (Castillo-Beltrán et al., 2019; U.S. Department of Health and Human Services. (n.d.)).

Το 1894, ο Calmette ανέπτυξε τον πρώτο αντιοφικό ορό για το δηλητήριο της κόμπρας, χρησιμοποιώντας άλογα ως ζώα παραγωγής ανοσοσφαιρινών. Η διαδικασία περιλάμβανε τη σταδιακή έκθεση των αλόγων σε δηλητήριο, οδηγώντας στη δημιουργία αντισωμάτων στο αίμα τους, το οποίο συλλεγόταν και επεξεργαζόταν για την παραγωγή θεραπευτικού ορού (de Silva et al., 2016). Αυτή η μέθοδος αποτέλεσε τη βάση για την παραγωγή αντιοφικών ορών μέχρι και σήμερα, αν και έχουν σημειωθεί σημαντικές βελτιώσεις όσον αφορά την καθαρότητα, την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των ορών (Gutiérrez, 2018; U.S. Department of Health and Human Services. (n.d.)).

## 6.2 Ανάπτυξη και Εμπορευματοποίηση των Αντιοφικών Ορών

Μετά την επιτυχία του Calmette, η έρευνα στην παραγωγή αντιοφικών ορών συνεχίστηκε και εξελίχθηκε σημαντικά. Στις αρχές του 20ού αιώνα, επιστήμονες σε όλο τον κόσμο άρχισαν να αναπτύσσουν αντιοφικούς ορούς για διαφορετικά είδη φιδιών, προσαρμόζοντας τη μέθοδο παραγωγής ώστε να καλύψει μεγαλύτερο εύρος δηλητηρίων (Farias et al., 2018; Laloo et al., 2003).

Η εμπορευματοποίηση των αντιοφικών ορών ξεκίνησε από το Ινστιτούτο Παστέρ, όπου πραγματοποιήθηκε η πρώτη βιομηχανική παραγωγή, και αργότερα επεκτάθηκε σε άλλες χώρες όπως η Βραζιλία, η Ινδία και οι Ηνωμένες Πολιτείες (Braga et al., 2022; Laloo et al., 2003). Η ανάγκη για πιο αποτελεσματικούς και προσιτούς αντιοφικούς ορούς οδήγησε στην ανάπτυξη πολυσθενών ορών που μπορούν να εξουδετερώνουν δηλητήρια από πολλαπλά είδη φιδιών (Laloo et al., 2003).

Μια από τις σημαντικότερες εξελίξεις ήταν η μέθοδος καθαρισμού των αντιοφικών ορών μέσω κλασμάτων του ανοσοσφαιρινικού τμήματος IgG, όπως το F(ab')<sub>2</sub>, το οποίο μειώνει τις ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με την ανοσολογική αντίδραση του ασθενή (Babaie et al., 2013). Αυτές οι βελτιώσεις συνέβαλαν στη μείωση των αλλεργικών αντιδράσεων και της ανοσογονικότητας των ορών, επιτρέποντας την ασφαλέστερη και αποτελεσματικότερη θεραπεία των δηλητηριάσεων από φίδια (Rathore et al., 2023).

Τέλος νέες έρευνες που βασίζονται στη βιοτεχνολογία, την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και τη βιοπληροφορική ανοίγουν τον δρόμο για την ανάπτυξη πιο στοχευμένων και αποτελεσματικών αντιοφικών θεραπειών, με μειωμένες

παρενέργειες και χαμηλότερο κόστος παραγωγής. Οι εξελίξεις αυτές, οι οποίες αναλύονται στην ενότητα 10.2 Νέες Προσεγγίσεις και Σύγχρονες Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών, αναδιαμορφώνουν το πεδίο, προσφέροντας νέες δυνατότητες στην αντιμετώπιση των δηλητηριάσεων από φίδια με αποτελεσματικότερα ευρέως διαθέσιμα και οικονομικά προσιτά μέσα (Gutiérrez 2018;, Kurtović et al., 2019; Lalloo et al., 2003).

## 7. Χρήση Δηλητηρίων ή Συστατικών Δηλητηρίων στη Φαρμακευτική και τη Βιοτεχνολογία

Τα οφικά δηλητήρια, αν και ιστορικά συνδέθηκαν με το φόβο και την απειλή, σήμερα αποτελούν σημαντικά εργαλεία στην ιατρική και βιοτεχνολογική έρευνα. Οι σύνθετες βιολογικά ενεργές ουσίες που περιέχουν –όπως ένζυμα, νευροτοξίνες, και διάφορων ειδών πρωτεΐνες– αποτελούν πηγή για την ανάπτυξη φαρμάκων, διαγνωστικών εργαλείων και ερευνητικών τεχνικών (Chan et al., 2016). Η εις βάθος κατανόηση της χημικής και βιολογικής τους δράσης μπορεί να ανοίξει τον δρόμο για νέες θεραπευτικές και τεχνολογικές εφαρμογές.

### 7.1 Εφαρμογές των Δηλητηρίων στην Ιατρική

#### 7.1.1 Χρήση Τοξινών ως Φάρμακα

Οι τοξίνες που περιλαμβάνονται στα οφικά δηλητήρια είναι εξαιρετικά εξειδικευμένα μόρια, τα οποία έχουν εξελιχθεί ώστε να δρουν σε συγκεκριμένα κυτταρικά ή μοριακά μονοπάτια. Αυτή η εξειδίκευση είναι και βασικό τους πλεονέκτημα στη φαρμακολογία. Η ικανότητα των συγκεκριμένων μορίων να στοχεύουν επιλεκτικά υποδοχείς ή ένζυμα τα καθιστά κατάλληλα για τη δημιουργία φαρμακευτικών ουσιών με μεγάλη ακρίβεια δράσης (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το φάρμακο *Captopril*, το οποίο χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της υπέρτασης και προέρχεται από το δηλητήριο του φιδιού *Bothrops jararaca*. Η ουσία αυτή δρα αναστέλλοντας το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE), επιτυγχάνοντας τη μείωση της αρτηριακής πίεσης. Η ανάπτυξη του βασίστηκε σε πεπτίδια που απομονώθηκαν από το δηλητήριο, τα οποία παρουσίαζαν παρόμοια φυσιολογική επίδραση.

Άλλες τοξίνες με αντιπηκτική δράση έχουν αξιοποιηθεί για την ανάπτυξη φαρμάκων που αποτρέπουν τη θρόμβωση, ενώ πρωτεΐνες με κυτταροτοξική δράση εξετάζονται για χρήση στην αντικαρκινική θεραπεία. Η μεγάλη ποικιλία συστατικών των δηλητηρίων αποτελεί μια τεράστια δεξαμενή για τη φαρμακευτική έρευνα (Mladic et al., 2017).

### 7.1.2 Νευροτοξίνες και Εφαρμογές στη Νευρολογία

Οι νευροτοξίνες που περιέχονται στα δηλητήρια φιδιών είναι από τις πλέον μελετημένες λόγω της ιδιαίτερης δράσης τους στο νευρικό σύστημα. Οι τοξίνες αυτές δρουν είτε αναστέλλοντας είτε ενισχύοντας τη νευρική ώση, μέσω της επίδρασής τους σε διαύλους ιόντων, υποδοχείς ή ένζυμα που σχετίζονται με τη νευροδιαβίβαση.

Η φαρμακολογική εκμετάλλευση αυτών των τοξινών περιλαμβάνει τη χρήση τους για την κατανόηση νευρολογικών ασθενειών, τη δημιουργία νέων φαρμάκων και την ανάπτυξη θεραπευτικών πρακτικών για διαταραχές όπως η επιληψία και η πολλαπλή σκλήρυνση. Η δυνατότητα των νευροτοξινών να τροποποιούν τη δραστηριότητα νευρώνων προσφέρει νέα εργαλεία (Mladic et al., 2017).

Συγκεκριμένα, οι λεγόμενες 3-finger toxins που υπάρχουν στα δηλητήρια των ελαπιδών (π.χ. κόμπρες), παρουσιάζουν ισχυρή συγγένεια με τους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης. Αυτή η ιδιότητα τις καθιστά υποσχόμενους υποψηφίους για χρήση σε θεραπευτικές παρεμβάσεις που σχετίζονται με την αποκατάσταση νευρομυϊκής λειτουργίας, ή ακόμα και για τη διαχείριση νοσημάτων που προκαλούνται από υπερδιέγερση αυτών των υποδοχέων (Alomran et al., 2012; Diniz-Sousa et al., 2023a).

Επιπρόσθετα, η χρήση αυτών των τοξινών στην έρευνα παρέχει λεπτομερή εργαλεία για την απεικόνιση ή απομόνωση διαύλων ιόντων ή υποδοχέων, ενισχύοντας την κατανόηση της λειτουργίας του ανθρώπινου νευρικού συστήματος. Στον χώρο της βασικής έρευνας, οι νευροτοξίνες των φιδιών έχουν αξιοποιηθεί είτε ως μοριακοί δείκτες είτε ως αναστολείς σε πειράματα που μελετούν τη δράση των νευροδιαβιβαστών και τη λειτουργία των συνάψεων. Η υψηλή εξειδίκευσή τους σε συγκεκριμένους υποδοχείς επιτρέπει την ακριβή παρακολούθηση και παρέμβαση σε νευρικά κυκλώματα, συμβάλλοντας ουσιαστικά στην κατανόηση του τρόπου με τον οποίο μεταδίδεται το σήμα από νευρώνα σε νευρώνα (Diniz-Sousa et al., 2023a).

Ένα ακόμη ενδιαφέρον πεδίο αφορά τις εφαρμογές των νευροτοξινών σε περιπτώσεις χρόνιου πόνου. Νευροτοξίνες που αναστέλλουν επιλεκτικά τη μετάδοση του πόνου στο περιφερικό νευρικό σύστημα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία αναλγητικών φαρμάκων νέας γενιάς. Οι πρωτεΐνες αυτές, με κατάλληλη τροποποίηση και δοσολογία, μπορούν να προσφέρουν στοχευμένη και ασφαλή ανακούφιση, χωρίς τους κινδύνους εξάρτησης που προκαλούν τα οπιοειδή. Ορισμένα δηλητήρια φιδιών μπορούν να αναστείλουν τον πόνο μέσω μηχανισμών που δεν σχετίζονται με τους γνωστούς υποδοχείς οπιοειδών, ανοίγοντας έτσι νέες οδούς για την ανακούφιση χρόνιου ή νευροπαθητικού πόνου. Το ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από αυτό το πεδίο συνεχώς αυξάνεται, καθώς η ανάγκη για μη-εθιστικά αναλγητικά είναι κρίσιμη παγκοσμίως (Trim et al., 2013).

### 7.1.3 Αντιπηκτικά από Οφικά Δηλητήρια

Τα οφικά δηλητήρια αποτελούν πλούσια πηγή πρωτεϊνών με αντιπηκτική δράση, οι οποίες έχουν αξιοποιηθεί για τη μελέτη και ανάπτυξη αντιθρομβωτικών φαρμάκων. Πολλά δηλητήρια περιέχουν ένζυμα που στοχεύουν συστατικά της πήξης του αίματος, όπως η προθρομβίνη, το ινωδογόνο και οι ενεργοποιητές της θρομβίνης. Αυτά τα ένζυμα έχουν τη δυνατότητα είτε να προκαλούν θρόμβωση είτε να την αναστέλλουν, ανάλογα με τη δομή και τη δράση τους (Babaie et al., 2013).

Χαρακτηριστικά, από το δηλητήριο του φιδιού *Bothrops jararaca* έχουν απομονωθεί πρωτεΐνες οι οποίες διασπούν το ινωδογόνο και εμποδίζουν τον σχηματισμό θρόμβων. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν αποτελέσει τη βάση για την ανάπτυξη αντιπηκτικών φαρμάκων με ειδική δράση, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ασθενείς με κίνδυνο για έμφραγμα ή εγκεφαλικό επεισόδιο (Farias et al., 2018).

Μάλιστα, η υψηλή εξειδίκευση και η ισχυρή δράση αυτών των πρωτεϊνών τις καθιστούν ιδιαίτερα πολύτιμες σε καταστάσεις όπου απαιτείται ακριβής έλεγχος της πήξης, όπως στη διάρκεια εγχειρήσεων καρδιάς ή σε ασθενείς με θρομβοφιλία. Επιπλέον, ορισμένα από τα ένζυμα αυτά έχουν την ικανότητα να διασπούν ήδη σχηματισμένους θρόμβους, καθιστώντας τα χρήσιμα στην αντιμετώπιση θρομβωτικών επεισοδίων (Babaie et al., 2013).

Οι ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώνονται πλέον στην παραγωγή αυτών των μορίων με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, ώστε να

διασφαλίζεται η καθαρότητα και η σταθερότητά τους, ενώ παράλληλα αποφεύγεται η χρήση δηλητηρίων από ζωντανά φίδια. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση της μοριακής τους δράσης και τη δημιουργία φαρμάκων με λιγότερες παρενέργειες (Castillo-Beltrán et al., 2019).

#### 7.1.4 Χρήση Δηλητηρίων στη Θεραπεία Καρδιαγγειακών Παθήσεων

Τα οφικά δηλητήρια έχουν επίσης βρει εφαρμογή στη θεραπεία καρδιαγγειακών νοσημάτων, λόγω της δράσης τους σε υποδοχείς που εμπλέκονται στη ρύθμιση της πίεσης και της καρδιακής λειτουργίας. Εκτός από την αναστολή ενζύμων όπως το ACE, υπάρχουν και άλλα πεπτιδία ή πρωτεΐνες με αγγειοδιασταλτική ή καρδιοπροστατευτική δράση.

Το *Captopril*, που προαναφέρθηκε, υπήρξε ο πρώτος αναστολέας ACE που προήλθε από το δηλητήριο φιδιού και αποτέλεσε επανάσταση στη θεραπεία της υπέρτασης. Από τότε, νέες τοξίνες από φίδια, όπως οι natriuretic peptides, έχουν μελετηθεί για τη δράση τους στο αγγειακό σύστημα, συμβάλλοντας στη μείωση της αρτηριακής πίεσης και στην αποφόρτιση της καρδιάς (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

Επίσης, πρωτεΐνες με δράση παρόμοια με εκείνη της βραδυκινίνης, οι οποίες προκαλούν αγγειοδιαστολή, αποτελούν ένα ακόμη παράδειγμα πιθανής φαρμακευτικής αξιοποίησης. Αυτές οι ενώσεις ενισχύουν την αιμάτωση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ή άλλες μορφές ισχαιμίας (Hillmeister et al., 2020).

Η προοπτική χρήσης των τοξινών αυτών δεν περιορίζεται μόνο σε οξείες καρδιαγγειακές καταστάσεις. Υπάρχουν έρευνες που διερευνούν τη χρόνια χρήση πεπτιδίων που προέρχονται από τοξίνες για την πρόληψη επιπλοκών σε ασθενείς με υπέρταση ή καρδιακή ανεπάρκεια, ιδιαίτερα όταν άλλες θεραπείες αποτυγχάνουν ή συνοδεύονται από παρενέργειες (Babaie et al., 2014).

#### 7.1.5 Χρήση Δηλητηρίων για την Αντιμετώπιση Καρκινικών Κυττάρων

Μία άλλη πιθανή εφαρμογή τους αφορά την αντιμετώπιση των καρκινικών κυττάρων. Τα δηλητήρια των φιδιών αποτελούν πολύπλοκα μείγματα που περιέχουν πολυάριθμες κυτταροτοξικές ουσίες με στοχευμένη δράση σε συγκεκριμένες κυτταρικές δομές. Πολλά από αυτά τα μόρια αλληλεπιδρούν με λιποπρωτεΐνες της πλασματικής

μεμβράνης, προκαλώντας αλλοιώσεις που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο. Οι ιδιότητες αυτές καθιστούν τα συστατικά των δηλητηρίων ιδιαίτερα ελκυστικούς υποψήφιους για ανάπτυξη αντικαρκινικών θεραπειών.

Ο καρκίνος, ως ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως, απαιτεί την αναζήτηση νέων και αποτελεσματικότερων θεραπευτικών παραγόντων. Σε αυτό το πλαίσιο, πολλά ερευνητικά δεδομένα αναδεικνύουν τα δηλητήρια φιδιών ως πηγή βιοδραστικών μορίων με αντικαρκινικές ιδιότητες. Έρευνες έχουν δείξει ότι δηλητήρια από είδη όπως *Bothrops neweidi*, *Naja naja*, *Naja nigricollis*, *Naja naja atra*, *Bothrops leucurus* και *Macrovipera* διαθέτουν ουσίες με σημαντική δράση κατά του καρκίνου (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η κροταμίνη (crotamine), μια τοξίνη που προέρχεται από το δηλητήριο κροταλιών (οικογένεια Viperidae). Πρόκειται για ένα πεπτίδιο με σημαντική αντικαρκινική δράση, το οποίο μπορεί να διεισδύει ταχέως σε σχεδόν όλους τους κυτταρικούς τύπους. Ο βασικός μηχανισμός δράσης του συνδέεται με τη διαταραχή της λειτουργίας των λυσοσωμάτων, παρουσιάζοντας ιδιαίτερη εκλεκτικότητα για τα ενεργά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, όπως τα καρκινικά. Προκλινικές μελέτες έχουν αναδείξει έντονη δράση του κατά του μελανώματος σε ποντίκια, χωρίς να προκαλεί τοξικότητα στους υγιείς ιστούς. Επιπλέον, η υψηλή αντοχή της στην πρωτεόλυση και η δυνατότητα χορήγησης από το στόμα αυξάνουν την αξία της ως υποψήφιο θεραπευτικό μόριο (Oliveira et al., 2022).

Τέλος, οι οξειδάσες L-αμινοξέων (LAAOs) αποτελούν μια ακόμη κατηγορία ενδιαφερόντων μορίων, λόγω της ικανότητάς τους να προκαλούν απόπτωση και να επηρεάζουν σημαντικές βιολογικές διαδικασίες. Το 1997, κορεατική ερευνητική ομάδα μελέτησε την LAAO του *Ophiophagus hannah* (οικογένεια Elapidae), καταγράφοντας κυτταροτοξική δράση σε καρκινικά κύτταρα του στομάχου, μελανώματος ποντικού (B16F10), ινοσαρκώματος, καρκίνου του παχέος εντέρου και κυτταρικές σειρές ωθηκών κινεζικού χάμστερ. Ένας πιθανός μηχανισμός δράσης είναι να παρεμποδίζει την προσκόλληση καρκινικών κυττάρων και τις μεταστάσεις, αναστέλλοντας τη συσσώρευση αιμοπεταλίων, ενώ ταυτόχρονα ενισχύει την ανοσολογική απόκριση μέσω ενεργοποίησης φαγοκυτταρικών κυττάρων (Izidoro et al., 2014; Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019).

Στην επόμενη ενότητα, **7.2 Χρήση Δηλητηρίων στη Βιοτεχνολογία** παρουσιάζονται επιπλέον παραδείγματα και μηχανισμοί αντικαρκινικής δράσης άλλων συστατικών των δηλητηρίων, που υπογραμμίζουν τη δυναμική τους στη βιοϊατρική έρευνα και στην ανάπτυξη νέων θεραπειών.

## 7.2 Χρήση Δηλητηρίων στη Βιοτεχνολογία

Η βιοτεχνολογία αξιοποιεί βιολογικά μόρια και οργανισμούς για την ανάπτυξη καινοτόμων εφαρμογών σε πεδία όπως η υγεία, η γεωργία, η ενέργεια και η βιομηχανία. Στο πλαίσιο αυτό, τα δηλητήρια των φιδιών έχουν αναδειχθεί ως πηγή εξαιρετικά ενεργών βιομορίων, με εξειδικευμένη δράση και σημαντικές εφαρμογές πέραν της φαρμακευτικής. Οι τοξίνες των φιδιών, λόγω της υψηλής τους εξειδίκευσης και της δυνατότητάς τους να τροποποιούν κρίσιμες βιολογικές λειτουργίες, βρίσκουν σήμερα ρόλο σε πρωτοποριακά βιοτεχνολογικά πεδία όπως η νανοτεχνολογία και η γενετική μηχανική (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

### 7.2.1 Δηλητήρια Φιδιών στη Νανοβιοτεχνολογία

Η νανοτεχνολογία ασχολείται με τη σχεδίαση και χρήση υλικών και συστημάτων σε νανοκλίμακα (1–100 nm), όπου οι ιδιότητες της ύλης αποκτούν μοναδικά χαρακτηριστικά. Η νανοβιοτεχνολογία αποτελεί το πεδίο σύζευξης της νανοτεχνολογίας και της βιοτεχνολογίας και περιλαμβάνει την εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στις επιστήμες ζωής (Grumezescu et al., 2016). Στο πλαίσιο αυτό, οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια των οφικών δηλητηρίων προσφέρουν τεράστιες δυνατότητες, καθώς είναι φυσικά «νανοεργαλεία» με υψηλή ειδικότητα δέσμευσης σε κυτταρικούς υποδοχείς ή ένζυμα (Farias et al., 2018; Nasrollahzadeh et al., 2019).

Μία σύγχρονη προσέγγιση είναι η χρήση νανοσωματιδίων ως φορέων για τη μεταφορά τοξινών ή δηλητηρίων για θεραπευτικούς σκοπούς. Τα δραστικά μόρια μπορούν να «φορτωθούν» σε διαφορετικού τύπου νανοφορείς (nanocarriers) και να μεταφερθούν μέσα στο σώμα στο σημείο-στόχο. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται στοχευμένη και ελεγχόμενη χορήγηση του φαρμάκου, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα και μειώνοντας τις παρενέργειες. Επιπλέον, οι νανοφορείς μπορούν να προστατεύσουν την τοξίνη από την αποδόμηση στην κυκλοφορία του αίματος, να βελτιώσουν τη διαλυτότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας και να επιτρέψουν προγραμματισμένη απελευθέρωση στον ιστό-στόχο. Μπορούν επίσης να

φέρουν ειδικά μόρια (όπως αντισώματα ή πεπτίδια) που αναγνωρίζουν καρκινικά ή άλλα παθολογικά κύτταρα, εξασφαλίζοντας μεγαλύτερη ακρίβεια και περιορίζοντας, παράλληλα, τη βλάβη σε υγιείς ιστούς (Soares et al., 2025).

Ένα ενδεικτικό παράδειγμα χρήσης νανοφορέων για τη μεταφορά τοξινών είναι η μελέτη των Bhowmik και Gomes για την καταπολέμηση καρκινικών κυττάρων. Χρησιμοποίησαν νανοσωματίδια χρυσού συζευγμένα με μια κυτταροτοξική πρωτεΐνη (NKCT1) που απομονώθηκε από το δηλητήριο της κόμπρας *Naja kaouthia* (GNP-NKCT1). Ο συνδυασμός αυτός προκάλεσε έντονο κυτταρικό θάνατο σε ανθρώπινες λευχαιμικές σειρές κυττάρων (U937 και K562), είτε μέσω απόπτωσης που συνδέεται με δυσλειτουργία μιτοχονδρίων, είτε μέσω πρόκλησης οξειδωτικού στρες με την παραγωγή αντιδραστικών μορίων οξυγόνου (ROS). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι συζεύξεις νανοσωματιδίων χρυσού με φυσικές τοξίνες μπορούν να αποτελέσουν μια υποσχόμενη πλατφόρμα για την ανάπτυξη νέων αντικαρκινικών θεραπειών (Bhowmik et al., 2016).

### 7.2.2 Γενετική Μηχανική και Ανασυνδυασμένα Μόρια Τοξινών

Η γενετική μηχανική έχει επιτρέψει την παραγωγή τοξινών σε ελεγχόμενο εργαστηριακό περιβάλλον, μέσω της εισαγωγής των γονιδίων τους σε βακτήρια, κύτταρα ζυμομύκητα ή κυτταρικές σειρές θηλαστικών. Επίσης είναι δυνατή η επιλεκτική τροποποίηση αμινοξέων ώστε να μεταβληθούν οι ιδιότητές τους όπως συγγένεια, η σταθερότητα ή η δράση τους. Τα ανασυνδυασμένα μόρια, προσφέρουν ασφαλέστερες και πιο καθαρές μορφές των τοξινών για βιοτεχνολογική χρήση σε διάφορες εφαρμογές (Rivera-de-Torre et al., 2022).

Μία από τις πιο καινοτόμες προσεγγίσεις στη στοχευμένη αντικαρκινική θεραπεία είναι η χρήση ανασυνδυασμένων τοξινών, στο πλαίσιο της λεγόμενης «ανοσοτοξικής» θεραπείας (immunotoxin therapy). Η immunotoxin therapy συνδυάζει την ακρίβεια των αντισωμάτων στη δέσμευση αντιγόνων με την κυτταροτοξικότητα συγκεκριμένων τοξινών.

Στην immunotoxin therapy, μια τοξίνη συνδέεται χημικά ή γενετικά με ένα αντίσωμα ή τμήμα αντισώματος, το οποίο έχει σχεδιαστεί ώστε να αναγνωρίζει και να δεσμεύεται σε συγκεκριμένο αντιγόνο που εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια παθολογικών κυττάρων. Μόλις το αντίσωμα «παραδώσει» την ανοσοτοξίνη στον στόχο, η τοξίνη

εισέρχεται στο κύτταρο και διαταράσσει κρίσιμες διεργασίες, όπως η πρωτεϊνοσύνθεση, οδηγώντας τελικά στον θάνατο του καρκινικού κυττάρου, ενώ παράλληλα περιορίζεται η βλάβη στους υγιείς ιστούς. Η εκλεκτικότητα αυτής της μεθόδου ξεπερνά ορισμένους περιορισμούς των συμβατικών θεραπειών, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία, που συχνά συνοδεύονται από σοβαρές παρενέργειες λόγω της μη ειδικής δράσης τους.

Σήμερα υπάρχουν ήδη σκευάσματα εγκεκριμένα από τον FDA (U.S. Food and Drug Administration), όπως η denileukin diftitox (Ontak®), η οποία χρησιμοποιείται στη θεραπεία ορισμένων λεμφωμάτων και βασίζεται σε τοξίνη που προέρχεται από το *Corynebacterium diphtheriae* (Allahyari et al., 2017).

Το επόμενο βήμα της έρευνας αφορά τη χρήση ανασυνδυασμένων τοξινών από οφικά δηλητήρια, καθώς παρουσιάζουν εξαιρετικά ισχυρές τοξικές ιδιότητες έναντι κυττάρων θηλαστικών. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα δηλητήρια των φιδιών και οι ανασυνδυασμένες τοξίνες τους μπορούν να συμβάλουν αποτελεσματικά στην καταπολέμηση καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών δράσης τους, το συνδυασμό τους με αντισώματα και για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητάς τους σε κλινικό επίπεδο, αποτελούν όμως σημαντική μελλοντική προοπτική για αντικαρκινικές θεραπείες (Li et al., 2018; Higuchi et al., 2011) .

Συνολικά, η μελέτη των οφικών δηλητηρίων έχει αποκαλύψει έναν πλούτο βιοδραστικών μορίων με τεράστιο φαρμακευτικό και βιοτεχνολογικό δυναμικό. Από την ανάπτυξη επαναστατικών φαρμάκων όπως το Captopril, μέχρι τις σύγχρονες εφαρμογές σε νανοτεχνολογία και γενετική μηχανική, τα δηλητήρια φιδιών μετατρέπονται από όργανα άμυνας της φύσης σε πολύτιμα εργαλεία για την υγεία του ανθρώπου. Αν και απαιτούνται ακόμη περισσότερες μελέτες για την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα και την κλινική τους μετάφραση, το ερευνητικό πεδίο υπόσχεται σημαντικές εξελίξεις που θα μπορούσαν να αλλάξουν το τοπίο της ιατρικής θεραπείας και της βιοτεχνολογίας.

## Ειδικό μέρος

### 8. Σκοπός της Εργασίας

Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο τη διερεύνηση της σύνθεσης και της λειτουργίας των οφικών δηλητηρίων, την ανάδειξη των πολλαπλών εφαρμογών τους και την ανάλυση των παραδοσιακών και σύγχρονων μεθόδων παραγωγής αντιοφικών ορών. Οι δηλητηριάσεις από φίδια συγκαταλέγονται στις παραμελημένες τροπικές ασθένειες (Neglected Tropical Diseases – NTDs) σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, γεγονός που καθιστά την ανάπτυξη ασφαλών, αποτελεσματικών και οικονομικά προσιτών αντιδότην παγκόσμια προτεραιότητα (Gutiérrez, 2018). Επιπλέον, τα οφικά δηλητήρια, ως προϊόντα μακράς εξελικτικής πορείας, περιέχουν εξειδικευμένα βιοδραστικά μόρια με σημαντικές δυνατότητες αξιοποίησης σε τομείς όπως η Φαρμακολογία και η Βιοτεχνολογία, γεγονός που καθιστά τη μελέτη τους επιστημονικά κρίσιμη.

Συγκεκριμένα, επιχειρείται εις βάθος ανάλυση της σύνθεσης, της λειτουργίας και της εξελικτικής ιστορίας των τοξινών που περιέχονται στα δηλητήρια των φιδιών, με στόχο την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών δράσης τους. Παράλληλα, εξετάζεται η ιστορική και σύγχρονη χρήση των οφικών δηλητηρίων στην ιατρική, με ιδιαίτερη έμφαση στις θεραπευτικές εφαρμογές και στη βιομηχανική αξιοποίησή τους. Ειδική βαρύτητα δίνεται στην ανάλυση των μεθόδων παραγωγής αντιοφικών ορών, από τις παραδοσιακές ζωικές τεχνικές ανοσοποίησης έως τις σύγχρονες βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις, όπως η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων και ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών. Έμφαση δίνεται στη βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας, της ασφάλειας και της διαθεσιμότητας των αντιοφικών σκευασμάτων, κυρίως για πληθυσμούς σε περιοχές με υψηλή επιδημιολογική επιβάρυνση.

Συνολικά, η εργασία επιχειρεί να ενοποιήσει τα παραπάνω δεδομένα σε ένα συνεκτικό επιστημονικό πλαίσιο, αναδεικνύοντας τόσο την ανάγκη για καινοτόμες, σύγχρονες μεθόδους παραγωγής αντιοφικών ορών, όσο και τις δυνατότητες αξιοποίησης των οφικών δηλητηρίων σε ένα ευρύ φάσμα φαρμακευτικών και βιοτεχνολογικών εφαρμογών.

## 9. Μεθοδολογία

Η συγκεκριμένη εργασία αποτελεί μία βιβλιογραφική ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με τα οφικά δηλητήρια, τις εφαρμογές τους και τις μεθόδους παραγωγής αντιοφικών ορών. Βασίζεται σε βιβλιογραφική έρευνα, με στόχο τη συλλογή, αξιολόγηση και σύνθεση επιστημονικών δεδομένων και θεωρητικών προσεγγίσεων που αφορούν τα οφικά δηλητήρια, τις φαρμακολογικές και βιοτεχνολογικές τους εφαρμογές, καθώς και τις μεθόδους παραγωγής αντιοφικών ορών. Η μελέτη εστιάζει στην ανάλυση και ερμηνεία της υφιστάμενης βιβλιογραφίας, με σκοπό την αποτύπωση της τρέχουσας κατάστασης της επιστημονικής γνώσης στο συγκεκριμένο θέμα.

Η συλλογή των βιβλιογραφικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω αναζήτησης σε έγκριτες επιστημονικές βάσεις δεδομένων, όπως PubMed, Scopus, ScienceDirect με λέξεις-κλειδιά όπως: snake venom, antivenom production, venom toxins, pharmacological applications of snake venom, monoclonal antibodies, biotechnology in toxinology, Neglected Tropical Diseases (NTDs). Επίσης αξιοποιήθηκαν ανασκοπήσεις, πρωτογενή ερευνητικά άρθρα και επίσημες εκθέσεις διεθνών οργανισμών (π.χ. Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας – WHO).

Τα κριτήρια επιλογής των πηγών περιλάμβαναν:

- την επικαιρότητα (προτίμηση σε δημοσιεύσεις μετά το 2010),
- τη σχετικότητα με τις θεματικές ενότητες της εργασίας,
- και τη θεσμική εγκυρότητα των πηγών.

Η θεματική οργάνωση της εργασίας ακολούθησε ένα διεπιστημονικό μοντέλο, με στόχο τη γεφύρωση της βασικής βιολογικής κατανόησης των τοξινών με τις εφαρμοσμένες τεχνολογικές και θεραπευτικές προεκτάσεις τους. Η ανάλυση των μεθόδων παραγωγής αντιοφικών ορών περιλαμβάνει τόσο ιστορική προσέγγιση όσο και συγκριτική αξιολόγηση παραδοσιακών και σύγχρονων βιοτεχνολογικών τεχνικών.

Τέλος, η σύνθεση των δεδομένων επιδιώκει όχι μόνο να καταγράψει την υπάρχουσα γνώση αλλά και να αναδείξει κρίσιμα σημεία για μελλοντική έρευνα, με έμφαση στη

βελτίωση της αποτελεσματικότητας των αντιοφικών ορών και στην αξιοποίηση των οφικών τοξινών ως φαρμακολογικά εργαλεία.

## **10. Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών**

### **10.1 Παραδοσιακή Μέθοδος Παραγωγής Αντιοφικών Ορών**

Η παραδοσιακή μέθοδος παραγωγής αντιοφικών ορών βασίζεται σε διαδικασίες που αναπτύχθηκαν από τα τέλη του 19ου αιώνα και συνεχίζουν να αποτελούν τη βάση της σύγχρονης παραγωγής. Παρόλο που έχουν υπάρξει εξελίξεις στις τεχνικές καθαρισμού και ασφάλειας, η βασική προσέγγιση παραμένει η ίδια: συλλογή δηλητηρίου, ανοσοποίηση ζώων, ανάπτυξη αντισωμάτων και επεξεργασία του πλάσματος για τη δημιουργία του τελικού προϊόντος (Babaie et al., 2013; U.S. Department of Health and Human Services. (n.d.)).

## Παραδοσιακή Μέθοδος Παραγωγής Αντιοφικών Ορών



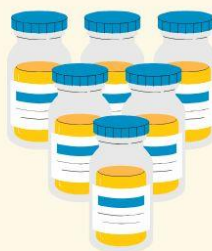
Συλλογή Δηλητηρίου  
από Φίδια



Ανοσοποίηση και  
Ανάπτυξη  
Αντισωμάτων



Καθαρισμός και  
Απομόνωση  
Αντισωμάτων



Αποστείρωση,  
Έλεγχος  
Αποτελεσματικότητας  
Διανομή

Εικόνα 8: Infographic. Παραδοσιακή Μέθοδος Παραγωγής Αντιοφικών Ορών. Η εικόνα δημιουργήθηκε στο canva.

### 10.1.1 Συλλογή Δηλητηρίου από Φίδια

Το πρώτο και πιο κρίσιμο στάδιο στην παραγωγή αντιοφικών ορών είναι η συλλογή δηλητηρίου από φίδια. Το δηλητήριο περιέχει ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών και ενζύμων, πολλά από τα οποία είναι υπεύθυνα για τις τοξικές επιδράσεις του στο θύμα. Η συλλογή πραγματοποιείται είτε από άγρια φίδια είτε από φίδια σε αιχμαλωσία που διατηρούνται σε εξειδικευμένες φάρμες (Braga et al., 2022; Lalloo et al., 2003).

Η διαδικασία περιλαμβάνει τον χειρισμό των φιδιών από ειδικούς, οι οποίοι τα τοποθετούν έτσι ώστε τα δόντια που φέρουν το δηλητήριο (fangs) να πιέσουν μια ελαστική μεμβράνη πάνω σε ένα αποστειρωμένο δοχείο. Αυτή η πίεση ενεργοποιεί την

έκκριση του δηλητηρίου από τους αδένες τους. Το δηλητήριο συλλέγεται και καταψύχεται ή λυοφιλιώνεται για μελλοντική χρήση (Alfaro-Chinchilla et al., 2021; Rathore et al., 2023).

Η πηγή του δηλητηρίου παίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του αντιοφικού ορού. Έχει παρατηρηθεί ότι τα δηλητήρια των φιδιών που ζουν ελεύθερα στη φύση μπορεί να έχουν διαφορετική σύσταση σε σχέση με εκείνα των φιδιών που διατηρούνται σε αιχμαλωσία, γεγονός που επηρεάζει την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος των ζώων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ορού (Farias et al., 2018; Rathore et al., 2023).

### 10.1.2 Επιλογή Ζώου για Ανοσοποίηση (Άλογα, Πρόβατα, Κουνέλια)

Το δεύτερο στάδιο αφορά την επιλογή των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή αντισωμάτων. Τα άλογα είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα ζώα, καθώς μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες αίματος και να ανέχονται μεγαλύτερες δόσεις δηλητηρίου χωρίς σοβαρές παρενέργειες.

Τα πρόβατα και τα κουνέλια χρησιμοποιούνται επίσης, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου απαιτούνται πιο εξειδικευμένοι οροί. Τα πρόβατα επιλέγονται λόγω της ικανότητάς τους να παράγουν αντισώματα με υψηλή εξειδίκευση, ενώ τα κουνέλια χρησιμοποιούνται κυρίως για ερευνητικούς σκοπούς (Lalloo et al, 2003).

Η επιλογή του ζώου καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η ανθεκτικότητά του στο δηλητήριο, η ποσότητα αντισωμάτων που μπορεί να παράγει και η γενική ευκολία στη διαχείρισή του. Παράλληλα, λαμβάνονται υπόψη βιοηθικοί προβληματισμοί σχετικά με την καλή διαβίωση των ζώων (Alomran et al., 2021).

### 10.1.3 Διαδικασία Ανοσοποίησης και Ανάπτυξη Αντισωμάτων

Αφού επιλεγεί το ζώο, ξεκινά η διαδικασία ανοσοποίησης, η οποία περιλαμβάνει την επαναλαμβανόμενη χορήγηση μικρών δόσεων δηλητηρίου για αρκετές εβδομάδες ή μήνες. Ο στόχος αυτής της διαδικασίας είναι να προκληθεί μια προοδευτική ανοσολογική απόκριση, ώστε το ζώο να παράγει αντισώματα ενάντια στις τοξίνες του δηλητηρίου (Farias et al., 2018; Rathore et al., 2023).

Η ανοσοποίηση πραγματοποιείται με την έγχυση του δηλητηρίου μαζί με ανοσοενισχυτικά που βοηθούν την ανοσολογική απόκριση. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, το ζώο παρακολουθείται στενά για πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες. Μόλις επιτευχθούν υψηλά επίπεδα αντισωμάτων στο αίμα του ζώου, πραγματοποιείται αιμοληψία για τη συλλογή πλάσματος (Castillo-Beltrán et al., 2019; Rathore et al., 2023).

#### 10.1.4 Καθαρισμός και Απομόνωση Αντισωμάτων (IgG, F(ab')<sub>2</sub>, Fab)

Το πλάσμα που συλλέγεται από τα ανοσοποιημένα ζώα περιέχει τα απαραίτητα αντισώματα, τα οποία πρέπει να καθαριστούν προκειμένου να παραχθεί ένας ασφαλής και αποτελεσματικός αντιοφικός ορός. Η διαδικασία καθαρισμού περιλαμβάνει διάφορες μεθόδους απομόνωσης των ανοσοσφαιρινών (Babaie et al., 2014).

Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στους αντιοφικούς ορούς:

- **Ολόκληρα IgG αντισώματα**, τα οποία περιλαμβάνουν όλες τις πρωτεϊνικές δομές του ανοσοσφαιρινικού μορίου.
- **Θραύσματα F(ab')<sub>2</sub>**, τα οποία είναι μικρότερα και έχουν μειωμένες πιθανότητες να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις.
- **Θραύσματα Fab**, τα οποία είναι ακόμα μικρότερα και επιτρέπουν γρηγορότερη κατανομή στο σώμα του ασθενούς (Gutiérrez, 2018; Lalloo et al., 2003).

Η επιλογή της μεθόδου καθαρισμού εξαρτάται από τις επιθυμητές ιδιότητες του τελικού προϊόντος και από τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες που μπορεί να προκληθούν (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

#### 10.1.5 Αποστείρωση και Έλεγχος Αποτελεσματικότητας

Το τελευταίο βήμα είναι η αποστείρωση και ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας του αντιοφικού ορού. Η αποστείρωση πραγματοποιείται με τη χρήση φίλτρων ή χημικών παραγόντων, ώστε να διασφαλιστεί ότι ο ορός δεν περιέχει βακτήρια ή άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς (Rathore et al., 2023).

Ο έλεγχος αποτελεσματικότητας περιλαμβάνει δοκιμές σε εργαστηριακό περιβάλλον και κλινικές δοκιμές, κατά τις οποίες εξετάζεται η ικανότητα του ορού να εξουδετερώνει το δηλητήριο (Mendes et al., 2018). Οι δοκιμές πραγματοποιούνται τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπινους ασθενείς, με στόχο την επιβεβαίωση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του προϊόντος. Τέλος, μετά την πιστοποίηση της ποιότητας, ο αντιοφικός ορός συσκευάζεται και διανέμεται σε υγειονομικές μονάδες και νοσοκομεία, ώστε να είναι άμεσα διαθέσιμος σε περιπτώσεις έκτακτης ανάγκης (Farias et al., 2018).

## 10.2 Νέες Προσεγγίσεις και Σύγχρονες Μέθοδοι Παραγωγής Αντιοφικών Ορών

Οι πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη καινοτόμων μεθόδων παραγωγής αντιοφικών ορών, με στόχο την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας, τη βελτίωση της ασφάλειας και τη μείωση του κόστους παραγωγής. Οι προσεγγίσεις αυτές διαφοροποιούνται από τις παραδοσιακές τεχνικές και εισάγουν νέες τεχνολογικές κατευθύνσεις, οι οποίες αναλύονται στις επόμενες ενότητες (Uko et al., 2024a).

### 10.2.1 Τεχνολογία Έκθεσης σε Βακτηριοφάγους (Φάγους) (Phage Display Technology)

Η τεχνολογία έκθεσης σε φάγους είναι μία πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την ανάπτυξη αντιοφικών ορών, προσφέροντας μια εναλλακτική μέθοδο σε σχέση με τις παραδοσιακές τεχνικές παραγωγής αντισωμάτων που βασίζονται σε εκτεταμένους εμβολιασμούς ζώων και χρονοβόρες διαδικασίες διαλογής. Η μέθοδος αυτή αντιμετωπίζει αποτελεσματικά τις προκλήσεις που σχετίζονται με την υψηλή τοξικότητα και τη χαμηλή ανοσογονικότητα ορισμένων πρωτεϊνών του δηλητηρίου (Uko et al., 2024a).

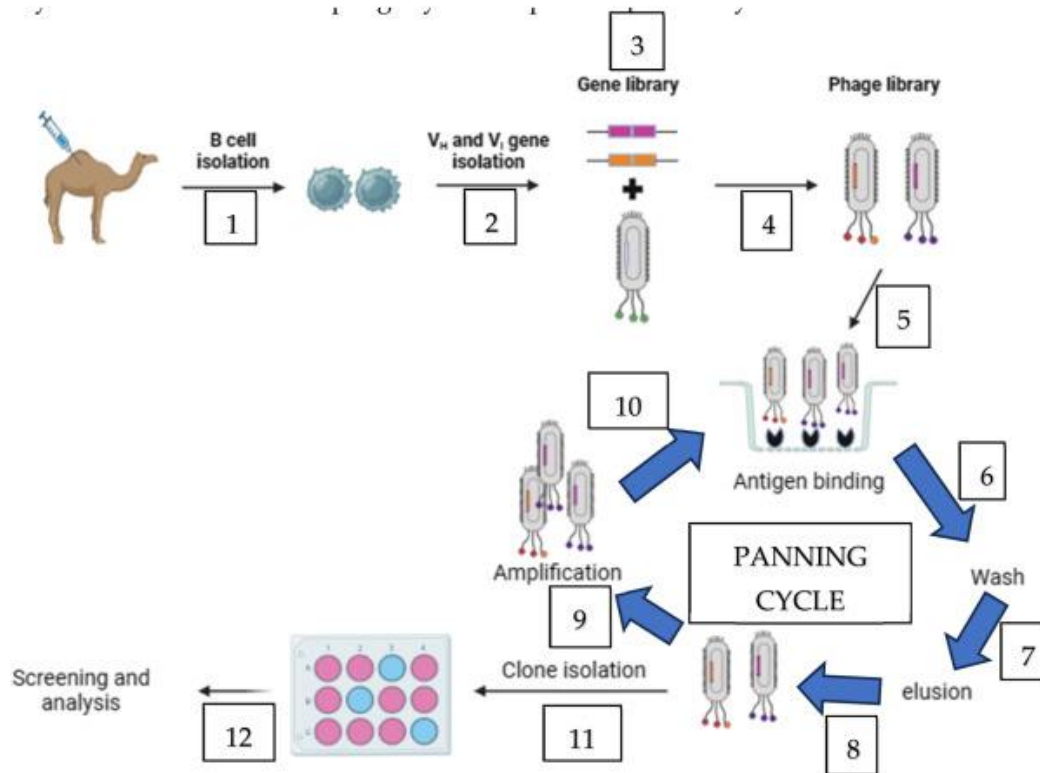
Η τεχνολογία επιτρέπει το γρήγορο screening πολλών αντισωμάτων για την εξουδετέρωση των τοξινών των ορών. Συγκεκριμένα, γονίδια αντισωμάτων ενσωματώνονται στο DNA βακτηριοφάγων και εκφράζονται στην επιφάνειά τους, επιτρέποντας τη μελέτη τους. Η τεχνολογία αυτή εκμεταλλεύεται την άμεση σύνδεση ανάμεσα στο γονότυπο των αντισωμάτων και στις λειτουργικές τους ιδιότητες δηλαδή στο φαινότυπό τους (Laustsen et al., 2017).

Η έκθεση σε φάγους συνήθως περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα. Αρχικά γίνεται η ανοσοποίηση των ζώων όπως καμήλες ή λάμα με το δηλητήριο ή το μείγμα δηλητηρίων που μελετάται. Στη συνέχεια μόλις περάσουν μερικές εβδομάδες και το ζώο έχει παράξει αντισώματα απομονώνονται τα Β λεμφοκύτταρα (Uko et al., 2024a). Έπειτα απομονώνονται τα γονίδια των αντισωμάτων (που περιέχουν συγκεκριμένα θραύσματα των ελαφριών και των βαριών αλυσίδων τους  $V_H$  και  $V_L$ ). Τα αντισώματα που απομονώθηκαν χρησιμοποιούνται για να παραχθεί μία γενετική βιβλιοθήκη σε φάγους, οι οποίοι εκφράζουν αυτά τα αντισώματα στην επιφάνειά τους (Laustsen, 2016). Διάφορα συστήματα βακτηριοφάγων μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όπως οι T4, λ (λάμδα) και M13.

Έπειτα γίνονται διάφοροι κύκλοι επιλογής των αντισωμάτων που έχουν ισχυρότερη σύνδεση στις τοξίνες του δηλητηρίου, δηλαδή βασίζονται στη συγγένεια αντιγόνου (τοξίνης) αντισώματος. Χρησιμοποιούνται πάνελ επιλογής τα οποία περιλαμβάνουν μείγματα από τις τοξίνες έναντι των οποίων αναζητάται αντίσωμα αλλά και άλλα μόρια που βοηθούν τη διαδικασία. Η κύκλοι επιλογής είναι αρκετοί και πραγματοποιούνται ώστε να απομονωθούν τα αντισώματα που έχουν ισχυροί σύνδεση με τα μόρια των τοξινών και άρα πιο υποσχόμενες προοπτικές στην παραγωγή αντιοφικών ορών. Συχνά ανάμεσα στους κύκλους επιλογής παρεμβάλλονται και κύκλοι «αρνητικής επιλογής» ώστε να απομακρυνθούν πιο εύκολα μόρια που δεν έχουν τη δυνατότητα εξουδετέρωσης των τοξινών. Στο τέλος της διαδικασίας τα αντισώματα που έχουν επιλεγεί απομονώνονται και παράγονται με ανασυνδυασμένο τρόπο (recombinant protein expression) στο εργαστήριο σε διάφορες ανασυνδυασμένες κυτταρικές σειρές όπως θηλαστικών ή βακτηρίων. Στη συνέχεια τα αντισώματα που παράγονται με ανασυνδυασμένο τρόπο χρησιμοποιούνται για περαιτέρω μελέτες ώστε να διαπιστωθεί αν είναι ασφαλή και αποτελεσματικά.

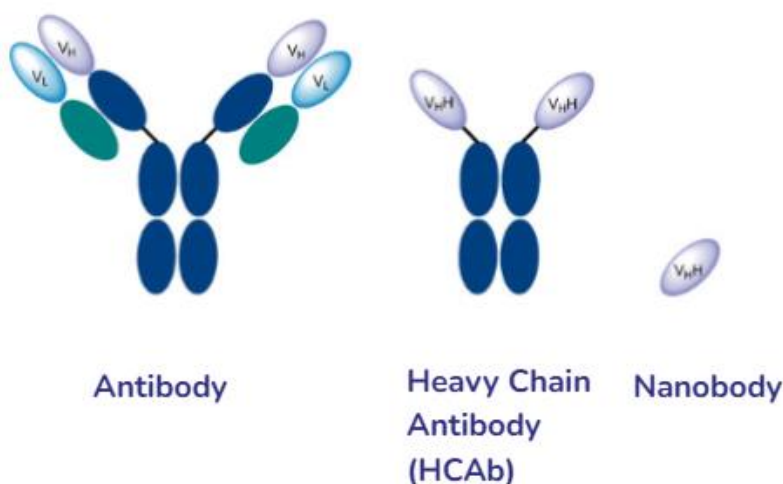
Η αποδοτικότητα των πειραμάτων έκθεσης σε φάγους επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως η συγγένεια των τμημάτων αντισωμάτων, τα επίπεδα έκφρασης τους και η τοξικότητα των αντισωμάτων, και η κλωνική παραλλαγή (clonal variation: οι γενετικές διαφορές που προκύπτουν ανάμεσα στα θυγατρικά κύτταρα και στο μητρικό). Παρά τις τεχνικές αυτές προκλήσεις, η έκθεση σε φάγους επιτρέπει την ταχεία ανακάλυψη αντισωμάτων ιδιαίτερα υψηλής συγγένειας έναντι οφικών τοξινών. Ο συνδυασμός έκθεσης σε φάγους με την παραγωγή αντισωμάτων με

ανασυνδυασμένο τρόπο βοηθά τη βαθύτερη κατανόηση της σύστασης των δηλητηρίων και επιταχύνει την ανάπτυξη καινοτόμων αντιοφικών ορών προσφέροντας μια ασφαλέστερη, ταχύτερη και πιο ελεγχόμενη εναλλακτική σε σχέση με την παραδοσιακή παραγωγή (Uko et al., 2024a).



Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας έκθεσης σε φάγους (Uko et al., 2024a).

### 10.2.2 Τεχνολογία Αντισωμάτων Μονής Αλυσίδας – Nanobodies Technology (Single-domain antibodies (Nanobodies))



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση συμβατικού αντισώματος, αντισώματος βαριάς αλυσίδας (HCAb) και Nanobody (V<sub>H</sub>H) (Küppers et al., 2021)

Τα Nanobodies είναι πολλά υποσχόμενα μόρια για την ανάπτυξη της επόμενης γενιάς αντιοφικών ορών. Αποτελούν έναν ιδιαίτερο τύπο θραυσμάτων αντισωμάτων που προέρχονται από το ανοσοποιητικό σύστημα των καμηλοειδών, όπως καμήλες, λάμα και αλπακά. Τα συμβατικά αντισώματα αποτελούνται από δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες και δύο πανομοιότυπες ελαφριές αλυσίδες, σχηματίζοντας ένα μόριο σε σχήμα Υ με ικανότητα σύνδεσης αντιγόνων. Ωστόσο, τα καμηλοειδή διαθέτουν μία μοναδική κατηγορία αντισωμάτων που στερούνται ελαφριών αλυσίδων και του πρώτου σταθερού τομέα (CH1) της βαριάς αλυσίδας. Αυτά είναι γνωστά ως αντισώματα βαριάς αλυσίδας (heavy chain antibody - HCAb). Η περιοχή δέσμευσης αντιγόνου σε αυτά τα αντισώματα βαριάς αλυσίδας περιέχεται εξ ολοκλήρου σε έναν μόνο τμήμα της μεταβλητής αλυσίδας του αντισώματος και ονομάζεται VHH ή αλλιώς Nanobody. Το Nanobody μπορεί να απομονωθεί από το υπόλοιπο αντίσωμα και να διατηρεί πλήρη ικανότητα δέσμευσης αντιγόνου (Alirahimi et al., 2018; Uko et al., 2024a).

Τα Nanobodies είναι σημαντικά μικρότερα σε μέγεθος από τα συμβατικά αντισώματα, ωστόσο διατηρούν υψηλή συγγένεια και εξειδίκευση για τους στόχους-αντιγόνα (τοξίνες), ώστε να μπορούν να εξουδετερώσουν τα συστατικά των δηλητηρίων. Επίσης έχουν υψηλή σταθερότητα, αυξημένη διαλυτότητα και ικανότητα πρόσβασης σε επιτόπους που είναι συχνά απρόσιτοι για τα πλήρους μεγέθους αντισώματα. Τέλος παρουσιάζουν ανθεκτικότητα, ταχεία κατανομή στους ιστούς και μειωμένη ανοσογονικότητα στον άνθρωπο (Uko et al., 2024a).

Τα Nanobodies παράγονται με μία διαδικασία παρόμοια με εκείνη που περιγράφηκε στην ενότητα [Τεχνολογία Έκθεσης σε Βακτηριοφάγους \(10.2.1\)](#). Αρχικά πραγματοποιείται η ανοσοποίηση ζώων, όπως λάμα και αλπακά με το επιθυμητό αντιγόνο, δηλαδή μείγμα δηλητηρίων ή τοξινών από φίδια. Μετά την ανοσοποίηση, συλλέγονται τα λεμφοκύτταρα και απομονώνονται τα γονίδια που κωδικοποιούν τις μεταβλητές περιοχές των αντισωμάτων που αποτελούνται μόνο από βαριές αλυσίδες (VHH). Αυτά τα γονίδια στη συνέχεια κλωνοποιούνται σε κατάλληλο φορέα, συχνά σε βιβλιοθήκες με φάγους (phage display), ώστε να είναι δυνατή η επιλογή και απομόνωση Nanobodies που δεσμεύουν ειδικά το αντιγόνο στόχο (Alirahimi et al., 2018). Μετά από αυτή τη διαδικασία τα Nanobodies μπορούν να παράγονται μαζικά σε

μικροβιακά συστήματα έκφρασης, όπως με τη χρήση ανασυνδυασμένων βακτηρίων *Escherichia coli*, γεγονός που καθιστά δυνατή την οικονομικότερη και πιο αποδοτική παραγωγή τους σε μεγάλη κλίμακα (Laustsen et al., 2017).

Πειραματικές μελέτες έχουν αναδείξει τη θεραπευτική δυναμική των nanobodies έναντι του δηλητηρίου του *Bothrops atrox*, όπου κατάφεραν να εξουδετερώσουν αποτελεσματικά τοπικές βλάβες στους ιστούς, όπως η αιμορραγία και η νέκρωση των μυών (Bailon et al., 2020). Παρ' όλα αυτά, η ικανότητά τους να αποτρέψουν τη συστηματική θνησιμότητα παραμένει υπό διερεύνηση. Ένας περιορισμός σχετίζεται με την ταχεία νεφρική κάθαρση λόγω του μικρού τους μεγέθους, με περισσότερα από τα μισά μόρια να απομακρύνονται εντός μίας ώρας. Ο σύντομος χρόνος ημιζωής δημιουργεί προκλήσεις για τη διατήρηση της θεραπευτικής δράσης.

Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων, έχουν προταθεί στρατηγικές όπως ο σχεδιασμός πολυδύναμων δομών nanobodies στα οποία σε ένα μόνο μόριο ενσωματώνονται πολλαπλοί τομείς σύνδεσης. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται το μοριακό μέγεθος, βελτιώνεται η συγγένεια σύνδεσης και ενισχύονται οι φαρμακοκινητικές ιδιότητές τους.

Αν και βρίσκονται ακόμη σε προκλινικό στάδιο, τα θεραπευτικά προϊόντα που βασίζονται στα Nanobodies αποτελούν έναν πολλά υποσχόμενο ορίζοντα για τα τους αντιοφικούς ορούς νέας γενιάς ενισχύοντας την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα και τη διαθεσιμότητα των θεραπειών (Uko et al., 2024a).

### 10.2.3 Παραγωγή αντιοφικών ορών χωρίς τη χρήση δηλητηρίου φιδιών

Η ανάπτυξη αντιοφικών ορών παραδοσιακά βασίζεται στη συλλογή και χρήση δηλητηρίων, μία διαδικασία ιδιαίτερα απαιτητική και επικίνδυνη, καθώς προϋποθέτει τον χειρισμό δηλητηριωδών φιδιών. Επιπλέον, η διαδικασία αυτή είναι χρονοβόρα, κοστοβόρα και συνοδεύεται από ηθικές προκλήσεις που σχετίζονται με τη χρήση ζώων. Η απομάκρυνση της ανάγκης χρήσης δηλητηρίου κατά την παραγωγή αντιοφικών ορών θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά τόσο τον κίνδυνο όσο και τον φόρτο εργασίας. Ωστόσο, το δηλητήριο παραμένει απαραίτητο για τον έλεγχο ποιότητας και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντιοφικών (Bermúdez-Méndez et al., 2018).

Μία καινοτόμος προσέγγιση αξιοποιεί τη γενετική μηχανική και τη βιοπληροφορική με στόχο την παραγωγή ειδικών για τις τοξίνες ορών χωρίς τη μεσολάβηση οφικού δηλητηρίου. Η στρατηγική αυτή στηρίζεται στη δημιουργία ανασυνδυασμένων μορίων που μιμούνται τις τοξίνες, φέροντας τους ίδιους επιτόπους ώστε να προκαλούν παρόμοια ανοσολογική απόκριση. Μέσω εργαλείων βιοπληροφορικής εντοπίζονται οι συντηρημένες περιοχές των τοξινών που ευθύνονται για την ανοσολογική δράση και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αυτών των συνθετικών μορίων. Η ανοσοποίηση με τέτοια μόρια ενεργοποιεί την παραγωγή μεγάλου αριθμού ειδικών αντισωμάτων, ικανών να εξουδετερώσουν τις βλάβες που προκαλούνται από τα δηλητήρια (Uko et al., 2024a).

Σε αυτό το πλαίσιο, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση των consensus τοξινών (consensus toxins), δηλαδή συνθετικών μορίων που σχεδιάζονται με βάση τις συντηρημένες δομικές και αντιγονικές περιοχές πολλών τοξινών. Πρόκειται ουσιαστικά για «μέσες» τοξίνες που συνδυάζουν χαρακτηριστικά πολλών διαφορετικών ειδών, επιτρέποντας την πρόκληση ανοσολογικής απόκρισης ευρύτερου φάσματος. Αν και η προσέγγιση αυτή έχει εφαρμοστεί σε άλλους οργανισμούς, όπως αράχνες και σκορπιούς, η αξιοποίησή της στα οφικά δηλητήρια βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο. Οι consensus τοξίνες προσφέρουν τη δυνατότητα ανάπτυξης αντισωμάτων με ευρύτερο φάσμα δράσης, καθώς στοχεύουν κοινούς επιτόπους που απαντώνται σε πολλαπλά είδη και οικογένειες φιδιών. Έτσι, μπορούν να συμβάλουν στη δημιουργία αντιοφικών ορών που καλύπτουν περισσότερα είδη με ένα μόνο σκεύασμα, απλοποιώντας τη θεραπεία και βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητά της (Jensen, 2023).

Παράλληλα, ερευνητές έχουν προτείνει και υπολογιστικές προσεγγίσεις, όπως η ανάπτυξη μοντέλων in silico, τα οποία προσομοιώνουν τη συστηματική δηλητηρίαση και τη θεραπευτική της αντιμετώπιση. Αναλύοντας παραμέτρους όπως το μοριακό μέγεθος και τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά, τα μοντέλα αυτά επιτρέπουν τη σύγκριση ορών διαφορετικής σύστασης για την εξουδετέρωση ενός δηλητηρίου (Uko et al., 2024a). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί πρόσφατη μελέτη για το δηλητήριο του φιδιού *Naja sumatrana*, στην οποία τα μοντέλα in silico έδειξαν ότι η χρήση ανασυνδυασμένων αντιοφικών μπορεί να μειώσει σημαντικά τη δόση που απαιτείται για αποτελεσματική θεραπεία (Morris et al., 2022a).

Τέλος, οι πρόοδοι στη γονιδιωματική των φιδιών αναμένεται να ενισχύσουν περαιτέρω την ανάπτυξη αντιοφικών ορών νέας γενιάς. Μέχρι σήμερα έχουν αλληλουχηθεί πλήρως μόλις 21 γονιδιώματα φιδιών. Η δημιουργία μιας εκτενέστερης βάσης δεδομένων για τα γονιδιώματα των δηλητηριωδών φιδιών θα προσφέρει πολύτιμες γνώσεις για την προσαρμογή και εξέλιξη των δηλητηρίων και θα λειτουργήσει ως καταλύτης για τον σχεδιασμό συνθετικών και ανασυνδυασμένων αντιοφικών ορών της επόμενης γενιάς (Uko et al., 2024a).

## **11. Αποτελέσματα – Συζήτηση**

### **11.1 Προβλήματα και Μειονεκτήματα των Παραδοσιακών Μεθόδων**

Παρόλο που η παραδοσιακή μέθοδος παραγωγής αντιοφικών ορών έχει σώσει εκατομμύρια ζωές παγκοσμίως, παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα. Οι προκλήσεις που σχετίζονται με αυτή τη διαδικασία αφορούν κυρίως τη φυσική μεταβλητότητα στη σύσταση των δηλητηρίων, την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών στους ασθενείς, τη δυσκολία πλήρους εξουδετέρωσης όλων των τοξινών, καθώς και το υψηλό κόστος παραγωγής. Επιπλέον, σημαντικό ζήτημα αποτελεί η ανάγκη επιλογής μεταξύ μονοσθενών και πολυσθενών ορών· δηλαδή, μεταξύ ορών που εξουδετερώνουν ένα μόνο είδος δηλητηρίου και εκείνων που στοχεύουν ταυτόχρονα πολλαπλά είδη (Babaie et al., 2013; Alomran et al., 2021).

#### **11.1.1 Μεταβλητότητα στη Σύθεση του Δηλητηρίου**

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι επιστήμονες είναι η φυσική μεταβλητότητα των οφικών δηλητηρίων. Η σύσταση του δηλητηρίου ενός φιδιού μπορεί να διαφέρει ανάλογα με πολλούς παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, η διατροφή και το περιβάλλον του φιδιού (Farias et al., 2018). Επιπλέον, φίδια που ζουν σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές μπορεί να έχουν δηλητήρια με σημαντικές διαφοροποιήσεις στη σύθεση των τοξινών, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα των αντιοφικών ορών που παράγονται με βάση ένα συγκεκριμένο μίγμα δηλητηρίων (Braga et al., 2022).

Η μεταβλητότητα αυτή σημαίνει ότι ένας αντιοφικός ορός που είναι αποτελεσματικός σε ένα είδος φιδιού που προέρχεται από μια συγκεκριμένη περιοχή μπορεί να είναι λιγότερο αποτελεσματικός σε φίδια του ίδιου είδους από διαφορετική γεωγραφική

κατανομή (Castillo-Beltrán et al., 2019). Έτσι, η ανάπτυξη αντιοφικών ορών με σταθερή και αποτελεσματική δράση απαιτεί τη συλλογή δηλητηρίων από διαφορετικά άτομα και περιοχές, γεγονός που καθιστά τη διαδικασία πιο δύσκολη και δαπανηρή (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

### 11.1.2 Αλλεργικές Αντιδράσεις και Παρενέργειες

Ένα ακόμη κρίσιμο ζήτημα των παραδοσιακών αντιοφικών ορών είναι η πιθανότητα πρόκλησης ανεπιθύμητων ενεργειών στους ασθενείς. Οι περισσότεροι αντιοφικοί οροί παράγονται από ανοσοποιημένα ζώα, όπως άλογα ή πρόβατα, και περιέχουν πρωτεΐνες που μπορεί να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις σε ανθρώπους.

Μία από τις πιο σοβαρές παρενέργειες είναι η αναφυλαξία, μια αλλεργική αντίδραση που μπορεί να οδηγήσει σε υπόταση και καρδιοαγγειακή καταπληξία (de Silva et al., 2016). Επιπλέον, οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν αντιδράσεις υπερευαισθησίας, όπως εξανθήματα, κνησμό ή άλλες δερματικές εκδηλώσεις, που ενδέχεται να συνοδεύονται από πυρετό ή φλεγμονή σε σοβαρότερες περιπτώσεις (Alomran et al., 2021).

Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, έχουν αναπτυχθεί τεχνικές καθαρισμού των ορών, όπως η απομόνωση του ανοσοσφαιρινικού τμήματος  $F(ab')_2$ , το οποίο μειώνει την πιθανότητα αλλεργικών αντιδράσεων (Gutiérrez, 2018). Ωστόσο, η πλήρης εξάλειψη των παρενεργειών παραμένει μια σημαντική πρόκληση.

### 11.1.3 Περιορισμένη Εξουδετέρωση Όλων των Τοξινών

Τα οφικά δηλητήρια αποτελούνται από μια πολύπλοκη ποικιλία τοξινών, συμπεριλαμβανομένων νευροτοξινών, αιμορραγικών τοξινών και κυτταροτοξινών. Οι αντιοφικοί οροί συχνά περιέχουν αντισώματα που στοχεύουν τις πιο ισχυρές τοξίνες ενός δηλητηρίου, αλλά μπορεί να μην εξουδετερώνουν όλες τις τοξίνες που περιέχονται σε αυτό (Farias et al., 2018).

Η περιορισμένη ικανότητα εξουδετέρωσης όλων των τοξινών σημαίνει ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμη και μετά τη χορήγηση αντιοφικού ορού, οι ασθενείς μπορεί να υποστούν μακροχρόνιες επιπλοκές, όπως νευρολογικές βλάβες ή νεφρική ανεπάρκεια (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

#### 11.1.4 Κόστος και Δυσκολία Μαζικής Παραγωγής

Η παραγωγή αντιοφικών ορών είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό, κατάλληλες υποδομές και συνεχή παρακολούθηση των ανοσοποιημένων ζώων. Η ανάγκη συλλογής μεγάλων ποσοτήτων δηλητηρίου από φίδια, καθώς και η εκτροφή και φροντίδα των ζώων που χρησιμοποιούνται για την ανοσοποίηση, αυξάνουν σημαντικά το κόστος παραγωγής και καθιστούν απαραίτητη την τήρηση αυστηρών μέτρων ασφαλείας για το προσωπικό (Rathore et al., 2023).

Επιπλέον, οι αντιοφικοί οροί συχνά έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής και απαιτούν αυστηρές συνθήκες αποθήκευσης, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη διανομή τους σε απομακρυσμένες περιοχές, όπου οι δηλητηριάσεις από φίδια είναι συχνές (Mendes et al., 2018).

#### 11.1.5 Επιλογή μεταξύ Μονοσθενών και Πολυσθενών Αντιοφικών Ορών

Ένα ακόμη σημαντικό ζήτημα είναι η επιλογή μεταξύ μονοσθενών και πολυσθενών αντιοφικών ορών. Οι μονοσθενείς οροί στοχεύουν το δηλητήριο ενός συγκεκριμένου είδους φιδιού, προσφέροντας υψηλή εξειδίκευση και αποτελεσματικότητα. Ωστόσο, έχουν περιορισμένη χρησιμότητα σε περιπτώσεις όπου το φίδι που προκάλεσε τη δηλητηρίαση δεν μπορεί να αναγνωρισθεί (Alomran et al., 2021).

Αντίθετα, οι πολυσθενείς οροί παράγονται με τη χρήση δηλητηρίων από διαφορετικά είδη φιδιών και μπορούν να καλύψουν ένα ευρύτερο φάσμα δηλητηριάσεων. Ωστόσο, η παραγωγή τους απαιτεί περισσότερους πόρους και συχνά οδηγεί σε χαμηλότερη εξειδίκευση έναντι συγκεκριμένων τοξινών (Alfaro-Chinchilla et al., 2021).

#### 11.2 Σύγκριση Παραδοσιακών και Σύγχρονων Μεθόδων Παραγωγής

Οι σύγχρονες μέθοδοι παραγωγής αντιοφικών ορών προσφέρουν σαφώς αυξημένη ακρίβεια στην εξουδετέρωση των τοξινών, επιτρέποντας την ανάπτυξη θεραπειών με υψηλότερη αποτελεσματικότητα και εξειδίκευση. Παράλληλα συμβάλλουν στη σημαντική μείωση των ανεπιθύμητων ενεργειών, οι οποίες συχνά παρατηρούνται με τους παραδοσιακούς αντιοφικούς ορούς, ιδίως των αλλεργικών και αναφυλακτικών αντιδράσεων (Gutiérrez, 2018; Rathore et al., 2023).

Ένα ακόμη πλεονέκτημα των σύγχρονων προσεγγίσεων είναι ότι περιορίζουν δραστικά τη χρήση ζώων στη διαδικασία παραγωγής, καθιστώντας τες περισσότερο ηθικά αποδεκτές. Επιπλέον, έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν το συνολικό κόστος παραγωγής και διανομής, διευκολύνοντας έτσι την ευρύτερη και ισότιμη πρόσβαση σε αποτελεσματικά αντιοφικά προϊόντα (Alomran et al., 2021; Rathore et al., 2023).

Οι σύγχρονες μέθοδοι παραγωγής αντιοφικών ορών υπόσχονται σημαντικές βελτιώσεις στην αποτελεσματικότητα, την ασφάλεια και τη διαθεσιμότητα των θεραπειών για δηλητηριάσεις από φίδια. Με τη συνεχή έρευνα και τις καινοτόμες τεχνικές, η ανάπτυξη πιο αποδοτικών και οικονομικά βιώσιμων λύσεων καθίσταται εφικτή (Alfaro-Chinchilla et al., 2021; Rathore et al., 2023).

### 11.3 Πιθανές Μελλοντικές Ιατρικές Εφαρμογές

Μία από τις σημαντικότερες μελλοντικές εφαρμογές των οφικών τοξινών στην ιατρική αφορά την αντικαρκινική θεραπεία. Μέχρι σήμερα τα περισσότερα αποτελέσματα προέρχονται από πειραματικές και προκλινικές μελέτες, φαίνεται, όμως, ότι τοξίνες όπως η κροταμίνη ή η LAAO που έχουν, ήδη, δείξει ισχυρή κυτταροτοξική δράση σε καρκινικά κύτταρα. Η προοπτική είναι ότι στο μέλλον θα μπορούσαν να αναπτυχθούν στοχευμένα αντικαρκινικά φάρμακα, είτε με άμεση χρήση των τοξινών, είτε μέσω τεχνολογιών όπως η νανοτεχνολογία και η immunotoxin therapy, που επιτρέπουν ακριβέστερη μεταφορά τους στον όγκο με περιορισμένη τοξικότητα σε υγιείς ιστούς. Παράλληλα, η πρόοδος στη γενετική μηχανική και στη συνθετική βιολογία επιτρέπει την παραγωγή ανασυνδυασμένων μορίων των τοξινών, ανοίγοντας τον δρόμο για ασφαλέστερες και πιο ελεγχόμενες θεραπείες. Αν και χρειάζονται εκτενείς κλινικές δοκιμές, τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν ότι τα δηλητήρια φιδιών ενδέχεται να αποτελέσουν στο μέλλον σημαντικά όπλα κατά του καρκίνου (Mohamed Abd El-Aziz et al., 2019; Oliveira et al., 2022; Soares et al., 2025).

Επιπλέον, οι νευροτοξίνες των οφικών δηλητηρίων θεωρούνται υποσχόμενες για τη μελέτη και αντιμετώπιση νευρολογικών ασθενειών. Στο μέλλον, η ικανότητά τους να στοχεύουν συγκεκριμένους ιοντικούς διαύλους και υποδοχείς μπορεί να αξιοποιηθεί για την ανάπτυξη νέων θεραπειών σε παθήσεις όπως η επιληψία, η πολλαπλή σκλήρυνση και η νόσος Alzheimer, ενώ διερευνάται και η χρήση τους στη δημιουργία

μη εθιστικών αναλγητικών για χρόνιο πόνο (Diniz-Sousa et al., 2023a; Trim et al., 2013).

## **12. Συμπεράσματα**

Τα οφικά δηλητήρια, από φυσικά μέσα επιβίωσης και άμυνας των φιδιών, μετατρέπονται σήμερα σε πολύτιμα εργαλεία της σύγχρονης έρευνας. Η εξαιρετική μοριακή εξειδίκευση των τοξινών τους τα καθιστά ιδανικούς υποψήφιους για τη στοχευμένη παρέμβαση σε φυσιολογικές διεργασίες, με εφαρμογές σε πολλούς τομείς όπως την Ιατρική και τη Βιοτεχνολογία.

Παράλληλα, η πρόοδος στη βιοτεχνολογία επιτρέπει την παραγωγή ασφαλέστερων, πιο αποτελεσματικών και οικονομικά προσβάσιμων αντιοφικών ορών, μειώνοντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες και αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα τους σε περιοχές υψηλού κινδύνου.

Συνολικά, η μελέτη των οφικών δηλητηρίων δεν αφορά μόνο τη βιολογική κατανόησή τους, αλλά ανοίγει τον δρόμο για την ανάπτυξη καινοτόμων εφαρμογών. Μελλοντικές έρευνες και επενδύσεις στον τομέα αυτό μπορούν να ενισχύσουν τη δημόσια υγεία, να προάγουν τη φαρμακευτική καινοτομία και να αναδείξουν τα δηλητήρια όχι ως απειλές, αλλά ως σύμμαχους του ανθρώπου.



### 13. Πηγές

- Alfaro-Chinchilla, A., Segura, Á., Gómez, A., Díaz, C., Corrales, G., Chacón, D., Arguedas, M., Estrada, R., Gutiérrez, J. M., & León, G. (2021). Expanding the neutralization scope of the Central American Antivenom (Polival-ICP) to include the venom of *Crotalus durissus pifanorum*. *Journal of Proteomics*, 246, 104315. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104315>
- Alirahimi, E., Kazemi-Lomedasht, F., Shahbazzadeh, D., Habibi-Anbouhi, M., Hosseinienejad Chafi, M., Sotoudeh, N., Ghaderi, H., Muiyldermans, S., & Behdani, M. (2018). Nanobodies as novel therapeutic agents in Envenomation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1862(12), 2955–2965. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.08.019>
- Allahyari, H., Heidari, S., Ghamgosha, M., Saffarian, P., & Amani, J. (2017). Immunotoxin: A new tool for cancer therapy. *Tumor Biology*, 39(2). <https://doi.org/10.1177/1010428317692226>
- Alomran, N., Alsolaiss, J., Albulescu, L.-O., Crittenden, E., Harrison, R. A., Ainsworth, S., & Casewell, N. R. (2021). Pathology-specific experimental antivenoms for haemotoxic snakebite: The impact of immunogen diversity on the *in vitro* cross-reactivity and *in vivo* neutralisation of geographically diverse snake venoms. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009659>
- Avella, I., Wüster, W., Luiselli, L., & Martínez-Freiría, F. (2022). Toxic habits: An analysis of general trends and biases in snake venom research. *Toxins*, 14(12), 884. <https://doi.org/10.3390/toxins14120884>
- Babaie, M., Salmanizadeh, H., & Zolfagharian, H. (2013). Blood coagulation induced by Iranian saw-scaled viper (*Echis carinatus*) venom: Identification, purification, and characterization of a prothrombin activator. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(11), 1145–1150.

- Babaie, M., Salmanizadeh, H., Zolfagharian, H., & Alizadeh, H. (2014). Properties of biological and biochemical effects of the Iranian saw-scaled viper (*Echis carinatus*) venom. *Bratislava Medical Journal*, 115(7), 434–438. [https://doi.org/10.4149/BLL\\_2014\\_085](https://doi.org/10.4149/BLL_2014_085)
- Bailon Calderon, H., Yaniro Coronel, V. O., Cáceres Rey, O. A., Colque Alave, E. G., Leiva Duran, W. J., Padilla Rojas, C., Montejó Arevalo, H., García Neyra, D., Galarza Pérez, M., Bonilla, C., Tintaya, B., Ricciardi, G., Smiejkowska, N., Romão, E., Vincke, C., Lévano, J., Celys, M., Lomonte, B., & Muyldermans, S. (2020). Development of nanobodies against hemorrhagic and myotoxic components of *Bothrops atrox* snake venom. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00655>
- Bermúdez-Méndez, E., Fuglsang-Madsen, A., Føns, S., Lomonte, B., Gutiérrez, J. M., & Laustsen, A. H. (2018). Innovative immunization strategies for Antivenom Development. *Toxins*, 10(11), 452. <https://doi.org/10.3390/toxins10110452>
- Bhowmik, T., & Gomes, A. (2016). NKCT1 (purified naja kaouthia protein toxin) conjugated gold nanoparticles induced AKT/mTOR inactivation mediated autophagic and caspase 3 activated apoptotic cell death in Leukemic Cell. *Toxicon*, 121, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.08.004>
- Bittenbinder, M. A., van Thiel, J., Cardoso, F. C., Casewell, N. R., Gutiérrez, J.-M., Kool, J., & Vonk, F. J. (2024). Tissue damaging toxins in snake venoms: Mechanisms of action, pathophysiology and treatment strategies. *Communications Biology*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06019-6>
- Boldrini-França, J., Pinheiro-Junior, E. L., Peigneur, S., Pucca, M. B., Cerni, F. A., Borges, R. J., Costa, T. R., Carone, S. E., Fontes, M. R., Sampaio, S. V., Arantes, E. C., & Tytgat, J. (2020). Beyond hemostasis: A snake venom serine protease with potassium channel blocking and potential antitumor activities. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61258-x>
- Braga, J. R., Oitaven, L. P., Da Rocha, M. M., Vieira, S. E., Rúbio, D. T., Sant'anna, S. S., & Grego, K. F. (2022). Influence of size, sex, and age on venom yield of *Bothrops leucurus*

- (*Serpentes, Viperidae*) in captivity conditions. *Basic and Applied Herpetology*, 36, 31–45. <https://doi.org/10.11160/bah.233>
- Casewell, N. R., Wüster, W., Vonk, F. J., Harrison, R. A., & Fry, B. G. (2013a). Complex cocktails: The Evolutionary Novelty of Venoms. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(4), 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.020>
- Castillo-Beltrán, M. C., Hurtado-Gómez, J. P., Corredor-Espinel, V., & Ruiz-Gómez, F. J. (2019). A polyvalent coral snake antivenom with broad neutralization capacity. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007250>
- Castro-Amorim, J., Novo de Oliveira, A., Da Silva, S. L., Soares, A. M., Mukherjee, A. K., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2023). Catalytically active snake venom PLA2 enzymes: An overview of its elusive mechanisms of reaction. *Journal of Medicinal Chemistry*, 66(8), 5364–5376. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00097>
- Casewell, N. R., Wüster, W., Vonk, F. J., Harrison, R. A., & Fry, B. G. (2013a). Complex cocktails: The Evolutionary Novelty of Venoms. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(4), 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.020>
- Chan, Y. S., Cheung, R. C., Xia, L., Wong, J. H., Ng, T. B., & Chan, W. Y. (2016). Snake venom toxins: Toxicity and medicinal applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(14), 6165–6181. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7610-9>
- Costal-Oliveira, F., Stransky, S., Guerra-Duarte, C., Naves de Souza, D. L., Vivas-Ruiz, D. E., Yarlequé, A., Sanchez, E. F., Chávez-Olórtegui, C., & Braga, V. M. (2019). L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom triggers autophagy, apoptosis and necrosis in normal human keratinocytes. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37435-4>
- Death rate from venomous snakes*. Our World in Data. (n.d.). <https://ourworldindata.org/grapher/death-rate-from-snakebite-evenenoming>
- den Berg, B. van, Tessari, M., Boelens, R., Dijkman, R., de Hass, G. H., Kaptein, R., & Verheij, H. M. (1995). NMR structures of phospholipase A2 reveal conformational changes during

interfacial activation. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2(5), 402–406.  
<https://doi.org/10.1038/nsb0595-402>

Diniz-Sousa, R., Caldeira, C. A., Pereira, S. S., Da Silva, S. L., Fernandes, P. A., Teixeira, L. M. C., Zuliani, J. P., & Soares, A. M. (2023a). Therapeutic applications of Snake Venoms: An invaluable potential of new drug candidates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 238, 124357. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124357>

de Silva, H. A., Ryan, N. M., & de Silva, H. J. (2016). Adverse reactions to snake antivenom, and their prevention and treatment. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81(3), 446–452. <https://doi.org/10.1111/bcp.12739>

Farrar, J., Hotez, P., Junghanss, T., Kang, G., Lalloo, D., & White, N. J. (Eds.). (2014). *Manson's tropical diseases* (23rd ed.). Elsevier Saunders.

Farias, I. B., Morais-Zani, K. de, Serino-Silva, C., Sant'Anna, S. S., Rocha, M. M. T., Grego, K. F., Andrade-Silva, D., Serrano, S. M. T., & Tanaka-Azevedo, A. M. (2018). Functional and proteomic comparison of *Bothrops jararaca* venom from captive specimens and the Brazilian bothropic reference venom. *Journal of Proteomics*, 174, 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.12.008>

Fonar, G., Polis, B., Sams, D. S., Levi, A., Malka, A., Bal, N., Maltsev, A., Elliott, E., & Samson, A. O. (2021). Modified snake  $\alpha$ -neurotoxin averts  $\beta$ -amyloid binding to  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor and reverses cognitive deficits in alzheimer's disease mice. *Molecular Neurobiology*, 58(5), 2322–2341. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02270-0>

Galizio, N. da, Serino-Silva, C., Stuginski, D. R., Abreu, P. A., Sant'Anna, S. S., Grego, K. F., Tashima, A. K., Tanaka-Azevedo, A. M., & Morais-Zani, K. de. (2018). Compositional and functional investigation of individual and pooled venoms from long-term captive and recently wild-caught *Bothrops jararaca* snakes. *Journal of Proteomics*, 186, 56–70. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.07.007>

Grumezescu, A. M. (2016). *Surface Chemistry of nanobiomaterials: Applications of nanobiomaterials*. William Andrew is an imprint of Elsevier.

- Guidolin, F. R., Caricati, C. P., Marcelino, J. R., & da Silva, W. D. (2016). Development of equine IgG antivenoms against major snake groups in Mozambique. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *10*(1), e0004325. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004325>
- Gutiérrez, J. M. (2018). Global availability of antivenoms: The relevance of public manufacturing laboratories. *Toxins (Basel)*, *11*(1), 5. <https://doi.org/10.3390/toxins11010005>
- Higuchi, D. A., Almeida, M. C., Barros, C. C., Sanchez, E. F., Pesquero, P. R., Lang, E. A. S., Samaan, M., Araujo, R. C., Pesquero, J. B., & Pesquero, J. L. (2011). Leucurogin, a new recombinant disintegrin cloned from *Bothrops leucurus* (white-tailed-jararaca) with potent activity upon platelet aggregation and tumor growth. *Toxicon*, *58*(1), 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.05.013>
- Hillmeister, P., & Bondke Persson, A. (2020). Bradykinin—from snake poison to therapeutic options. *Acta Physiologica*, *228*(3). <https://doi.org/10.1111/apha.13445>
- Izidoro, L. F., Sobrinho, J. C., Mendes, M. M., Costa, T. R., Grabner, A. N., Rodrigues, V. M., da Silva, S. L., Zanchi, F. B., Zuliani, J. P., Fernandes, C. F., Calderon, L. A., Stábeli, R. G., & Soares, A. M. (2014). Snake venom L-amino acid oxidases: Trends in pharmacology and biochemistry. *BioMed Research International*, *2014*, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2014/196754>
- Hiu, J. J., & Yap, M. K. (2020). Cytotoxicity of snake venom enzymatic toxins: Phospholipase A2 and L-amino acid oxidase. *Biochemical Society Transactions*, *48*(2), 719–731. <https://doi.org/10.1042/bst20200110>
- Huancahuire-Vega, S., Ponce-Soto, L., & Marangoni, S. (2014). PhTX-II a basic myotoxic phospholipase A2 from *Porthidium hyoprora* snake venom, pharmacological characterization and amino acid sequence by mass spectrometry. *Toxins*, *6*(11), 3077–3097. <https://doi.org/10.3390/toxins6113077>
- Jensen, A. D. (2023). Design of consensus toxins and their use for the discovery of broadly neutralizing antibodies. DTU Bioengineering.

- Küppers, J., Kürpig, S., Bundschuh, R. A., Essler, M., & Lütje, S. (2021). Radiolabeling strategies of nanobodies for imaging applications. *Diagnostics*, 11(9), 1530. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11091530>
- Kurtović, T., Lang Balija, M., Brgles, M., Sviben, D., Tunjić, M., Cajner, H., et al. (2019). Refinement strategy for antivenom preparation of high yield and quality. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(6), e0007431. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007431>
- Laloo, D. G., & Theakston, R. D. (2003). Snake antivenoms. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 41(3), 277–290. <https://doi.org/10.1081/ctt-120021113>
- Laustsen, A. H., Lauridsen, L. P., Lomonte, B., Andersen, M. R., & Lohse, B. (2017). Pitfalls to avoid when using phage display for snake toxins. *Toxicon*, 126, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.12.010>
- Laustsen, A. H., Johansen, K. H., Engmark, M., & Andersen, M. R. (2017). Recombinant snakebite antivenoms: A cost-competitive solution to a neglected tropical disease? *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005361>
- Laustsen, A. H., Lohse, B., Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., McCafferty, J., & Rasmussen, A. R. (2016). Recombinant antivenoms [Thesis, University of Copenhagen]. Iontas Ltd.; University of Costa Rica; Royal Danish Academy of Fine Arts, School of Architecture, Design and Conservation.
- Li, L., Huang, J., & Lin, Y. (2018). Snake venoms in cancer therapy: Past, present and future. *Toxins*, 10(9), 346. <https://doi.org/10.3390/toxins10090346>
- Limneos, P., Kostroglou, A., Sioutis, S., Markatos, K., Saranteas, T., & Mavrogenis, A. F. (2020). The Asclepian Art of Medicine and Surgery. *International Orthopaedics*, 44(10), 2177–2183. <https://doi.org/10.1007/s00264-020-04640-8>
- Maljaee, P., Zolfagharian, H., Babaie, M., & Mohammadpour Dounighi, N. (2018). The comparison of nanoparticle adjuvant with the Montanide adjuvant for hyper-

immunization to produce anti-snakebite serum. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 8(1), 674–682.

Mladic, M., de Waal, T., Burggraaff, L., Slagboom, J., Somsen, G. W., Niessen, W. M., Manjunatha Kini, R., & Kool, J. (2017). Rapid screening and identification of ACE inhibitors in snake venoms using at-line nanofractionation LC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(25), 5987–5997. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0531-3>

Mendes, G. F., Stuginski, D. R., Loibel, S. M., Morais-Zani, K. de, da Rocha, M. M., Fernandes, W., Sant'Anna, S. S., & Grego, K. F. (2018). Factors that can influence the survival rates of coral snakes (*Micrurus corallinus*) for antivenom production. *Journal of Animal Science*, 97(2), 972–980. <https://doi.org/10.1093/jas/sky467>

Mohamed Abd El-Aziz, T., Garcia Soares, A., & Stockand, J. D. (2019). Snake venoms in drug discovery: Valuable therapeutic tools for life saving. *Toxins (Basel)*, 11(10), 564. <https://doi.org/10.3390/toxins11100564>

Morais, V., & Massaldi, H. (2012). A model mechanism for protein precipitation by caprylic acid: Application to plasma purification. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 59(1), 50–54. <https://doi.org/10.1002/bab.68>

Munawar, A., Ali, S. A., Akrem, A., & Betzel, C. (2018). Snake venom peptides: Tools of biodiscovery. *Toxins*, 10(11), 474. <https://doi.org/10.3390/toxins10110474>

Morris, N. M., Blee, J. A., & Hauert, S. (2022a). Developing a computational pharmacokinetic model of systemic snakebite envenomation and antivenom treatment. *Toxicon*, 215, 77–90. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.06.006>

Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Sajjadi, M., & Issaabadi, Z. (2019). An introduction to nanotechnology. *Interface Science and Technology*, 1–27. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813586-0.00001-8>

- Nastopoulos, V., Kanellopoulos, P. N., & Tsernoglou, D. (1998). Structure of dimeric and monomeric erabutoxin a refined at 1.5 Å Resolution. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 54(5), 964–974. <https://doi.org/10.1107/s0907444998005125>
- Nie, X., Chen, Q., Wang, C., Huang, W., Lai, R., Lu, Q., He, Q., & Yu, X. (2022). Venom variation of neonate and adult Chinese cobras in captivity concerning their foraging strategies. *Toxins*, 14(9), 598. <https://doi.org/10.3390/toxins14090598>
- Nudel, B. C., Perdoménico, C., Iácono, R., & Cascone, O. (2012). Optimization by factorial analysis of caprylic acid precipitation of non-immunoglobulins from hyperimmune equine plasma for antivenom preparation. *Toxicon*, 59(1), 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.10.014>
- Olaoba, O. T., Karina dos Santos, P., Selistre-de-Araujo, H. S., & Ferreira de Souza, D. H. (2020). Snake Venom Metalloproteinases (SVMPs): A structure-function update. *Toxicon*: X, 7, 100052. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100052>
- Oliveira, A. L., Viegas, M. F., da Silva, S. L., Soares, A. M., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2022). The chemistry of Snake Venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistry*, 6(7), 451–469. <https://doi.org/10.1038/s41570-022-00393-7>
- Otero, R., Gutiérrez, J. M., Rojas, G., Núñez, V., Díaz, A., Miranda, E., et al. (1999). A randomized blinded clinical trial of two antivenoms, prepared by caprylic acid or ammonium sulphate fractionation of IgG, in *Bothrops* and *Porthidium* snake bites in Colombia: Correlation between safety and biochemical characteristics of antivenoms. *Toxicon*, 37(6), 895–908. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00220-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00220-7)
- Otero, R., León, G., Gutiérrez, J. M., Rojas, G., Toro, M. F., Barona, J., et al. (2006). Efficacy and safety of two whole IgG polyvalent antivenoms, refined by caprylic acid fractionation with or without beta-propiolactone, in the treatment of *Bothrops asper* bites in Colombia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(12), 1173–1182. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2006.01.006>
- Purification of therapeutic serums of snake anti-venom with caprylic acid. (2022). *Journal of Pharmacopuncture*, 25(2), 114–120. <https://doi.org/10.3831/KPI.2022.25.2.114>

- Rao, W., Kalogeropoulos, K., Allentoft, M. E., Gopalakrishnan, S., Zhao, W., Workman, C. T., Knudsen, C., Jiménez-Mena, B., Seneci, L., Mousavi-Derazmahalleh, M., Jenkins, T. P., Rivera-de-Torre, E., Liu, S., & Laustsen, A. H. (2022). The rise of genomics in Snake Venom Research: Recent advances and future perspectives. *GigaScience*, 11. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giac024>
- Rathore, A. S., Kumar, R., & Tiwari, O. S. (2023). Recent advancements in snake antivenom production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240, 124478. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124478>
- Resende, L. M., Almeida, J. R., Schezaro-Ramos, R., Collaço, R. C. O., Simioni, L. R., Ramírez, D., González, W., Soares, A. M., Calderon, L. A., Marangoni, S., & da Silva, S. L. (2017). Exploring and understanding the functional role, and biochemical and structural characteristics of an acidic phospholipase A2, apltx-I, purified from agkistrodon piscivorus leucostoma snake venom. *Toxicon*, 127, 22–36. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.01.002>
- Rex, C. J., & Mackessy, S. P. (2019). Venom composition of adult western diamondback rattlesnakes (*Crotalus atrox*) maintained under controlled diet and environmental conditions shows only minor changes. *Toxicon*, 164, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.03.027>
- Rivera-de-Torre, E., Rimbault, C., Jenkins, T. P., Sørensen, C. V., Damsbo, A., Saez, N. J., Duhoo, Y., Hackney, C. M., Ellgaard, L., & Laustsen, A. H. (2022). Strategies for heterologous expression, synthesis, and purification of animal venom toxins. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.811905>
- Roly, Z. Y., Islam, M. M., & Reza, M. A. (2014). A comparative in silico characterization of functional and physicochemical properties of 3FTx (three finger toxin) proteins from four venomous snakes. *Bioinformation*, 10(5), 281–287. <https://doi.org/10.6026/97320630010281>
- Soares, K. S., Formiga, A. L., Uchôa, A. F., Cardoso, A. L., Rodrigues, J. P., Leite, J. de, Silva, L. F., Alves, Á. E., Barbosa-Filho, J. M., & Xavier-Junior, F. H. (2025). Beyond the peril of Envenomation: A nanotechnology

- approach for therapeutic Venom Delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 105, 106652. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106652>
- Son, L., Kryukova, E., Ziganshin, R., Andreeva, T., Kudryavtsev, D., Kasheverov, I., Tsetlin, V., & Utkin, Y. (2021). Novel three-finger neurotoxins from *Naja melanoleuca* cobra venom interact with Gabaa and nicotinic acetylcholine receptors. *Toxins*, 13(2), 164. <https://doi.org/10.3390/toxins13020164>
- Tasoulis, T., & Isbister, G. (2017). A review and database of Snake Venom Proteomes. *Toxins*, 9(9), 290. <https://doi.org/10.3390/toxins9090290>
- Trim, S. A., & Trim, C. M. (2013). Venom: The sharp end of pain therapeutics. *British Journal of Pain*, 7(4), 179–188. <https://doi.org/10.1177/2049463713502005>
- Uko, S. O., Malami, I., Ibrahim, K. G., Lawal, N., Bello, M. B., Abubakar, M. B., & Imam, M. U. (2024a). Revolutionizing snakebite care with novel antivenoms: Breakthroughs and barriers. *Heliyon*, 10(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25531>
- U.S. Department of Health and Human Services. (n.d.-a). A brief history of antivenom - Fogarty International Center @ NIH. Fogarty International Center. <https://www.fic.nih.gov/News/GlobalHealthMatters/september-october-2022/Pages/antivenom-brief-history.aspx>
- Vargas, M., Segura, A., Herrera, M., Villalta, M., Estrada, R., Cerdas, M., et al. (2011). Preclinical evaluation of caprylic acid-fractionated IgG antivenom for the treatment of Taipan (*Oxyuranus scutellatus*) envenoming in Papua New Guinea. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(5), e1144. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001144>
- Waheed, H., Moin, S., & Choudhary, M. (2017). Snake venom: From deadly toxins to life-saving therapeutics. *Current Medicinal Chemistry*, 24(17). <https://doi.org/10.2174/0929867324666170605091546>
- Wexler, P. (2014). *History of toxicology and environmental health: Toxicology in antiquity volume I*. Academic Press.

Yamazaki, Y., & Morita, T. (2004). Structure and function of snake venom cysteine-rich secretory proteins. *Toxicon*, 44(3), 227–231.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.05.023>