



© Коллектив авторов, 2023
УДК 612.314 : 577.150.1] : 616.153.96.019.941
DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-36-47

Л. В. Васина*, Л. В. Галебская, М. А. Галкин, М. А. Соловьева, Ю. В. Тарасова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

ФОСФОЛИПАЗА A_2 ЯДА ГАДЮКОВЫХ. БИОХИМИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКА В КРОВЯНОМ РУСЛЕ ЧЕЛОВЕКА. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЧАСТЬ 2

Поступила в редакцию 21.09.2022 г.; принята к печати 06.12.2023 г.

Резюме

В обзоре рассмотрены особенности строения и свойства наиболее изученных фосфолипаз яда змей семейства гадюковых. Также детально анализируются разнообразные эффекты этих ферментов на форменные элементы крови (эритроциты, лейкоциты и тромбоциты), на процессы свертывания крови и агрегацию тромбоцитов. Описываются возможные области и пути применения этих ферментов в фундаментальной и практической медицине.

Ключевые слова: фосфолипаза A_2 , яд гадюковых, кровь человека

Для цитирования: Васина Л. В., Галебская Л. В., Галкин М. А., Соловьева М. А., Тарасова Ю. В. Фосфолипаза A_2 яда гадюковых. Биохимические мишени для действия белка в кровяном русле человека. Обзор литературы. Часть 2. *Ученые записки ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2023; 30(3):36–47. DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-36-47.

* **Автор для связи:** Любовь Васильевна Васина, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: lubov.vasina@gmail.com.

Lyubov V. Vasina*, Lyudviga V. Galebskaya, Mikhail A. Galkin, Marina A. Solovyeva, Yuliya V. Tarasova

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

VIPERIDAE SNAKE VENOM PHOSPHOLIPASE A_2 . BIOCHEMICAL TARGETS IN THE HUMAN BLOOD CIRCULATORY SYSTEM. REVIEW. PART 2

Received 21.09.2022; accepted 06.12.2023

Summary

In this review (Part 2), we describe the structural features and properties of the most studied *Viperidae* snake venom phospholipases A_2 . Various effects of these enzymes on blood cells (erythrocytes, leukocytes and platelets), on blood coagulation and platelet aggregation are also analyzed in details. Possible areas and ways of application of these enzymes in fundamental and practical medicine are discussed.

Keywords: secretory phospholipase A_2 , *Viperidae* venom, human blood

For citation: Vasina L. V., Galebskaya L. V., Galkin M. A., Solovyeva M. A., Tarasova Yu. V. Viperidae snake venom phospholipase A_2 . Biochemical targets in the human blood circulatory system. Review. Part 2. Review. Part 2. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2023;30(3):36–47. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-36-47.

* **Corresponding author:** Lyubov V. Vasina, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: lubov.vasina@gmail.com.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАИБОЛЕЕ ИЗВЕСТНЫХ СФЛА₂ ГАДЮКОВЫХ

Каждый змеиный яд представляет собой сложную смесь веществ, но наибольшее содержание имеют токсины, относящиеся к 3–4 классам. Первенство здесь, несомненно, принадлежит фосфолипазам A₂ (ФЛА₂). Особенности строения и свойств наиболее изученных сФЛА₂ яда гадюковых приведены в таблице.

Как видно из данных литературы, суммированных в таблице 1, многие яды являются одноцепочечными белками. Это дабоксин Р, виперотоксин II, аммодитоксины, миотоксины II и III, пиратоксины I и III. При этом не наблюдается прямой связи между ферментативной активностью и цитотоксическим действием многих из них. Даже почти полное отсутствие каталитических свойств вследствие эволюционной замены кальций-связывающего

Строение и свойства некоторых токсинов яда гадюковых (Viperidae), относящихся к секреторным фосфолипазам A₂ (сФЛА₂)

The structure and properties of some toxins of the Viperidae snake venom related to secretory phospholipase A2 (fla2)

Токсин яда	Вид гадюки	Субъединичная (СЕ) структура	Взаимодействие субъединиц	Токсическое действие	Литература
Дабоксин Р (DbP)	<i>D. russelli russelli</i>	Мономер Асп49	–	Антикоагулянтное	[1]
Дабойатоксин (DbTx)	<i>D. russelli siamensis</i>	Две СЕ: В (щелочная) Асп49 и А (кислая) Лиз49	А-СЕ ингибирует В-СЕ	Нейротоксическое Миотоксическое	[2]
Виперотоксин-II (VipTx-II)	<i>D. russelli russelli</i>	Мономер Асп49	–	Бактерицидное	[3]
Виперотоксин F	<i>V. russelli formosensis</i>	Две СЕ: RV4 (Асп49) и RV7 (Гис49)	RV7 усиливает токсичность RV4	Нейротоксическое	[4]
Васпин	<i>V. aspis asris</i>	Две СЕ: В – щелочная Асп49 и А – кислая Лиз49	А-СЕ ингибирует В-СЕ	Нейротоксическое	[5]
Випоксин	<i>V. ammodytes, ammodytes Vipera ammodytes meridionalis</i>	Две СЕ: В щелочная Асп49 и А кислая, состоящая из 3 полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями	А-СЕ повышает активность В-СЕ.	Нейротоксическое Антикоагулянтное Гемолитическое	[6] [7] [8]
Аммодитоксины А, В и С (изобелки)	<i>V. ammodytes, ammodytes V. aspis asris (только аммоитоксин В)</i>	Мономер Асп49	–	Нейротоксическое	[9]
Аммодитоксин L	<i>V. ammodytes, ammodytes</i>	Мономер Сер49	–	Миотоксическое	[10]
Кротоксин	<i>C. durissus terrificus</i>	Две СЕ: В – щелочная Асп49 (кротактин) и А – кислая Лиз49 (кротопонин)	А-СЕ повышает активность В-СЕ	Нейротоксическое Миотоксическое Антикоагулянтное	[11] [12] [13]
Миотоксин II (миотоксин IV)	<i>B. asper</i>	Мономер Лиз49	–	Миотоксическое Лизис макрофагов Антикоагулянтное	[14] [15] [16]
Миотоксин III (миотоксин I)	<i>B. asper</i>	Мономер Асп49	–	Миотоксическое	[17]
Ботропстоксин-I (BthTX-I)	<i>B. jararacussu</i>	Гомодимер Лиз49	–	Миотоксическое Противоопухолевое Бактерицидное	[18]
Ботропстоксин-II (BthTX-II)	<i>B. jararacussu</i>	Гомодимер Асп49	–	Миотоксическое	[19]
Пиратоксин I	<i>B. pirajai</i>	Мономер Лиз49	–	Миотоксическое	[20]
Пиратоксин III	<i>B. pirajai</i>	Мономер Асп49	–	Миотоксическое Бактерицидное Антикоагулянтное	[21] [22]

Примечание: D. – Daboia; V. – Vipera; C. – Crotalus; B. – Bothrops. Полужирным шрифтом выделены белки, не обладающие ферментативной активностью.

остатка Асп49 на лизил (миотоксин II, пиротоксин I, аммодитоксин L) не отменяет цитотоксического действия яда. Это свидетельствует о том, что активные сФЛА₂ действуют главным образом путем гидролиза мембранных липидов [23], а их неактивные аналоги способны воздействовать на клеточные мембраны каким-либо иным способом. Исследования миотоксина II яда *Bothrops asper* и взаимодействия Лиз49 миотоксина яда *Agkistrodon piscivorus piscivorus* с мышечной сарколеммой выявило способность С-концевой последовательности 115–129 (ККУКАУФКЛКСКК) вызывать дезорганизацию мембраны с последующим цитолизом [17, 21]. Эта последовательность характеризуется большим количеством положительных зарядов остатков лизина и наличием гидрофобных боковых цепей, что и обеспечивает ее сродство к отрицательно заряженной поверхности биологической мембраны. Большинство мономерных сФЛА₂ змеиных ядов обладает щелочными свойствами. Однако встречаются и кислые молекулярные формы [24].

Помимо мономерных сФЛА₂ яда гадюковых встречаются и комплексы фосфолипидных цепей, в которых положительно заряженная (pI > 8) активная В (basic) Асп49 субъединица связана с кислой А (acidic) полипептидной цепью (pI < 5,5) слабыми типами связей. Во всех случаях ферментативная активность присуща только щелочной субъединице. Кислые субъединицы представлены неактивными формами фермента, чаще всего Лиз49. В ходе эволюции эти «потомки» активных ферментов утратили каталитические свойства, но приобрели способность регулировать токсичность и стабильность фосфолипидных субъединиц. В дабойатоксине и васпине А-субъединица ингибирует активную субъединицу В. В виперотоксине F неактивная Гис49 полипептидная цепь увеличивает токсичность ФЛА₂. Аналогичным действием обладает кислая субъединица випоксина. Кислая субъединица кротоксина, по мнению авторов [13], действует как шаперон, осуществляя доставку субъединицы В к тканям-мишеням.

Так же, как и мономерные сФЛА₂ олигомерные яды характеризуются множеством изоформ своих субъединиц. Так, кротоксин имеет по 4 изоформы субъединиц В и А. Значительная вариабельность молекулярных форм характерна и для истинных гадюк [5]. Многообразие форм фосфолипидных компонентов яда гадюковых определяет и характер проявлений их токсического действия.

МИШЕНИ СФЛА₂ ГАДЮКОВЫХ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

При укусе змеи максимальная концентрация яда оказывается в месте повреждения мягких тканей, которые довольно быстро подвергаются некрозу. Эволюционно выработанная стратегия ядовитых змей направлена не столько на локальное, сколько на генерализованное воздействие в

отношении жертвы. Для распространения яда по всему организму его компоненты, и, в частности, сФЛА₂, тормозят свертывание крови. Нарушение функционирования системы свертывания крови само по себе может представлять угрозу для жизни жертвы, кроме того, оно способствует достижению компонентами яда других тканей-мишеней.

Воздействие сФЛА₂ гадюковых на плазменный гемостаз. М. С. Voffa и G. A. Voffa (1976) [25] исследовали воздействие ряда сФЛА₂ из яда змей на время свертывания рекальцифицированной бедной тромбоцитами плазмы крови человека. Авторы разделили их на сильные, слабые антикоагулянты и неантикоагулянтные ферменты. Сильные антикоагулянтные ФЛА₂ тормозили свертывание крови в очень низких концентрациях (менее 2 мкг/мл), слабые – в диапазоне 3–10 мкг/мл. Вместе с тем большое количество змеиных ФЛА₂ существенно не увеличивало время свертывания крови даже в высоких концентрациях. Авторы отметили отсутствие прямой связи между антикоагулянтным действием сФЛА₂ и их ферментативной активностью. Наиболее сильные антикоагулянтные сФЛА₂ яда истинных гадюк (випериды) были обнаружены у следующих видов: *Vipera berus*, *Deboia russelli* и *Bitis caudalis* [26]. У гремучих змей (кроталиды) только одна сФЛА₂ из яда *Trimeresurus mucrosquamatus* оказалась сильным антикоагулянтом. Яды *Crotalus durissus terrificus*, *Agkistrodon halys blomhoffii*, *Agkistrodon halys pallas*, *Bothrops asper*, *Bothrops atrox*, *Bothrops godmani* и *Bothrops jararacussu* содержали несколько изоформ сФЛА₂, обладающих умеренным антикоагулянтным действием [26].

Поскольку в процессе свертывания крови значительная роль принадлежит фосфолипидам (фосфатидилолином и фосфатидилсеринам), естественно было предположить, что механизмом антикоагулянтного действия сФЛА₂ яда змей является гидролиз прокоагулянтных фосфолипидов. Связь антикоагулянтного действия сФЛА₂ с их ферментативной активностью была показана для сФЛА₂ из яда *V. berus* [27], *A. h. pallas* [27], *B. jararacussu* [28], щелочной субъединицы випоксина (*Vipera ammodytes meridionalis*) [29].

Наиболее чувствительным к гидролизу прокоагулянтных фосфолипидов является теназный комплекс, то есть комплекс белковых факторов IXa и VIIIa с фосфолипидами и ионами кальция. Было обнаружено снижение активности теназного комплекса под действием каталитически активной щелочной субъединицы випоксина [29].

При исследовании сФЛА₂ змеиных ядов, у которых не наблюдалось связи между их антикоагулянтным и ферментативным действием, было выявлено ингибирование фактора Ха протромбиназного комплекса [31]. G. Faure et al. (2011) [30] исследовали воздействие на реконструированный протромбиназный комплекс человека двенадцати сФЛА₂ ядов змей: *Pseudocerastes fieldi* (изоформы

Cb1 и Cb2), *Vipera ammodytes ammodytes* (аммодитоксин А), *Crotalus durissus terrificus* (изоформы щелочной и кислой субъединиц кротоксина), *Daboia russelli pulchella*, *Vipera berus berus*, *Crotalus atrox*, *Agkistrodon hallys pallas* (щелочная изоформа) и *Bothrops asper* (миотоксин II). Наиболее сильное неконкурентное ингибирование протромбиназы вызывали изоформа Вс щелочной субъединицы кротоксина ($I_{50} = 0,7$ нМ) и миотоксин II из яда *Bothrops asper*. Остальные щелочные сФЛА₂ умеренно тормозили протромбиназу (I_{50} от 20 до 90 нМ). Ни одна из исследованных авторами кислых сФЛА₂ не оказывала антикоагулянтного действия.

Как известно, протромбиназный комплекс формируется на клеточных мембранах активированных тромбоцитов и эндотелиоцитов путем связывания на их поверхности активированных факторов Ха (Gla-белок) и Va. С помощью метода поверхностного плазмонного резонанса G. Faure et al. (2007) [30] выявили высокоаффинное связывание фактором Ха антикоагулянтных сФЛА₂ гадюковых. Связывающая поверхность сФЛА₂ находилась вне их активных центров и включала аминокислотные участки альфа-спиралей А и В, Ca²⁺-связывающую петлю и С-концевой фрагмент белков. Связывающая поверхность фактора Ха также находилась вне его активного центра и включала фрагменты как легкой, так и тяжелой цепи. Путем сравнения первичных структур и трехмерной организации сильно и слабо связывающих фактор Ха змеиных сФЛА₂ были установлены аминокислотные остатки сФЛА₂, вовлеченные в это взаимодействие [31]. Особенно значительной оказалась роль Лиз128 С-концевого участка, Гис1, а также Лиз69 и Трп70 кальций-связывающей петли сФЛА₂. В связывании сФЛА₂ с протромбиназным комплексом ведущая роль принадлежала ионным связям и гидрофобному взаимодействию.

В отличие от исследованных G. Faure фосфолипидов гадюковых [30, 31], кислая гомодимерная сФЛА₂ из яда *Daboia russelli* (RVVA-PLA(2)-I) оказывала антикоагулянтное действие не только путем связывания фактора Ха протромбиназного комплекса, но и путем гидролиза прокоагулянтных фосфолипидов [32]. Вклад ферментативного механизма антикоагулянтного действия RVVA-PLA (2)-I был выявлен регистрацией связывания фермента с фосфатидилхолином и путем химической модификации активного центра фермента экстрактом листьев *Azadirachta indica*.

В плазменном гемостазе согласно вышеизложенным фактам мишенями сФЛА₂ яда гадюковых являются в одних случаях прокоагулянтные фосфолипиды, в других фактор Ха протромбиназного комплекса, и кроме того, наблюдалось сочетанное воздействие сФЛА₂ на эти мишени. Поскольку не все обладающие ферментативной активностью сФЛА₂ ядов змей воздействуют на плазменный гемостаз, можно предположить, что доступность

прокоагулянтных фосфолипидов обеспечивается взаимодействием с какими-либо пока не установленными мишенями.

Липопротеины плазмы крови человека в качестве мишеней сФЛА₂ гадюковых. Плазменные липопротеины всех классов содержат значительное количество субстратов для ферментативного действия сФЛА₂ гадюковых. Наибольшим содержанием фосфолипидов характеризуются ЛВП плазмы крови (до 23 % массы частиц). При инкубировании очищенных липопротеинов высокой плотности-3 (ЛВП3) плазмы крови человека с ФЛА₂ яда *Crotalis adamanteus* происходит почти полная утрата фосфатидилхолинов и фосфатидилэтанолламинов в ЛВП-3 после их ферментативной обработки. Продукты гидролиза глицерофосфатидов, а именно лизофосфатиды и свободные жирные кислоты, оставались в составе ЛВП, но извлекались из них при добавлении делипидированного альбумина. Вероятно, при укусе змей в крови людей также после гидролиза глицерофосфолипидов ЛВП происходит переход лизофосфатидов и жирных кислот в молекулы альбумина. Можно предположить, что далее эти продукты могут попадать в мышечную и жировую ткань.

Как известно, зрелые ЛВП плазмы крови подвергаются обратному транспорту гепатоцитами. X. Collet et al. (1990) [33] инкубировали субфракции ЛВП плазмы крови человека (ЛВП2 и ЛВП-3), радиоактивно меченные по ¹²⁵I-аполипопротеину и ¹⁴C-холестеролу, с очищенной сФЛА₂ яда *Crotalus adamanteus* в присутствии альбумина. Гидролиз фосфатидилхолина проходил на 72–82 %. Обработанные фосфолипазой А₂ и контрольные ЛВП помещали в культуру гепатоцитов крысы. Наблюдали за процессом захвата этих частиц клетками. Обработка ЛВП фосфолипазой А₂ яда змеи почти в 2 раза ускоряла их захват гепатоцитами. Извлечение из кровотока обогащенных холестерином ЛВП должно приводить к снижению концентрации холестерина в плазме крови. Вероятно, это явление объясняет обнаруженное другими авторами [34] снижение концентрации холестерина после укуса гадюк. У людей, укушенных *Vipera palaestinae* (в первые 3 часа после укуса), выявили сильную отрицательную корреляцию между тяжестью клинической картины отравления змеиным ядом и уровнем холестерина в крови. Предлагается использовать определение общего холестерина крови для оценки состояния человека после укуса гадюки.

КЛЕТКИ КРОВИ В КАЧЕСТВЕ МИШЕНЕЙ СФЛА₂ ГАДЮКОВЫХ

Ферменты змеиных ядов, как правило, не способны проникать через биологические мембраны внутрь клеток. Во-первых, липиды клеточных мембран могут выступать в качестве их субстратов, во-вторых, ферменты змеиных ядов способны взаимодействовать с мембранными белками.

На поверхности клеток человека экспонированы фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины, которые являются предпочтительными субстратами сФЛА. В отношении гетеродимера сФЛА₂ яда *Vipera Nikolski* была обнаружена его способность связывать билипидные мембраны с последующей их агрегацией, не требующая ферментативной активности [35].

Воздействие ФЛА₂ на эритроциты человека.

Первые экспериментальные свидетельства лизиса эритроцитов человека и ряда млекопитающих под действием змеиных ядов появились еще в начале XX века [36]. Тогда же было обнаружено, что добавление лецитина ускоряло вызванный ядами гемолиз. В настоящее время установлено, что лизис эритроцитов в результате укуса змеи осуществляется только 2 компонентами ядов: сФЛА и трехпальцевым белком (TFP – Tree Finger Protein) [37]. TFP присутствует только в яде аспидовых (например, кобр) и не продуцируется ядовитыми железами гадюковых. У гадюковых единственным гемолитическим агентом является сФЛА₂.

Е. Condrea et al. (1980) [38] отмечали, что в противоположность ядам аспидовых, яды гадюк *Vipera palestinae* и *Vipera russellii*, содержащие большое количество ФЛА₂, не вызывали существенного лизиса отмытых эритроцитов человека. Випоксин из цельного яда гадюки *Vipera ammodytes meridionalis* вызывал лизис эритроцитов человека, зависимый от дозы и времени инкубации, однако степень гемолиза не превышала 10 % [39]. Добавление в инкубационную смесь соевого лецитина повышало степень випоксин-зависимого гемолиза (а также гемолиза под действием цельного яда) до 60 %. Это свидетельствует о том, что сФЛА₂ вызывает преимущественно непрямой гемолиз. Механизм непрямого гемолиза основан на каталитическом действии сФЛА₂ в отношении лецитина или другого глицерофосфолипида. Продукты гидролиза субстратов ФЛА₂, а именно лизофосфатиды и жирные кислоты, вызывают дезорганизацию эритроцитарной мембраны, вплоть до лизиса клеток. Как ферментативная активность, так и степень непрямого гемолиза зависели от присутствия ионов кальция. Не только випоксин, но и выделенная из него щелочная каталитическая субъединица (таблица) вызывала непрямой лизис эритроцитов человека [7, 8].

Изучение электрокинетических характеристик эритроцитарных мембран показало возможность и прямого взаимодействия сФЛА₂ с эритроцитами человека (без их лизиса). После инкубации клеток с випоксином и его кислой субъединицей, выделенных из яда *Vipera ammodytes meridionalis*, наблюдали изменение осмотической стойкости и уменьшение агрегации клеток, сопровождающиеся торможением процессов перекисного окисления мембран.

Предлитическое состояние эритроцитов проявляется в изменении их формы в виде сфероцитоза

или эхиноцитоза. Описанная в работе [39] сфероцитарная гемолитическая анемия, развивающаяся у человека после укуса *Vipera ammodytes*, по мнению авторов, обусловлена непрямым гемолитическим действием сФЛА яда этих гадюк. Можно предположить, что *in vivo* эндогенными субстратами этого фермента служат липопротеины плазмы крови.

Тромбоциты в качестве мишеней сФЛА₂ гадюковых. Воздействие сФЛА₂ гадюковых на тромбоциты может иметь различную направленность. В настоящее время принято подразделять эти ферменты на 3 группы. Группа А – это индукторы агрегации тромбоцитов, группа В – ингибиторы агрегации тромбоцитов и группа С – это сФЛА₂, оказывающие двухфазный ответ на процесс активации тромбоцитов [41].

В экспериментах по изучению антиагрегантного действия сФЛА₂ яда гадюковых (группа В) большинство исследователей в качестве объекта использовали обогащенную тромбоцитами плазму крови человека (PRP), а агрегацию тромбоцитов регистрировали *турбогеметрическим методом*.

При использовании АДФ и коллагена в качестве индукторов агрегации тромбоцитов антиагрегантное действие было выявлено у кислых ФЛА₂ следующих виперид: *Vipera lebetina* (VLPLA(2)-1, pI 4,3), *Lachesis muta* (LM-PLA2-II, pI 5,4), *Echis carinatus* (EC-I-PLA2, pI 4,6), *Cerastes cerastes* (CC-PLA2-1 и CC-PLA2-2, pI 4.9), а также щелочных ферментов подвида: *Vipera russelli* (VRV-PL-IIIb, pI 7,3 – 7,7), *Vipera (Daboia) russelli siamensis* (DRS-PLA₂, pI 10,4), *Vipera berus berus* (VBBPLA2, pI 9,3), *Vipera russelli* (VRV-PL-IIIb, pI 7,3 – 7,70), *Vipera ursine renardi*, *Vipera ammodytes* (His48 щелочная субъединица випоксина, pI=10,4). При этом у *Lachesis muta* антиагрегантное действие кислого фермента LM-PLA2-II исчезало при его ингибировании [42] *n-бромофенацилбромидом*, а у щелочных ФЛА₂ *Vipera berus berus* и *Vipera (Daboia) russelli siamensis* антиагрегантное действие не зависело от ферментативной активности. Связь антиагрегантного действия кислого фермента LM-PLA2-II *Lachesis muta* с ферментативной активностью была показана и при использовании тромбина и арахидоната в качестве индукторов агрегации [42]. Щелочная ФЛА₂ *Vipera russelli siamensis* проявила независимость антиагрегантного и ферментативного действия в экспериментах по индукции агрегации ТЦ адреналином.

Создается впечатление, что у кислых фосфолипаз виперид антиагрегантный эффект связан с их способностью гидролизовать липиды плазмы крови, а у щелочных ферментов осуществляется путем непосредственного воздействия на какое-либо звено механизма агрегации тромбоцитов. По данным Y. Yuan et al. (1995) [43], различные секреторные сФЛА₂ (ферменты ядов змей, пчел и панкреатическая ФЛА₂ человека), осуществляя

гидролиз плазменных фосфолипидов, особенно входящих в состав ЛВП, высвобождают лизофосфатидилхолины, которые являются эффективными ингибиторами агрегации ТЦ [43].

В подсемействе кроталид антиагрегантное действие было обнаружено только у кислых сФЛА₂ (pI от 4,2 до 5,3). При использовании АДФ и коллагена в качестве индукторов агрегации ТЦ торможение процесса наблюдали под воздействием сФЛА₂ следующих видов: *Bothrops jararacussu* (BthA-I-PLA₂), *Bothrops jararaca* (BJ-PLA₂-I), *Bothrops pauloensis*, *Bothrops brazili* (Braziliase-I и Braziliase-II), *Bothrops moojeni* (BmooTX-I), *Agkistrodon acutus*, *Agkistrodon halys*, *Trimeresurus jerdonii* (TJ-PLA₂). У всех исследованных кислых сФЛА₂ яда змей семейства *Bothrops* обработка фермента *n*-бромофенацилбромидом приводила к исчезновению или снижению антиагрегантного действия [44].

При исследовании кислой сФЛА₂ яда *Bothrops erythromelas* (BE-I-PLA₂) [29] было показано, что фермент в обогащенной ТЦ плазме крови (PRP) человека оказывал антиагрегантное действие, индуцированное коллагеном и арахидонатом, но не АДФ. При этом ингибирование BE-I-PLA₂ *n*-бромофенацилбромидом приводило к снижению, но не исчезновению ее антиагрегантного действия. Вместе с тем при использовании отмытых тромбоцитов человека BE-I-PLA₂ не оказывала влияния ни на коллаген -, ни на арахидонат-индуцированную агрегацию. Антиагрегантный эффект фермента восстанавливался при добавлении плазмы крови.

Как известно, индуцированная коллагеном агрегация ТЦ *in vitro* начинается с взаимодействия коллагена с его специфическим рецептором на поверхности ТЦ GP VI. Кроме того, коллаген взаимодействует с тромбоцитарным рецептором GP Ia/IIa (интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$). Активация тромбоцитов под действием АДФ приводит к конформационному изменению гликопротеина GPIIb/IIIa, что приводит к его связыванию с фибриногеном. С целью выяснения механизма воздействия BE-I-PLA₂ на агрегацию тромбоцитов J. C. de Albuquerque Modesto et al. (2006) [24] исследовали взаимодействие фермента с некоторыми рецепторами тромбоцитарной мембраны, а именно GP Ia/IIa (интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$) GPIIb-IX-V комплекс (участвует в опосредованной фактором Виллебранда активации тромбоцитов) и GPIIb/IIIa. Результаты исследования показали, что ни BE-I-PLA₂, ни продукты его гидролитической активности в отношении липопротеинов не взаимодействовали с данными рецепторами и не разрушали их. Следовательно, BE-I-PLA₂ воздействует на тромбоциты посредством других механизмов.

Различия во влиянии сФЛА₂ яда *Agkistrodon acutus* на PRP (обогащенную тромбоцитами плазму) и отмытые клетки были описаны R. H. Chen et al. (1989) [45]. Фермент обладал сильным угнетающим эффектом в отношении индуцированной АДФ, коллагеном и арахидонатом агрегации ТЦ

в богатой тромбоцитами плазме, однако вызывал агрегацию отмытых тромбоцитов. Поскольку аспирин угнетал проагрегантное действие сФЛА₂, авторы полагают, что эффект фермента на отмытые тромбоциты связан с высвобождением из тромбоцитарных фосфолипидов арахидоната с последующим образованием индуктора агрегации тромбосана A₂.

Изучение механизма проагрегантного действия BthA-II-PLA₂ из яда *Bothrops jararacussu* [46] показало незначительное участие циклооксигеназного пути в этом процессе. Отсутствие влияния фенолметилсульфанилфторида и D-фенилаланил-L-пролил-L-аргининхлорметилкетона (ингибиторы тромбина) на индуцированную BthA-II-PLA₂ агрегацию тромбоцитов исключает участие тромбинозависимого механизма агрегации. Скавенджеры АДФ также не угнетали этот процесс. Больше всего свидетельств авторами было получено о вовлечении в индуцированную BthA-II-PLA₂ агрегацию тромбоцитов аденилатциклазной системы.

Анализ данных литературы о взаимодействии сФЛА₂ ядов гадюковых с тромбоцитами свидетельствует об условности разделения этих ферментов на группы А, В и С, поскольку одна и та же сФЛА₂ может оказывать разный эффект в зависимости от наличия или отсутствия в среде компонентов плазмы крови [29]. Данных о проагрегантном действии сФЛА₂ гадюковых в литературе мало, их действие, очевидно, осуществляется с вовлечением нескольких сигнальных путей.

Только в яде истинных гадюк обнаружены щелочные сФЛА₂, обладающие антиагрегантным действием. Хотя все они относятся к Asp49 формам, их воздействие на тромбоциты не зависело от ферментативной активности. Вероятно, у этих ферментов имеется так называемый фармакологический сайт, ответственный за взаимодействие с клетками.

Наиболее ясная картина представляется в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов в составе PRP кислыми сФЛА₂ ядов, как виперид, так и кроталид. Все эти ферменты принадлежат к Asp49 сФЛА₂. Связь с ферментативной активностью и необходимость в присутствии плазмы крови для достижения эффекта свидетельствуют о том, что антиагрегантный эффект сФЛА₂ связан с их способностью гидролизовать фосфолипиды плазмы крови и высвободить лизофосфатидилхолины, которые являются эффективными ингибиторами агрегации ТЦ [38]. Полагаем, что это действие кислых сФЛА₂ ядов гадюковых наиболее близко отражает ситуацию *in vivo*.

Влияние сФЛА₂ яда гадюковых на лейкоциты. В экспериментах на животных было показано, что механизм развития воспаления в месте укуса змей семейства *Viperidae* связан с воздействием сФЛА₂ на лейкоциты [47]. Миотоксин II (таблица) из яда *Bothrops asper* вызывал активацию полиморфно-

ядерных лейкоцитов крыс. В отличие от нейтрофилов крыс, нейтрофилы человека оказались устойчивыми к действию сФЛА₂ гадюковых. Только в одной работе приводятся данные о стимуляции хемотаксиса нейтрофилов человека под действием ботропстоксина-I, ботропстоксина-II, и пиратоксина-I [49].

R. C. A. Cedro et al. (2018) [55] наблюдали наряду с сильным провоспалительным действием сФЛА₂ из яда *Bothrops jararaca* (BJ-PLA₂-I) в отношении мышей почти полное отсутствие цитотоксического эффекта фермента в отношении периферических мононуклеаров человека. В настоящее время сФЛА₂ гадюковых используются для создания экспериментальных моделей хронического воспаления, поскольку эндогенные сФЛА₂ человека, очень близкие по строению и свойствам к сФЛА₂ гадюковых, вовлечены в патогенез воспалительных заболеваний [48].

Эндотелиоцит как мишень сФЛА₂ гадюковых. Исследования воздействия сФЛА₂ гадюковых на эндотелиоциты человека немногочисленны. J. C. de Albuquerque Modesto et al. (2006) [24], используя эндотелиоциты пупочной вены человека показали, что сФЛА₂ яда *Bothrops erythromelas* (BE-I-PLA₂) в концентрациях до 10 мМ не вызывал цитотоксического, апоптотического и пролиферативного эффекта. В более низких концентрациях (0,3–3 мМ) фермент не влиял на выделение NO эндотелиоцитами, но значительно усиливал продукцию ПГ₂ клетками. Стимуляцию выделения эндотелиоцитами пупочной вены ПГ₂ под действием сФЛА₂ авторы связывают с увеличением экспрессии ЦОГ₂ и предполагают, что этот эффект может усиливать антиагрегантное действие BE-I-PLA₂ *in vivo*.

Еще одним объектом изучения влияния сФЛА₂ гадюковых явилась культура микрососудистых эндотелиоцитов человеческого мозга (human brain microvascular endothelial cells – HBMEC). R. Kessentini-Zouari et al. (2010) [50] обнаружили зависимое от дозы (ниже 1 мкМ) торможение адгезии и миграции HBMEC под действием сФЛА₂ яда рогатой гадюки *Cerastes cerastes* (CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2). Ферменты не оказывали цитотоксического эффекта и не влияли на пролиферацию эндотелиоцитов. Поскольку фосфолипазы воздействовали на миграцию эндотелиоцитов только к фибриногену и фибронектину, но не к другим молекулам (коллаген I типа, поли-L-лизин, витронектин, ламинин-1), авторы предположили, что мишенями CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2 являются α5β1 и αv-содержащие интегрины. Это предположение было доказано в экспериментах с антителами, блокирующими различные пары белков внеклеточного матрикса и клеток. CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2 тормозили только интегрины α5β1 и αv, но не влияли на интегрины α1β1, α2β1 и α6β4. Была обнаружена избирательность и в отношении αv-содержащих интегринов: только αvβ3 и αvβ6, но не αvβ5, подвергались ингибированию со сто-

роны CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2. Для протекания ангиогенеза наиболее существенна роль интегрин αvβ3. Экспрессия интегрин α5β1 также играет ключевую роль в ангиогенезе, его экспрессия в эндотелиоцитах характерна только для растущих сосудов. Поскольку интегрины являются важными участниками ангиогенеза [51], способность тормозящего действия фосфолипаз гадюковых в отношении ключевых интегринов ангиогенеза может быть использована для антиангиогенной терапии, включая терапию злокачественных новообразований. Имеются данные и об интегрин-опосредованном блокировании миграции к фибриногену и фибронектину клеток IGR39 меланомы и HT1080 фибросаркомы под действием CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2, что создает перспективы для антиметастатической терапии [52].

Кислая сФЛА₂ из яда *Macrovipera lebetina transmediterranea* (MVL-PLA₂), подобно аналогичным ферментам яда рогатой гадюки CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2, оказывала антиангиогенное действие, основанное на торможении миграции культуры эндотелиоцитов человека HMEC-1 (human microvascular-endothelial cells) к фибриногену и фибронектину с IC₅₀ соответственно 30 нМ и 70 нМ [53]. В исследованных концентрациях фермент не оказывал цитотоксического и пролиферативного действия. Мишенями фермента, как и для CC-PLA₂-1 и CC-PLA₂-2, тоже оказались α5β1 и βv-содержащие интегрины. Обработка MVL-PLA₂ п-бромфенилацилбромидом не влияла на степень торможения миграции эндотелиоцитов, что свидетельствует об отсутствии связи этого эффекта с ферментативной активностью. Для более детального выяснения механизма действия MVL-PLA₂ в отношении эндотелиоцитов авторы провели анализ динамики преобразования микротрубочек. Было показано, что MVL-PLA₂ значительно, до 40 %, увеличивала динамику преобразования микротрубочек, что объясняет нарушение формирования фокальной адгезии, приводящее к торможению миграции эндотелиоцитов. Эти же авторы [53] обнаружили торможение миграции под действием MVL-PLA₂ не только эндотелиоцитов, но и клеток фибросаркомы (HT1080) и меланомы (IGR39) человека. Эффект также был обусловлен блокированием α5β1 и αv-содержащих интегринов опухолевыми клетками.

Еще у одной секреторной ФЛА₂ гадюковых, а именно кислого фермента яда *Bothrops alternates* (Ba SPII RP4), было обнаружено взаимодействие с эндотелиоцитами. Фермент в низких концентрациях (1 мкг/мл) усиливал вызванную PIII-металлопротеиназой (балтерагином) этого же яда дезинтеграцию культуры эндотелиальных клеток. Эффект сохранялся и после инактивации Ba SPII RP4 п-бромфенилацилбромидом, то есть он не был обусловлен ферментативной активностью белка. Основным проявлением токсичности балтерагина является его геморрагическое действие [54].

Полученные авторами результаты объясняют более выраженное геморрагическое действие цельного яда по сравнению с очищенным балтерагином.

Несмотря на малочисленность исследований воздействия сФЛА₂ гадюковых на эндотелиоциты, не вызывает сомнения тот факт, что эндотелиоциты являются одной из мишеней некаталитических сайтов этих ферментов. Особенно практически важными представляются обнаруженные молекулярные мишени на поверхности эндотелиоцитов для трех кислых сФЛА₂, которые связывали α5β1 и βv-содержащие интегрины, угнетая адгезию и миграцию клеток [52]. Эти свойства сФЛА₂ гадюковых могут быть использованы для антиангиогенной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фосфолипазы А₂ яда гадюковых оказывают множественные эффекты на различные мишени в кровяном русле.

1. Антикоагулянтный эффект ФЛА₂ осуществляется как посредством гидролиза прокаогулянтных фосфолипидов, так и неферментативно — путем связывания фактора Ха и предотвращения образования протромбиназного комплекса.

2. ФЛА₂ гадюковых вызывают не прямой гемолиз. Он вызывается лизофосфолипидами и жирными кислотами, которые образуются при ФЛА₂-зависимом гидролизе фосфолипидов липопротеинов.

3. Стимуляция или ингибирование агрегации тромбоцитов. Она стимулируется фосфолипазами группы А, ингибируется фосфолипазами группы В. Ферменты группы С оказывают двухфазный ответ на процесс активации тромбоцитов. Кислые фосфолипазы группы В ингибируют агрегацию тромбоцитов каталитическим путем, тогда как щелочные — некаталитическим.

4. Эффект на лейкоциты. Фосфолипазы гадюковых стимулируют выделение провоспалительных лейкотриенов нейтрофилами и хемотаксис нейтрофилов. В настоящее время сФЛА₂ гадюковых используются для создания экспериментальных моделей хронического воспаления, поскольку эндогенные сФЛА₂ человека, очень близкие по строению и свойствам к сФЛА₂ гадюковых, вовлечены в патогенез воспалительных заболеваний.

5. Эффект на эндотелиоциты. Способность тормозящего действия фосфолипаз гадюковых в отношении ключевых интегринов ангиогенеза может быть использована для антиангиогенной терапии, включая терапию злокачественных новообразований.

Интересно отметить, что во многих случаях фосфолипазы змеиного яда воздействуют на мишени неферментативно; механизм их некаталитического действия остается предметом исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma M., Iyer J. K., Shih N. Daboxin P, a major phospholipase A2 Enzyme from the indian *Daboia russellii russellii* venom targets factor X and factor Xa for its anticoagulant activity // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, № 4. – P. 0153770. DOI: 10.1371/journal.pone.0153770.
2. Gopalan G., Thwin M. M., Gopalakrishnakone P., Swaminathan K. Structural and pharmacological comparison of daboia toxin from *Daboia russellii siamensis* with viperotoxin F and vipoxin from other vipers // Acta Crystallogr.D: Biol. Crystallogr. – 2007. – Vol. 63, № 6. – P. 722–729. DOI: 10.1107/S0907444907016204.
3. Samy R. P., Stiles B. G., Chinnathambi A. et al. Viperoxin-II: A novel viper venom protein as an effective bactericidal agent // FEBS Open Bio. – 2015. – Vol. 5. – P. 928–941. DOI: 10.1016/j.fob.2015.10.004.
4. Perbandt M., Tsai I. H., Fuchs A. et al. Structure of the heterodimeric neurotoxic complex viperotoxin F (RV-4/RV7) from the venom of *Vipera russelli formosensis* at 1.9 Å resolution // Acta Crystallogr.D. – 2003. – Vol. 59. – P. 1679–1687. DOI: 10.1107/s0907444903014987.
5. Jan V., Maroun R. C., Robbe-Vincent A. et al. Toxicity evolution of *Vipera aspis aspis* venom: identification and molecular modelling of a novel phospholipase A2 heterodimer neurotoxin // FEBS Lett. – 2002. – Vol. 527. – P. 263–268. DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03205-2.
6. Mincheva I., Kleinschmidt T., Aleksiev B., Braunitz G. Sequence homology between phospholipase and its inhibitor in snake venom. The primary structure of phospholipase A2 of vipoxin from the venom of the *Bulgarian viper (Vipera ammodytes ammodytes, Serpentes)* // Biol. Chem. Hoppe Seyler. – 1987. – Vol. 368. – P. 343–352. DOI: 10.1515/bchm2.1984.365.2.885.
7. Petrova S. D., Atanasov V. N., Balashev K. Vipoxin and its components: structure-function relationship // Adv. Protein Chem. Struct. Biol. – 2012. – Vol. 87. – P. 117–153. DOI: 10.1016/B978-0-12-398312-1.00005-6.
8. Atanasov V., Danchev D., Mitewa M., Petrova S. Hemolytic and anticoagulant study of the neurotoxin Vipoxin and its components – basic phospholipase A2 and an acidic inhibitor // Biochemistry. – 2009. – Vol. 74, № 3. – P. 339–344. DOI: 10.1134/s0006297909030055.
9. Ritonja A., Gubensek F. Ammodytoxin A, a highly lethal phospholipase A2 from *Vipera ammodytes ammodytes* venom // Biochim. Biophys. Acta. – 1985. – Vol. 828, № 3. – P. 306–312. DOI: 10.1016/0167-4838(85)90312-7.
10. Krizaj I., Bieber A. L., Ritonja A., Gubensek F. The primary structure of ammodytin L, a myotoxic phospholipase A2 homologue from *Vipera ammodytes* venom // Eur.

- J. Biochem. – 1991. – Vol. 202, № 3. – P. 1165–1168. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb16485.x.
11. Aird S. D., Kaiser I. I., Lewis R. V., Kruggel W. G. Rattlesnake presynaptic neurotoxins: primary structure and evolutionary origin of the acidic subunit // Biochemistry. – 1985. – Vol. 24. – P. 7054–7058. DOI: 10.1021/bi00346a005.
 12. Bouchier C., Boulain J. C., Bon C., Menez A. Analysis of cDNAs encoding the two subunits of crotoxin, a phospholipase A2 neurotoxin from rattlesnake venom: the acidic non enzymatic subunit derives from a phospholipase A2-like precursor // Biochim. Biophys. Acta. – 1991. – Vol. 1088. – P. 401–408. DOI: 10.1016/0167-4781(91)90132-6.
 13. Bon C., Jeng T. W. Crotoxin: a possible mechanism of action // Adv. Cytopharmacol. – 1979. – Vol. 3. – P. 231–235.
 14. Choumet V., Saliou B., Fidele L. et al. Snake venom phospholipase A2 neurotoxins. Potentiation of a single chain neurotoxin by the chaperon subunit of a two-component neurotoxin // Eur. J. Biochem. – 1993. – Vol. 211. – P. 57–62. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb19869.x.
 15. Lomonte B., Tarkowski A., Hanson L. A. Broad cytolytic specificity of myotoxin II, a lysine-49 phospholipase A2 of *Bothrops asper* snake venom // Toxicon. – 1994. – Vol. 32. – P. 1359–1369. DOI: 10.1016/0041-0101(94)90408-1.
 16. Lomonte B., Moreno E., Tarkowski A. et al. Neutralizing interaction between heparins and myotoxin II, a Lys-49 phospholipase A₂ from *Bothrops asper* snake venom. Identification of a heparin-binding and cytolytic toxin region by the use of synthetic peptides and molecular modeling // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269. – P. 29867–29873.
 17. Núñez C. E., Angulo Y., Lomonte B. Identification of the myotoxic site of the Lys49 phospholipase A (2) from *Agkistrodon piscivorus piscivorus* snake venom: synthetic C-terminal peptides from Lys49, but not from Asp49 myotoxins, exert membrane-damaging activities // Toxicon. – 2001. – Vol. 39, № 10. – P. 1587–1594. DOI: 10.1016/S00410101(01)00141-6.
 18. Roberto P. G., Kashima S., Marcussi S. et al. Cloning and identification of a complete cDNA coding for a bactericidal and antitumoral acidic phospholipase A2 from *Bothrops jararacussu* venom // Protein J. – 2004. – Vol. 23. – P. 273–285. DOI: 10.1023/b:jopc.0000027852.92208.60.
 19. Correa L. C., Marchi-Salvado D. P., Cintra A. C. et al. Crystal structure of a myotoxic Asp49-phospholipase A(2) with low catalytic activity: Insights into Ca(2+)-independent catalytic mechanism // Biochim Biophys Acta. – 2008. – Vol. 1784. – P. 591–599. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.01.007.
 20. Tonello F., Simonato M., Aita A. A Lys49-PLA2 myotoxin of *Bothrops asper* triggers a rapid death of macrophages that involves autocrine purinergic receptor signaling // Cell Death. Dis. – 2012. – Vol. 3. – P. e343. DOI: 10.1038/cddis.2012.68.
 21. Butrón E., Ghelestam M., Gutiérrez J. M. Effects on cultured mammalian cells of myotoxin III, a phospholipase A2 isolated from *Bothrops asper (terciopelo)* venom // Biochim. Biophys. Acta. – 1993. – Vol. 1179, № 3. – P. 253–259. DOI: 10.1016/0167-4889(93)90080-9.
 22. Soares A. M., Andrião-Escarso S. H., Bortoleto R. K. et al. Dissociation of enzymatic and pharmacological properties of piratoxins-I and -III, two myotoxic phospholipases A₂ from *Bothrops pirajai* snake venom // Arch. Biochem. Biophys. – 2001. – Vol. 387. – P. 188–196. DOI: 10.1016/0041-0101(81)90108-2.
 23. Mora-Obando D., Díaz C., Angulo Y. et al. Role of enzymatic activity in muscle damage and cytotoxicity induced by *Bothrops asper* Asp49 phospholipase A2 myotoxins: are there additional effector mechanisms involved // Peer J. – 2014. – Vol. 2. – P. e569. DOI: 10.7717/peerj.569.
 24. de Albuquerque Modesto J. C., Spencer P. J., Fritzen M. BE-I-PLA2, a novel acidic phospholipase A2 from *Bothrops erythromelas* venom: isolation, cloning and characterization as potent anti-platelet and inductor of prostaglandin I2 release by endothelial cells // Biochem. Pharmacol. – 2006. – Vol. 72, № 3. – P. 377–384. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.04.032.
 25. Boffa M. C., Boffa G. A. A phospholipase A2 with anticoagulant activity. II. Inhibition of the phospholipid activity in coagulation // Biochim. Biophys. Acta. – 1976. – Vol. 429. – P. 839–852. DOI: 10.1016/0005-2744(76)90330-2.
 26. Mounier C. M., Bon C., Kini R. M. Anticoagulant venom and mammalian secreted phospholipases A(2): protein- versus phospholipid-dependent mechanism of action // Haemostasis. – 2001. – Vol. 31, № 3–6. – P. 279–287. DOI: 10.1159/000048074.
 27. Zhong X., Liu J., Wu X., Zhou Y. Expression, purification and biochemical characterization of a recombinant phospholipase A2 with anticoagulant activity from *Agkistrodon Halys Pallas* // J. Nat. Toxins. – 2001. – Vol. 10. – P. 17–25.
 28. Andriao-Escarso S. H., Soares A. M., Rodrigues V. M. et al. Myotoxic phospholipase A2 in *Bothrops* snake venoms: Effect of chemical modifications on the enzymatic and pharmacological properties of bothropstoxins from *Bothrops jararacussu* // Biochimie. – 2000. – Vol. 82. – P. 755–763. DOI: 10.1016/S0300-9084(00)01150-0.
 29. Atanasov V., Danchev D., Mitewa M., Petrova S. Hemolytic and anticoagulant study of the neurotoxin Vipoxin and its components – basic phospholipase A2 and an acidic inhibitor // Biochemistry. – 2009. – Vol. 74, № 3. – P. 339–344. DOI: 10.1134/s0006297909030055.
 30. Faure G., Gowda V. T., Maroun R. C. Characterization of a human coagulation factor Xa-binding site on Viperidae snake venom phospholipases A2 by affinity binding studies and molecular bioinformatics // BMC Struct. Biol. – 2007. – Vol. 7. – P. 82. DOI: 10.1186/1472-6807-7-82.
 31. Faure G., Saul F. Structural and functional characterization of anticoagulant, FXa-binding viperidae snake venom phospholipases A2 // Acta Chim. Slov. – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 671–677.
 32. Saikia D., Thakur R., Mukherjee A. K. An acidic phospholipase A(2) (RVVA-PLA(2)-I) purified from *Daboia russelli* venom exerts its anticoagulant activity by enzymatic hydrolysis of plasma phospholipids and by non-enzymatic inhibition of factor Xa in a phospholipids/Ca(2+) independent manner // Toxicon. – 2011. – Vol. 57, № 6. – P. 841–850. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.02.018.
 33. Collet X., Perret B.P., Simard G., Vieu C., Douste-Blazy L. Behaviour of phospholipase-modified HDL towards cultured hepatocytes. I. Enhanced transfers of HDL sterols and apoproteins // Biochim Biophys Acta. – 1990. – 1043, № 3. – P. 301–310. DOI: 10.1016/0005-2760(90)90031-r.
 34. Winkler E., Chovers M., Almog S. Decreased serum cholesterol level after snake bite (*Vipera palaestinae*) as a marker of severity of envenomation // J. Lab. Clin. Med. – 1993. – Vol. 121, № 6. – P. 774–778. DOI: 10.5555/uri:pii:002221439390298D.
 35. Alekseeva A. S., Tretiakova D. S., Chernikov V. P. et al. Heterodimeric V. nikolskii phospholipases A2 induce aggregation of the lipid bilayer // Toxicon. – 2017. – Vol. 133. – P. 169–179. DOI: 10.1016/j.toxicon.2017.05.015.
 36. Kyes P. Venom Hemolysis // J. Infect. Dis. – 1910. – Vol. 7, № 2. – P. 181–284.
 37. Xie C., Bittenbinder M. A., Slagboom J. et al. Erythrocyte haemotoxicity profiling of snake venom toxins after nanofractionation // J. Chromatogr. B. – 2021. – Vol. 1176. – P. 122586. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122586.
 38. Condrea E., Yang C. C., Rosenberg P. Comparison of relatively toxic phospholipase A2 from *Naja nigricollis* snake venom with that of a relatively non-toxic phospholipase A2 from *Hemachatus hemachatus* venom – I. Enzymatic activity

on free and membrane bound substrates // *Biochem. Pharmacol.* – 1980. – Vol. 29. – P. 1555–1563. DOI: 10.1016/0006-2952(80)90609-7.

39. Liapis K., Charitaki E., Psaroulaki A. Case report: spherocytic hemolytic anemia after envenomation by long-nosed viper (*Vipera ammodytes*) // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2019. – Vol. 101, № 6. – P. 1442–1445. DOI: 10.4269/ajtmh.19-0611.

40. Stoykova S., Goranova Y., Pantcheva I. et al. Hemolytic activity and platelet aggregation inhibitory effect of vipoxin's basic sPLA2 subunit // *Interdiscip. Toxicol.* – 2013. – Vol. 6, № 3. – P. 136–140. DOI: 10.2478/intox-2013-0021.

41. Kini R. M., Evans H. J. Effects of Phospholipase A2 enzymes on Platelet Aggregation / *Venom phospholipase A2 enzymes: structure, function and mechanism.* – Chichester, UK, John Wiley & Sons, 1997. – P. 369–387.

42. Fuly A. L., Machado O. L. T., Alves E. W., Carlini C. R. Mechanism of inhibitory action on platelet activation of a phospholipase A2 isolated from *Lachesis muta* (Bushmaster) snake venom // *Thromb. Haemost.* – 1997. – Vol. 78. – P. 1372–1380.

43. Yuan Y., Jackson S. P., Newnham H. H. et al. An essential role for lysophosphatidylcholine in the inhibition of platelet aggregation by secretory phospholipase A2 // *Blood.* – 1995. – Vol. 86, № 11. – P. 4166–4174. DOI: 10.1182/blood.V86.11.4166.bloodjournal86114166.

44. Roberto P. G., Kashima S., Marcussi S. et al. Cloning and identification of a complete cDNA coding for a bactericidal and antitumoral acidic phospholipase A2 from *Bothrops jararacussu* venom // *Protein J.* – 2004. – Vol. 23. – P. 273–285. DOI: 10.1023/b:jopc.0000027852.92208.60.

45. Chen R. H., Chen Y. C. Isolation of an acidic phospholipase A2 from the venom of *Agkistrodon acutus* (five pace snake) and its effect on platelet aggregation // *Toxicol.* – 1989. – Vol. 27. – P. 675–682. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.12.006.

46. Fuly A. L., Soares A. M., Marcussi S. et al. Signal transduction pathways involved in the platelet aggregation induced by a D-49 phospholipase A2 isolated from *Bothrops jararacussu* snake venom // *Biochimie.* – 2004. – Vol. 86. – P. 731–739. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.07.001.

47. Teixeira S. S., Silveira L. B., da Silva F. M. et al. Molecular characterization of an acidic phospholipase A2 from *Bothrops pirajai* snake venom: synthetic C-terminal peptide identifies its antiplatelet region // *Arch Toxicol.* – 2011. – Vol. 85, № 10. – P. 1219–1233. DOI: 10.1007/s00204-011-0665-6.

48. Dias R. G., Sampaio S. C., Sant'Anna M. B., Cunha F. Q. Articular inflammation induced by an enzymatically-inactive Lys49 phospholipase F2: activation of endogenous phospholipases contributes to the pronociceptive effect // *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* – 2017. – Vol. 23, № 18. – P. 1–13. DOI: 10.1186/s40409-017-0104-0.

49. Gambero A., Landucci E. C., Toyama M. H. et al. Human neutrophil migration in vitro induced by secretory phospholipases A2: a role for cell surface glycosaminoglycans // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 63, № 1. – P. 65–72. DOI: 10.1016/s0006-2952(01)00841-3.

50. Kessentini-Zouari R., Jebali J., Taboubi S. CC-PLA2-1 and CC-PLA2-2, two *Cerastes cerastes* venom-derived phospholipases A2, inhibit angiogenesis both in vitro and in vivo // *Lab Invest.* – 2010. – Vol. 90. – P. 510–519. DOI: 10.1038/labinvest.2009.137.

51. Stupack D. G., Cheresh D. A. Integrins and angiogenesis // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2004. – Vol. 64. – P. 207–238. DOI: 10.1016/S0070-2153(04)64009-9.

52. Zouari-Kessentini R., Luis J., Karray A. Two purified and characterized phospholipases A2 from *Cerastes cerastes*

venom, that inhibit cancerous cell adhesion and migration // *Toxicol.* – 2009. – Vol. 53. – P. 444–453. DOI: 10.1016/j.toxicol.2009.01.003.

53. Baza'a A., Luis J., Srairi N. et al. MVL-PLA2, a phospholipase A2 from *Macrovipera lebetina* transmediterranea venom, inhibits tumor cells adhesion and migration // *Matrix Biol.* – 2009. – Vol. 28. – P. 188–193. DOI: 10.1016/j.matbio.2009.03.007.

54. Bustillo S., García-Denegri M. E., Gay C. Phospholipase A(2) enhances the endothelial cell detachment effect of a snake venom metalloproteinase in the absence of catalysis // *Chem. Biol. Interact.* – 2015. – Vol. 240. – P. 30–36. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.08.002.

55. Cedro R. C. A., Menaldo D. L., Costa T. R. et al. Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A2 from *Bothrops jararaca* snake venom // *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* – 2018. – Vol. 24. – P. 33. DOI: 10.1186/s40409-018-0170-y.

REFERENCES

1. Sharma M., Iyer J. K., Shih N. Daboxin P, a major phospholipase A2 Enzyme from the indian *Daboia russelii russelii* venom targets factor X and factor Xa for its anticoagulant activity // *PLoS One.* 2016;11(4):0153770. DOI: 10.1371/journal.pone.0153770.

2. Gopalan G., Thwin M. M., Gopalakrishnakone P., Swaminathan K. Structural and pharmacological comparison of daboia toxin from *Daboia russelii siamensis* with viperotoxin F and vipoxin from other vipers // *Acta Crystallogr.D: Biol. Crystallogr.* 2007;63(6):722–729. DOI: 10.1107/S0907444907016204.

3. Samy R. P., Stiles B. G., Chinnathambi A. et al. Viperatoxin-II: A novel viper venom protein as an effective bactericidal agent // *FEBS Open Bio.* 2015;5:928–941. DOI: 10.1016/j.fob.2015.10.004.

4. Perbandt M., Tsai I. H., Fuchs A. et al. Structure of the heterodimeric neurotoxic complex viperotoxin F (RV-4/RV7) from the venom of *Vipera russelli formosensis* at 1.9 Å resolution // *Acta Crystallogr.D.* 2003;59:1679–1687. DOI: 10.1107/s0907444903014987.

5. Jan V., Maroun R. C., Robbe-Vincent A. et al. Toxicity evolution of *Vipera aspis aspis* venom: identification and molecular modelling of a novel phospholipase A2 heterodimer neurotoxin // *FEBS Lett.* 2002;527:263–268. DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03205-2.

6. Mincheva I., Kleinschmidt T., Aleksiev B., Braunitz G. Sequence homology between phospholipase and its inhibitor in snake venom. The primary structure of phospholipase A2 of vipoxin from the venom of the Bulgarian viper (*Vipera ammodytes ammodytes*, *Serpentes*) // *Biol. Chem. Hoppe Seyler.* 1987;368:343–352. DOI: 10.1515/bchm2.1984.365.2.885.

7. Petrova S. D., Atanasov V. N., Balashev K. Vipoxin and its components: structure-function relationship // *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* 2012;87:117–153. DOI: 10.1016/B978-0-12-398312-1.00005-6.

8. Atanasov V., Danchev D., Mitewa M., Petrova S. Hemolytic and anticoagulant study of the neurotoxin Vipoxin and its components – basic phospholipase A2 and an acidic inhibitor // *Biochemistry.* 2009;74(3):339–344. DOI: 10.1134/s0006297909030055.

9. Ritonja A., Gubensek F. Ammodytoxin A, a highly lethal phospholipase A2 from *Vipera ammodytes ammodytes* venom // *Biochim. Biophys. Acta.* 1985;828(3):306–312. DOI: 10.1016/0167-4838(85)90312-7.

10. Krizaj I., Bieber A. L., Ritonja A., Gubensek F. The primary structure of ammodytin L, a myotoxic phospholipase A2 homologue from *Vipera ammodytes* venom // *Eur.*

- J. Biochem. 1991;202(3):1165–1168. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb16485.x.
11. Aird S. D., Kaiser I. I., Lewis R. V., Kruggel W. G. Rattlesnake presynaptic neurotoxins: primary structure and evolutionary origin of the acidic subunit//Biochemistry. 1985;24:7054–7058. DOI: 10.1021/bi00346a005.
12. Bouchier C., Boulain J. C., Bon C., Menez A. Analysis of cDNAs encoding the two subunits of crotoxin, a phospholipase A2 neurotoxin from rattlesnake venom: the acidic non enzymatic subunit derives from a phospholipase A2-like precursor // Biochim. Biophys. Acta. 1991;1088:401–408. DOI: 10.1016/0167-4781(91)90132-6.
13. Bon C., Jeng T. W. Crotoxin: a possible mechanism of action // Adv. Cytopharmacol. 1979;3:231–235.
14. Choumet V., Saliou B., Fideler L. et al. Snake venom phospholipase A2 neurotoxins. Potentiation of a single chain neurotoxin by the chaperon subunit of a two-component neurotoxin // Eur. J. Biochem. 1993;211:57–62. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb19869.x.
15. Lomonte B., Tarkowski A., Hanson L. A. Broad cytolytic specificity of myotoxin II, a lysine-49 phospholipase A2 of *Bothrops asper* snake venom // Toxicon. 1994;32:1359–1369. DOI: 10.1016/0041-0101(94)90408-1.
16. Lomonte B., Moreno E., Tarkowski A. et al. Neutralizing interaction between heparins and myotoxin II, a Lys-49 phospholipase A₂ from *Bothrops asper* snake venom. Identification of a heparin-binding and cytolytic toxin region by the use of synthetic peptides and molecular modeling // J. Biol. Chem. 1994;269:29867–29873.
17. Núñez C. E., Angulo Y., Lomonte B. Identification of the myotoxic site of the Lys49 phospholipase A(2) from *Agkistrodon piscivorus piscivorus* snake venom: synthetic C-terminal peptides from Lys49, but not from Asp49 myotoxins, exert membrane-damaging activities // Toxicon. 2001;39(10):1587–1594. DOI: 10.1016/S00410101(01)00141-6.
18. Roberto P. G., Kashima S., Marcussi S. et al. Cloning and identification of a complete cDNA coding for a bactericidal and antitumoral acidic phospholipase A2 from *Bothrops jararacussu* venom // Protein J. 2004;23:273–285. DOI: 10.1023/b:jopc.0000027852.92208.60.
19. Correa L. C., Marchi-Salvado D. P., Cintra A. C. et al. Crystal structure of a myotoxic Asp49-phospholipase A(2) with low catalytic activity: Insights into Ca(2+)-independent catalytic mechanism // Biochim Biophys Acta. 2008;1784:591–599. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.01.007.
20. Tonello F., Simonato M., Aita A. A Lys49-PLA2 myotoxin of *Bothrops asper* triggers a rapid death of macrophages that involves autocrine purinergic receptor signaling // Cell Death. Dis. 2012;3:e343. DOI: 10.1038/cddis.2012.68.
21. Butrón E., Ghelestam M., Gutiérrez J. M. Effects on cultured mammalian cells of myotoxin III, a phospholipase A2 isolated from *Bothrops asper* (terciopelo) venom // Biochim. Biophys. Acta. – 1993;1179(3):253–259. DOI: 10.1016/0167-4889(93)90080-9.
22. Soares A. M., Andrião-Escarso S. H., Bortoleto R. K. et al. Dissociation of enzymatic and pharmacological properties of piratoxins-I and -III, two myotoxic phospholipases A₂ from *Bothrops pirajai* snake venom // Arch. Bioch. Biophys. 2001;387:188–196. DOI: 10.1016/0041-0101(81)90108-2.
23. Mora-Obando D., Díaz C., Angulo Y. et al. Role of enzymatic activity in muscle damage and cytotoxicity induced by *Bothrops asper* Asp49 phospholipase A2 myotoxins: are there additional effector mechanisms involved // Peer J. 2014;2:e569. DOI: 10.7717/peerj.569.
24. de Albuquerque Modesto J. C., Spencer P. J., Fritzen M. BE-I-PLA2, a novel acidic phospholipase A2 from *Bothrops erythromelas* venom: isolation, cloning and characterization as potent anti-platelet and inductor of prostaglandin I2 release by endothelial cells // Biochem. Pharmacol. 2006;72(3):377–384. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.04.032.
25. Boffa M. C., Boffa G. A. A phospholipase A2 with anticoagulant activity. II. Inhibition of the phospholipid activity in coagulation // Biochim. Biophys. Acta. 1976;429:839–852. DOI: 10.1016/0005-2744(76)90330-2.
26. Mounier C. M., Bon C., Kini R. M. Anticoagulant venom and mammalian secreted phospholipases A(2): protein- versus phospholipid-dependent mechanism of action // Haemostasis. 2001;31(3–6):279–287. DOI: 10.1159/000048074.
27. Zhong X., Liu J., Wu X., Zhou Y. Expression, purification and biochemical characterization of a recombinant phospholipase A2 with anticoagulant activity from *Agkistrodon Halys Pallas* // J. Nat. Toxins. 2001;10:17–25.
28. Andrião-Escarso S. H., Soares A. M., Rodrigues V. M. et al. Myotoxic phospholipase A2 in *Bothrops* snake venoms: Effect of chemical modifications on the enzymatic and pharmacological properties of bothropstoxins from *Bothrops jararacussu* // Biochimie. 2000;82:755–763. DOI: 10.1016/S0300-9084(00)01150-0.
29. Atanasov V., Danchev D., Mitewa M., Petrova S. Hemolytic and anticoagulant study of the neurotoxin Vipoxin and its components – basic phospholipase A2 and an acidic inhibitor // Biochemistry. 2009;74(3):339–344. DOI: 10.1134/s0006297909030055.
30. Faure G., Gowda V. T., Maroun R. C. Characterization of a human coagulation factor Xa-binding site on *Viperidae* snake venom phospholipases A2 by affinity binding studies and molecular bioinformatics // BMC Struct. Biol. 2007;7:82. DOI: 10.1186/1472-6807-7-82.
31. Faure G., Saul F. Structural and functional characterization of anticoagulant, FXa-binding viperidae snake venom phospholipases A2 // Acta Chim. Slov. 2011;58(4):671–677.
32. Saikia D., Thakur R., Mukherjee A. K. An acidic phospholipase A(2) (RVVA-PLA(2)-I) purified from *Daboia russelli* venom exerts its anticoagulant activity by enzymatic hydrolysis of plasma phospholipids and by non-enzymatic inhibition of factor Xa in a phospholipids/Ca(2+) independent manner // Toxicon. 2011;57(6):841–850. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.02.018.
33. Collet X., Perret B.P., Simard G., Vieu C., Douste-Blazy L. Behaviour of phospholipase-modified HDL towards cultured hepatocytes. I. Enhanced transfers of HDL sterols and apoproteins//Biochim Biophys Acta. 1990;1043(3):301–310. DOI: 10.1016/0005-2760(90)90031-r.
34. Winkler E., Chovers M., Almog S. Decreased serum cholesterol level after snake bite (*Vipera palaestinae*) as a marker of severity of envenomation // J. Lab Clin Med. 1993;121(6):774–778. DOI: 10.5555/uri:pii:002221439390298D.
35. Alekseeva A. S., Tretiakova D. S., Chernikov V. P. et al. Heterodimeric V. nikolskii phospholipases A2 induce aggregation of the lipid bilayer // Toxicon. 2017;133:169–179. DOI: 10.1016/j.toxicon.2017.05.015.
36. Kyes P. Venom Hemolysis // J. Infect. Dis. 1910;7(2): 181–284.
37. Xie C., Bittenbinder M. A., Slagboom J. et al. Erythrocyte haemotoxicity profiling of snake venom toxins after nanofractionation // J. Chromatogr. B. 2021;1176:122586. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122586.
38. Condrea E., Yang C. C., Rosenberg P. Comparison of relatively toxic phospholipase A2 from *Naja nigricollis* snake venom with that of a relatively non-toxic phospholipase A2 from *Hemachatus hemachatus* venom – I. Enzymatic activity on free and membrane bound substrates // Biochem. Pharmacol. 1980;29:1555–1563. DOI: 10.1016/0006-2952(80)90609-7.

39. Liapis K., Charitaki E., Psaroulaki A. Case report: spherocytic hemolytic anemia after envenomation by long-nosed viper (*Vipera ammodytes*) // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2019;101(6):1442–1445. DOI: 10.4269/ajtmh.19-0611.
40. Stoykova S., Goranova Y., Pantcheva I. et al. Hemolytic activity and platelet aggregation inhibitory effect of vipoxin's basic sPLA2 subunit // *Interdiscip. Toxicol.* 2013;6(3):136–140. DOI: 10.2478/intox-2013-0021.
41. Kini R. M., Evans H. J. Effects of Phospholipase A2 enzymes on Platelet Aggregation / Venom phospholipase A2 enzymes: structure, function and mechanism. Chichester, UK, John Wiley & Sons: 1997:369–387.
42. Fuly A. L., Machado O. L. T., Alves E. W., Carlini C. R. Mechanism of inhibitory action on platelet activation of a phospholipase A2 isolated from *Lachesis muta* (Bushmaster) snake venom // *Thromb. Haemost.* 1997;78:1372–1380.
43. Yuan Y., Jackson S. P., Newnham H. H. et al. An essential role for lysophosphatidylcholine in the inhibition of platelet aggregation by secretory phospholipase A2 // *Blood.* 1995;86(11):4166–4174. DOI: 10.1182/blood.V86.11.4166.bloodjournal86114166.
44. Roberto P. G., Kashima S., Marcussi S. et al. Cloning and identification of a complete cDNA coding for a bactericidal and antitumoral acidic phospholipase A2 from *Bothrops jararacussu* venom // *Protein J.* 2004;23:273–285. DOI: 10.1023/b:jopc.0000027852.92208.60.
45. Chen R. H., Chen Y. C. Isolation of an acidic phospholipase A2 from the venom of *Agkistrodon acutus* (five pace snake) and its effect on platelet aggregation // *Toxicon.* 1989;27:675–682. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.12.006.
46. Fuly A. L., Soares A. M., Marcussi S. et al. Signal transduction pathways involved in the platelet aggregation induced by a D-49 phospholipase A2 isolated from *Bothrops jararacussu* snake venom // *Biochimie.* 2004;86:731–739. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.07.001.
47. Teixeira S. S., Silveira L. B., da Silva F. M. et al. Molecular characterization of an acidic phospholipase A2 from *Bothrops pirajai* snake venom: synthetic C-terminal peptide identifies its antiplatelet region // *Arch Toxicol.* 2011;85(10):1219–1233. DOI: 10.1007/s00204-011-0665-6.
48. Dias R. G., Sampaio S. C., Sant'Anna M. B., Cunha F. Q. Articular inflammation induced by an enzymatically-inactive Lys49 phospholipase F2: activation of endogenous phospholipases contributes to the pronociceptive effect // *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 2017;23(18):1–13. DOI: 10.1186/s40409-017-0104-0.
49. Gambero A., Landucci E. C., Toyama M. H. et al. Human neutrophil migration in vitro induced by secretory phospholipases A2: a role for cell surface glycosaminoglycans // *Biochem. Pharmacol.* 2002;63(1):65–72. DOI: 10.1016/s0006-2952(01)00841-3.
50. Kessentini-Zouari R., Jebali J., Taboubi S. CC-PLA2-1 and CC-PLA2-2, two *Cerastes cerastes* venom-derived phospholipases A2, inhibit angiogenesis both in vitro and in vivo // *Lab Invest.* 2010;90:510–519. DOI: 10.1038/labinvest.2009.137.
51. Stupack D. G., Cheresh D. A. Integrins and angiogenesis // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2004;64:207–238. DOI: 10.1016/S0070-2153(04)64009-9.
52. Zouari-Kessentini R., Luis J., Karray A. Two purified and characterized phospholipases A2 from *Cerastes cerastes* venom, that inhibit cancerous cell adhesion and migration // *Toxicon.* 2009;53:444–453. DOI: 10.1016/j.toxicon.2009.01.003.
53. Baza A., Luis J., Srairi N. et al. MVL-PLA2, a phospholipase A2 from *Macrovipera lebetina* transmediterranea venom, inhibits tumor cells adhesion and migration // *Matrix Biol.* 2009;28:188–193. DOI: 10.1016/j.matbio.2009.03.007.
54. Bustillo S., García-Denegri M. E., Gay C. Phospholipase A(2) enhances the endothelial cell detachment effect of a snake venom metalloproteinase in the absence of catalysis // *Chem. Biol. Interact.* 2015;240:30–36. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.08.002.
55. Cedro R. C. A., Menaldo D. L., Costa T. R. et al. Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A2 from *Bothrops jararaca* snake venom // *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 2018;24:33. DOI: 10.1186/s40409-018-0170-y.

Информация об авторах

Васина Любовь Васильевна, доктор медицинских наук, зав. кафедрой биологической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-2647-6336; **Галебская Людвиг Вячеславовна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6688-5257; **Галкин Михаил Александрович**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-6527-5580; **Соловьева Марина Алексеевна**, ассистент кафедры биологической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-0026-0166; **Тарасова Юлия Викторовна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3251-0481.

Information about authors

Vasina Lyubov V., Dr. of Sci. (Med.), Head of the Department of Biological Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-2647-6336; **Galebskaya Lyudviga V.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Biological Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6688-5257; **Galkin Mikhail A.**, Cand. of Sci. (Biol.), Associate Professor of the Department of Biological Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-6527-5580; **Solovyeva Marina A.**, Assistant of the Department of Biological Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-0026-0166; **Tarasova Yuliya V.**, Cand. of Sci. (Biol.), Associate Professor of the Department of Biological Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3251-0481.