

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ ЯДА ЗМЕЙ ГЕРПЕТОФАУНЫ ВЬЕТНАМА И БЕЛАРУСИ

Капустин М.А.¹, Ризевский С.В., Буга С.В.¹, Нго Куок Ань², До Чунг Ши², Курченко В.П.¹

Белорусский государственный университет,

¹ Беларусь, г. Минск, 220030 пр-т Независимости 4, maximkapustin84@gmail.com

Институт химии ВАНТ,

² Вьетнам, г. Ханой, Хоанг Куок Вьет 18, trungsy1977@yahoo.com

Общее количество видов змей, населяющих в настоящее время Землю, составляет около 3500 видов, относящихся к 23 семействам. Из них около 25 % составляют ядовитые змеи. Змеиный яд является ценным сырьем для фармацевтической промышленности и применяется для изготовления целого ряда лекарственных препаратов [1, 2]. Ядовитые змеи, обитающие в Республике Беларусь, принадлежат к двум семействам: ужеобразные (*Colubridae*) и гадюковые (*Viperidae*). Это медянка обыкновенная (*Coronella austriaca*) и гадюка обыкновенная (*Vipera berus*). Медянка не опасна для людей и крупных животных, поскольку ядовитые зубы располагаются в глубине рта и используются для обездвиживания добычи непосредственно при заглатывании, укусьить ими змея не может. У *V. berus* имеются крупные ядовитые железы в височной области позади глаз и ядовитые зубы на переднем крае верхнечелюстной кости [1]. Яд этого вида змей получают в промышленных масштабах и РУП «Белмедпрепараты» использует его в производстве болеутоляющего средства наружного применения «Випробел» при ревматических болях, невралгиях, радикулите, миозите и т.п. [2]. Перспективным источником промышленного получения змеиных ядов может стать герпетофауна Республики Вьетнам, на территории которой обитает около 50 видов ядовитых змей, в том числе 4 представителя рода *Naja* семейства Аспидовые (*Elapidae*): кобра китайская (*Naja atra*), кобра моноклевая (*Naja kaouthia*), змея очковая (*Naja naja*), кобра сиамская (*Naja siamensis*) [3, 4]. Количество сухого яда, которое можно получить за одно ядовзятие у гадюки обыкновенной составляет 4-5 мг [3]. Для сравнения, от одной кобры среднего размера можно получить за одно ядовзятие до 700 мг сухого яда.

Змеиный яд представляет собой сложный комплекс гидролаз, токсических полипептидов, ряда белков со специфическими биологическими свойствами: фактор роста нервов, антикомплементарные факторы, а также неорганических компонентов. Многие ферменты являются общими для ядов змей различных семейств, например фосфолипаза А₂, гиалуронидаза, оксидаза L-аминокислот, фосфодиэстераза, 5'-нуклеотидаза и другие, что отражает тесную филогенетическую связь ядовитых желез с экзокринными железами пищеварительного тракта. В то же время существуют и отличия, характеризующие яд змей той или иной таксономической группы [3, 4].

Целью работы являлось проведение сравнительного анализа состава и механизмов действия ядов змей родов *Vipera* и *Naja*.

Яд *V. berus* содержит различные ферменты: протеазы, фосфодиэстеразу, 5'-нуклеотидазу, фосфолипазу А₂, гиалуронидазу, кининогеназу и др. активные факторы белково-пептидной природы: комплемент С₃, геморрагины и прокоагулянты, кальций зависимые галактоза-связывающие лектины, ингибиторы цистеиновых протеиназ, активаторы фактора свертывания крови V и фактора X, эндотелиальный фактор роста сосудов, фактор яда кобры. Гемотоксины ядов гадюк представлены двумя типами протеаз: сериновыми и металлопротеазами. Сериновые протеазы яда гадюк – термолабильные эндопептидазы; по характеру действия близки к тромбиноподобным ферментам и кининогеназам. Металлопротеазы – термолабильные белки, катализирующие гидролиз казеина, гемоглобина, инсулина и др. Активность металлопротеаз промотируют двухзарядные ионы (Са²⁺ и др.); они лишены аргининэстеразной активности и действуют главным образом на связи лейцина и фенилаланина. Относительное содержание протеаз в

ядах сильно варьирует. Так в яде *V. berus* 75% протеолитической активности приходится на металлопротеазы и 25% – на сериновые; а в яде гюрзы (*V. lebetina*) наблюдается обратное соотношение этих ферментов. Протеазы ядов могут вызывать нарушение свертываемости крови и фибринолиза, приводя к тромбозам или геморрагиям. Действуя на разные звенья гемостаза, протеазы большинства ядов оказывают двойное действие: вначале происходит внутрисосудистое свертывание крови, затем кровь может на длительный период терять способность к свертыванию. В патогенезе отравления важную роль играют высвобождающиеся в организме под влиянием яда гистамин, серотонин, брадикинин, обуславливающие болевые ощущения и снижение артериального давления [3]. Следует отметить, что яд некоторых видов гадюк рода *Vipera* может нарушать нервно-мышечную передачу за счет одно- и двухкомпонентных нейротоксинов [3, 4]. Випоксин, выделенный из яда носатой гадюки (*V. ammodytes*) состоит из двух компонентов: нетоксичного кислого белка и щелочной фосфолипазы А2. Из яда палестинской гадюки (*V. palaestinae*) также выделен двухкомпонентный токсин, содержащий белок с фосфолипазной активностью и полипептид с молекулярной массой 12 кДа, вызывающий гемодинамические расстройства [3].

В отличие от гадюковых, яд представителей семейства аспидовые содержит меньшее количество протеаз. Основное действие их яда обусловлено токсическими полипептидами (нейротоксинами), нарушающими передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах и тем самым вызывающими паралич скелетной и дыхательной мускулатуры. Эти эффекты имеют наибольшее патогенетическое значение при отравлении ядом кобр. Нейротоксины (НТ) подразделяются на постсинаптические (пост-НТ) (яды кобр, бунгарусов, мамб и некоторых австралийских змей) и пресинаптические (пре-НТ) (яды австралийских и азиатских змей). Пост-НТ избирательно блокируют передачу нервного импульса в нервно-мышечном соединении. По структуре пост-НТ подразделяются на длинноцепочечные (НТ1) и короткоцепочечные (НТ2) нейротоксины, различающиеся по характеру блокирования холинорецепторов и др. свойствам. В состав НТ1, с молекулярной массой 7800 Да, входят 71–74 аминокислотных остатка, в том числе 10 цистеиновых аминокислот. Структура стабилизирована 5 дисульфидными связями. В состав НТ2, с молекулярной массой 6800 Да, входят 61–62 аминокислотных остатка и содержится 8 цистеиновых аминокислот. Структура стабилизирована 4 дисульфидными связями. Восстановление дисульфидных связей в этих пептидах приводит к потере их токсичности [3]. Поскольку мишенью для пост-НТ, так же как и ацетилхолина, является холинорецептор, то, видимо, активные участки нейротоксинов должны иметь сходство с четвертичной аммониевой и карбонильной группами ацетилхолина. Было установлено, что свободные аминокислотные группы, в том числе и N-концевые, не являются обязательными для обеспечения токсического действия. Предполагается, что аналогами для взаимодействия с рецепторами четвертичного амина ацетилхолина в таких нейротоксинах являются остатки аргинина и глицина. Действие пост-НТ развивается по типу недеполяризующего блока Н-холинорецепторов поперечно-полосатых мышц, что позволяет отнести их к «кураре-подобным» токсинам [3, 5]. Пре-НТ менее однородны по строению, отличаются меньшей избирательностью действия, которое проявляется и на постсинаптическом уровне. Ряд пре-НТ обладает фосфолипазной активностью и вызывает характерное изменение в высвобождении медиаторов проведения нервного импульса, что проявляется в ослаблении, усилении или полном прекращении секреции медиаторов в результате повреждения везикул [3, 4]. Важную роль в токсическом действии яда кобр играют ферменты – гиалуронидаза, ацетилхолинэстераза и фосфолипаза А2, эндорибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, фосфодиэстераза, 5'-нуклеотидаза, оксидаза L-аминокислот, а также факторы, оказывающие различное влияние на свертываемость крови. Так, яды тигровой змеи, тайпана обладают сильным коагулирующим действием, а яд кобры замедляет свертываемость крови. Ацетилхолинэстераза, гидролизует ацетилхолин, усиливает парализующее действие нейротоксинов. Цитотоксины яда эффективно взаимодействуют с биомембранами, вызывая гемолиз эритроцитов, деполяризацию нервной, мышечной и

сердечной ткани, что обуславливает их кардиотоксическое действие. Цитотоксин II обладает и антикомплементарным действием. Действие цитотоксинов на биомембраны потенцируется фосфолипазой A2. Последняя, в свою очередь, способна вызывать истощение запасов ацетилхолина в нервных окончаниях, т.е. оказывать пресинаптическое токсическое действие. Кроме того, фосфолипаза A2 способствует высвобождению в организме многих физиологически активных веществ (гистамин, простагландины) усугубляющих течение отравления. Большинство компонентов яда кобры присутствует в целом яде в виде нескольких изоформ, количество которых зависит от экологических факторов [3, 5].

Яды змей родов *Naja* и *Vipera*, содержащие нейротоксины и другие биологически активные вещества, являются перспективным, возобновляемым источником сырья для производства фармацевтических препаратов нового поколения. При заготовке ядов змей необходимо учитывать ареал их проживания и возрастные особенности, для получения гомогенного яда-сырца, содержащего биологически активные компоненты в определенном соотношении. Представители герпетофауны Вьетнама представляют особый интерес, в качестве сырьевого источника, поскольку на территории этого государства расположено большое количество змеиных ферм, на которых организовано разведение высокопродуктивных видов змей рода *Naja*. Современные хроматографические технологии позволяют получать из ядов змей препаративные количества высокоочищенных пептидов и ферментных препаратов с анальгизирующим, антибактериальным, противораковым, иммуномодулирующим, гипотензивным, противосудорожным, опиоидподобным, противовоспалительным, ранозаживляющим и др. действием. Применение таких высокоактивных субстанций позволит создать новые лекарственные формулы, обладающие выраженным терапевтическим эффектом при использовании малых доз действующего вещества.

Литература

1. Н.Б. Ананьева, Н.Л. Орлов, Р.Г. Халиков, И.С. Даревский, С.А. Рябов, А.В. Барабанов «Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус)» Зоол. инст-т РАН, Санкт-Петербург, – 2004, – 21 с.
2. Лекарственные средства РУП «Белмедпрепараты». Справочник. Минск, – 2010, – с. 110.
3. Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили «Зоотоксинология (ядовитые животные и их яды)» М.: Высш. шк., – 1985. – 280 с.
4. Tu A.T. Overview of snake venom chemistry / A.T. Tu // Adv. Exp.Med. Biol. – 1996. – P. 37–62.
5. Munawar A. Elapid Snake Venom Analyses Show the Specificity of the Peptide Composition at the Level of Genera *Naja* and *Notechis*/ A. Munawar, M. Trusch, D. Georgieva, D. Hildebrand, M. Kwiatkowski, H. Behnken, R. Arni // – Toxins. – 2014. – 6. – P. 850–868.

COMPARATIVE STUDIES OF SNAKE VENOM PROTEINS AND PEPTIDES OF HERPETOFAUNA OF VIETNAM AND BELARUS

Kapustin M.A.¹, Rizevsky S.V.¹, Ngo Quoc Anh², Do Trung Si², Kurchenko V.P.¹,

Belarusian State University,

Belarus, Minsk, 220030 Nezavisimostyavenue 4, maximkapustin84@gmail.com

²Institute of Chemistry VAST,

Vietnam, Hanoi, Hoang Quoc Viet 18, trungsy1977@yahoo.com

Neurotoxins and other bioactive substances of genera *Naja* and *Vipera* snake venoms are promising renewable source for production of new generation of pharmaceutical preparations. During snake

venom provision it should be taken into account the area of snake residence and age characteristics, to obtain a homogeneous venom preparations, containing biologically active components in a certain ratio. Modern chromatographic techniques provide isolation of highly purified peptides and enzyme preparations from snake venoms with anesthetic, anti-bacterial, anti-cancer, immunomodulatory, anti-hypertensive, anti-convulsive, opioid-like, anti-inflammatory, wound healing activities. The usage of such biological products with high-level activity will give an opportunity to create new medicinal formulas with pronounced therapeutic effect in the use of either small dose of active ingredients.