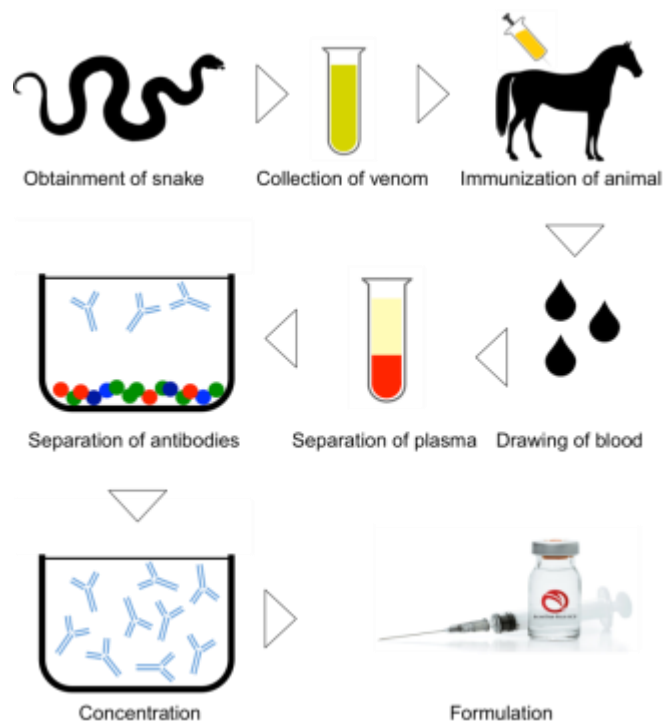


# Moderne bioteknologisk modgift mod slangebid

Andreas H. Laustsen, PhD

Hvor træls er det egentligt at blive bidt af en giftig slange? Det korte svar er, at det er *rigtig træls*. Flere slangebidsofre beskriver deres bid som det absolut mest smertefulde, de nogensinde har oplevet – hvis de da er så heldige at overleve. Symptomerne for et slangebid varierer alt efter, hvilken slange der er tale om. Visse toksiner i slangegifte ødelægger blodets evne til at koagulere, hvilket kan resultere i indre blødninger eller blodpropper. Andre toksiner såsom cytotoxiner angriber kroppens celler og skaber vævsødelæggelse. Og sidst men ikke mindst har slanger såsom kobraer og mambaer et stort arsenal af neurotoksiner, som kan lamme kroppens muskulatur og forårsage paralysering. I værste tilfælde rammer disse neurotoksiner lungemuskulaturen, hvilket kan forårsage, at ofret ikke kan trække vejret og dør af (langsom) kvælning.

Det er ikke kun for det enkelte offer, at et slangebid er træls. Slangebid er faktisk et enormt problem på verdensplan med ca. 5 mio. bid hvert år, hvilket resulterer i omkring 100.000 dødsfald og ca. 3-4 gange så mange amputationer. Slangebid bliver derfor karakteriseret som ”den mest negligerede tropiske sygdom” af WHO. Rent socioøkonomisk kan slangebid også være en direkte katastrofe i fattige lokalsamfund, hvor familier er afhængige af familiemedlemmernes evne til at arbejde i marken, og hvor man ikke har råd til essentiel behandling mod et slangebid. Hvis uheldet er ude, kan et slangebid således medføre, at familien ender med et uarbejdsdygtigt familiemedlem, som stadig skal brødfødes af sparsomme midler.



**Figur 1:** Oversigt over produktionsprocessen for modgift, hvori gift tappes fra en slange og bruges til immunisering af en hest, som under immuniseringen udvikler potente antistoffer, der kan neutralisere slangetoksiner.

Den eneste effektive behandling mod et slangebids er modgift. Når man laver modgift, gøres dette groft sagt ved at stikke en hest med tiltagende doser af den gift, som man ønsker at lave modgift imod. Hestens immunsystem er således indrettet, at det kan genkende, at de toksiner, som der er i slangegiften, ikke kommer fra hesten selv, men derimod er "fremmede" proteiner. Derfor begynder hestens immunsystem at udvikle antistoffer mod toksinerne. Jo længere tid, og jo højere doser af gift, som hesten stikkes med, jo flere og bedre antistoffer mod toksinerne vil der være i hestens blod. Efter ca. 1-1,5 år har hesten så mange og gode antistoffer i sit blod, at disse kan bruges til modgift. Denne procedure kaldes immunisering, da hesten pga. de øgede mængder af potente antistoffer i dens blod opbygger immunitet over for slangegiften (hvilket er årsagen til, at den kan tåle tiltagende doser). Når hestens antistoffer er klar, så tappes hesten for ca. 5 liter blod, og de røde blodceller bliver skilt fra. De røde blodceller kan derefter afleveres tilbage til hesten, så den næsten ikke mærker, at den har givet en del af sit blod. Den resterende væske, når de røde blodceller er sorteret fra, kaldes plasma eller serum, og dette indeholder bl.a. antistofferne. I helt gamle dage brugte man alene denne serum som "antiserum" uden at behandle den videre. Nu om dage gennemgår serummet en række yderligere oprensningstrin for at skille så mange ting fra væsken som muligt, således at kun antistofferne er tilbage (se [Figur 1](#)).

De gode ved de nuværende modgifte er, at de rent faktisk virker! Der findes til dato intet terapeutisk alternativ til modgift. Processen for at producere modgift er også velkendt, da den har eksisteret i langt over 100 år. Derfor er det nemt at gå i gang med at producere modgift, hvis man ellers har adgang til heste og slangegift. Det dårlige ved de nuværende modgifte er imidlertid, at de kommer fra heste (eller andre større pattedyr). Dette har flere uheldige konsekvenser:

- 1) Alle de antistoffer, som er i modgiften (og evt. rester af andre proteiner i de billigere modgifte) er "ikke-menneskelige". Dette betyder, at de kan fremkalde bivirkninger i mennesker, da det menneskelige immunsystem vil genkende disse som "fremmede" proteiner (fuldstændig ligesom hestens immunsystem genkender slangetoksinerne). Dette vil ikke altid have den store betydning, men dette kan i visse tilfælde resultere i, at en person, som får modgift udvikler hyper-allergiske bivirkninger. Og dette vil *altid* ske, hvis personen, som får modgiften, lider af hesteallergi! De fleste gode modgifte den dag i dag har en moderat bivirkningsprofil (men vil ofte udløse nogen allergilignende bivirkninger i mennesker), men der findes desværre også eksempler på billigt fremstillede modgifte, som udløser slemme bivirkninger i op til 80% af tilfældene. Slemme bivirkninger kan være serumsyge, nyresvigt, eller endda anafylaktisk chok (som kan ende i død).
- 2) Ikke alle antistofferne fra hesten har nogen gavnlige effekt. Selv hvis antistofferne ikke nødvendigvis fremkalder bivirkninger i en given person, så er det langt hovedparten af antistofferne fra hesten, der er i modgiften, der *ikke* har en gavnlige effekt. Faktisk er det kun mellem 5% og 36% af antistofferne i modgifte, der virker mod slangegiften. Resten af antistofferne i modgiften eksisterer, fordi hesten igennem sit liv også har mødt andre fremmede proteiner (via sin mad, evt. sygdomme, mm.), som den udvikler antistoffer imod. Sammenholdt med den øgede risiko for hyper-allergiske bivirkninger fra alle hestens proteiner (inkl. antistofferne), er det problematisk, at man får en ordentligt stor ekstradosis hesteproteiner, når man får modgift.
- 3) Ikke alle slangetoksiner behøver at blive neutraliserede. En typisk slangegift kan have langt over 50 *forskellige* toksiner. Men heldigvis er det ikke dem alle sammen, som er lige farlige

for mennesker. Nogen er måske farlige for andre dyr, eller nogen er kan endda være evolutionære rester af "tidligere versioner" af et toksin, som ikke er særligt potent, men som stadig produceres i slangens giftkirtler. Når heste immuniseres ifbm. modgiftsproduktion, bruger man "hele gifte" fra slanger. Dette betyder, at hestens immunsystem vil producere antistoffer mod *alle* toksinerne – også dem, som man ikke behøver antistoffer imod, fordi de er ufarlige. Ikke nok med det, så er der en tendens til, at immunsystemer helst udvikler antistoffer mod store proteiner. Og da der ikke er sammenhæng mellem størrelsen af et toksin og dets giftighed, vil der være en skævvridning af fordelingen af antistoffer i hestens blod. Hesten vil simpelthen udvikle flest antistoffer mod de store toksiner og færrest mod de små, og dette er særligt problematisk for gifte fra kobraer, mambaer, havslanger og koralslanger, hvor de små neurotoksiner netop er de værste.

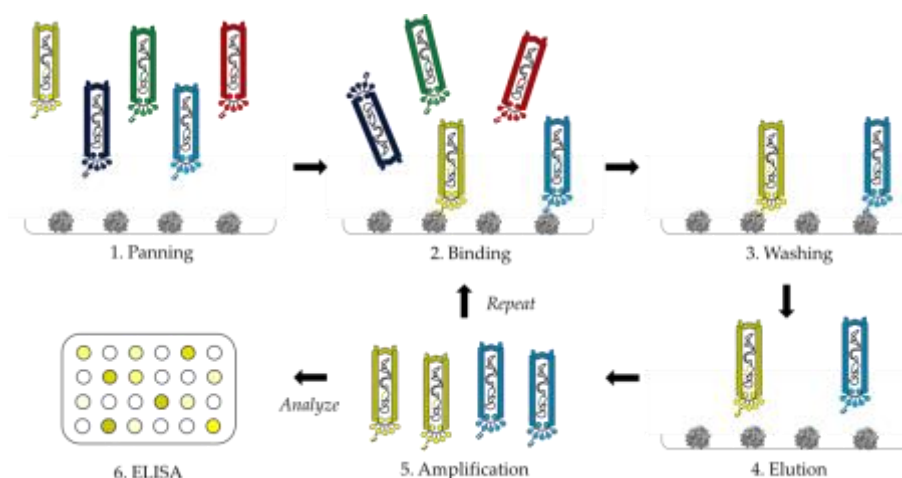
- 4) Produktion af modgift vha. heste er en bekostelig affære. Hestene skal opstaldes, immuniseres, tappes for deres blod, og antistofferne skal oprenses. Eksisterende produktionsmetoder kræver også, at man har adgang til slangers gift for at kunne producere modgiften. Dette kræver både et hold ekspertslangepassere og et serpentarium, hvor man kan holde sine produktionsslanger. At have produktionsslanger kan til tider være bøvlet, idet sjældne slangearter kan være svære at skaffe, og fordi visse slanger ikke er glade for at leve i fangeskab.

Nuværende modgifte betragtes stadig ikke som "lægemidler", idet deres sammensætning består af en ukendt blanding af antistoffer fra hesteserum. Visionen i min egen forskning er at udvikle moderne bioteknologiske modgifte, som netop *er* lægemidler. I stedet for at bestå af antistoffer fra hesteserum vil disse moderne bioteknologiske modgifte bestå af nøje udvalgte menneskelige antistoffer mod de vigtigste slangetoksiner, som forårsager de toksiske effekter af medicinsk relevante slangers gift. En modgift bestående af en udvalgt blanding af menneskelige antistoffer vil kunne produceres biologisk vha. fermentering og vil have en lang række fordele. Modgiften vil kunne designes til at være mere potent, være næsten fri for bivirkninger (fordi menneskelige antistoffer er kompatible med det menneskelige immunsystem), og være billigere at producere, idet produktionen af moderne bioteknologisk modgift vil være uafhængig af både slangegift og hestes immunsystemer.

I løbet af min PhD forskede jeg i to overordnede områder: Toxicovenomics og Antibody discovery. Ifbm. Toxicovenomics, brugte jeg tid på at analysere slangegifte fra mambaer, kobraer og havslanger for at udpege præcist hvilke toksiner, der var medicinsk mest relevante. Dette gjorde jeg ved at skille giften ad (vha. kromatografiske metoder) i sine forskellige proteinbaserede komponenter og bruge avanceret måleudstyr (MALDI-TOF-TOF) til at identificere, hvad de forskellige komponenter bestod af. Dernæst testede jeg toksiciteten for samtlige komponenter, således at jeg både kunne beskrive, hvad en given slangegift bestod af, og hvilke toksiner, der ville være nødvendige at neutralisere med en moderne modgift.

Ifbm. Antibody discovery benyttede jeg en metode kaldet "phage display". I denne metode benytter man sig af et bibliotek af antistoffer, som er sat uden på viruspartikler. Dette gør, at man kan "dyrke" antistofferne hurtigt og let ved blot at dyrke virussen. Når man så skal udvælge et bestemt antistof, der kan binde til og neutralisere et givent slangetoxin, så kan man blot sætte sit toksin fast i bunden af et reagensglas, hælde alle de forskellige viruspartikler med antistoffer på ud over, vaske de viruspartikler, som ikke har noget spændende antistof, der kan binde til

slangetoksinet væk, og til sidst kun have de interessante, toksin-bindende antistoffer og viruspartikler tilbage (se Figur 2). Vha. af denne metode kan man således screene milliarder af antistoffer på få dage – noget som for år siden var fuldstændigt utænkeligt i antistofforskningen.



**Figur 2:** Skematisk overblik over, hvordan vi finder antistoffer vha. phage display teknologi.

Ifbm. PhD projektet lykkedes det at analysere fire slangegifte, finde de medicinsk relevante toksiner og udvikle alle metoderne til at finde toksin-neutraliserende antistoffer på den ovenfor beskrevne måde. Sidenhen har jeg fortsat med forskningen ifbm. en postdoc, hvor vi netop har fået de første resultater fra musseforsøg. Det er faktisk gået så godt, at jeg og mine kollegaer som de første nogensinde er lykkedes at udvikle tyve (20) 100% humane antistoffer, hvoraf en håndfuld kan neutralisere nogen af de værste neurotoksiner, kaldet dendrotoksiner, fra den sorte mambas gift. Mit mål er at fortsætte denne forskning og finde flere antistoffer, således at vi kan udvikle en cocktail af humane antistoffer, som kan bruges til at neutralisere alle de medicinsk relevante toksiner fra mamba og kobragifte. Lykkes dette, vil det have et enormt socialt indvirkningspotentiale for fattige mennesker særligt i Afrika, Asien og dele af Latinamerika, hvor slangerne har deres habitat, samtidig med at det vil være med til at bringe modgifte ind i den moderne lægemiddelvidenskabelige æra.