

Нейро- и кардиотоксины актиний: структура, функция и перспективы применения в научной и медицинской практике

Р.С. Калина, М.М. Монастырняя

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН
(ТИБОХ ДВО РАН), Проспект 100-летия Владивостока, д. 159,
г. Владивосток, 690022, Российская Федерация*

Поступила 20.05.2019 г. Принята к публикации 17.06.2019 г.

Актинии повсеместно распространены в Мировом океане и представляют собой древнейшие активно-ядовитые организмы. Их основной инструмент нападения на других животных – нематоцисты, жалящие органеллы, внутри которых заключена свернутая полая нить с ядовитым острием на конце. Для привлечения потенциальных жертв они используют флуоресцентные белки, ставшие отдельным объектом исследования в качестве генетически кодируемых маркеров для наблюдения за активностью промоторов генов. Ядовитый секрет актиний характеризуется наличием максимального количества пептидов различных структурных классов и пространственных структур среди изученных наземных и морских организмов (пчелы, пауки, скорпионы, змеи, моллюски конусы и др.), что затрудняет его идентификацию и дифференциацию от ядов животных других таксонов, если неизвестен конкретный источник его происхождения. Токсичность некоторых биологически активных пептидов актиний (RpI, RpIII) при внутривенном введении экспериментальным животным сравнима с токсичностью наиболее известных и опасных представителей природных токсинов, имеющих сходный механизм действия (альфа-гемолизин и тетродотоксин), или боевых отравляющих веществ, таких как зарин и синильная кислота. По токсическому действию биологически активные пептиды актиний в основном можно отнести к нейротоксинам, поскольку они оказывают влияние на функционирование натриевых каналов в клетках нервной системы животных. Кардиотоксическое действие секрета актиний обусловлено специфичностью взаимодействия отдельных, входящих в его состав, нейротоксинов с одним из подтипов натриевых каналов мышечных клеток, характерных для тканей сердца. Основными способами идентификации нейротоксинов актиний в образцах, например, при расследовании биопреступлений, могут быть секвенирование по методу Эдмана или методы tandemной масс-спектрометрии (анализ фрагментов молекулы токсина для установления его структуры). Дальнейшее изучение механизмов взаимодействия нейротоксинов актиний с ионными каналами клеток нервной и мышечной систем способно привести к созданию препаратов для лечения каналопатий и антидотов широко спектра действия, блокирующих токсины, воздействующие на натриевые каналы.

Ключевые слова: актинии; антидот; биопреступление; зарин; ионный канал; кардиотоксин; нейропептид; нейротоксин; нематоцист; нефротоксичность; секвенирование по методу Эдмана; синильная кислота; стрекательная клетка; tandemная масс-спектрометрия; тетродотоксин; флуоресцентный белок; цитолизин.

Библиографическое описание: Калина Р.С., Монастырняя М.М. Нейро- и кардиотоксины актиний: структура, функция и перспективы применения в научной и медицинской практике // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 2. С. 117–136.

Морские организмы – богатейший источник разнообразных биологически активных веществ, в том числе токсических соединений (токсинов), но в этом отношении они исследованы значительно хуже по сравнению с наземными ядовитыми

животными. В такой их малоизученности кроется опасность для жизни и здоровья людей, столкнувшихся с агрессией животных в природных условиях или ставших жертвами биопреступлений, совершенных с использованием токсинов и ядов

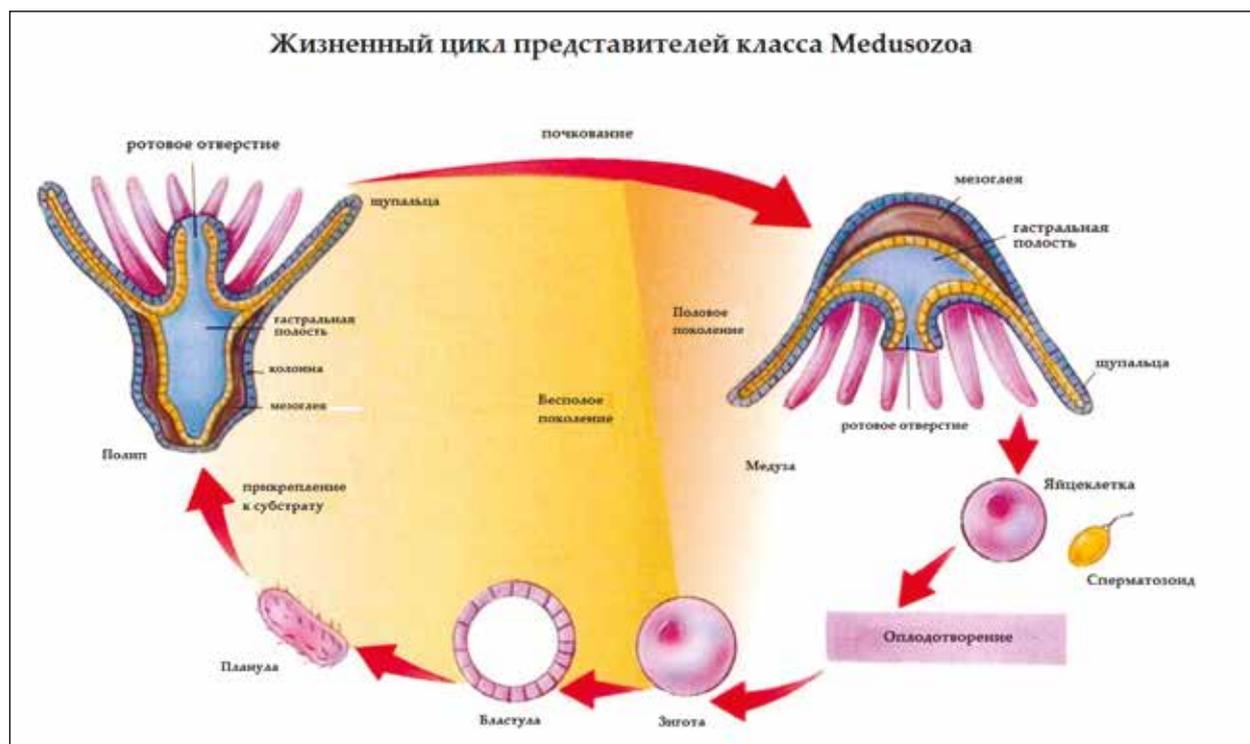


Рисунок 1 – Жизненный цикл представителей класса Medusozoa (Стрекающие начинают свой жизненный цикл с кладок яиц, и уже на этой стадии они защищены от поедания хищниками, поскольку продуцируют весьма опасные для последних токсины. То же самое справедливо и для свободно плавающей планулы, которая не является хищником. По мере созревания полипа состав его яда меняется, эффективные в качестве защиты токсины, дополняются новыми, необходимыми взрослым особям для охоты. Таким образом, состав яда стрекающих меняется на протяжении всего жизненного цикла и оптимизируется, исходя из текущих биотических взаимоотношений организма. Стрекаательные клетки в организме взрослого полипа сосредоточены в щупальцах, акрорагах и аконтиях, служащих животным для охоты, конкуренции за территорию и защиты соответственно)¹

¹ Изображение взято с сайта. <https://slideplayer.com/slide/4442550/> (дата обращения: 20.03.2019).

морских животных. Поэтому выявление морских токсинов и ядов, изучение их физико-химических и биологических свойств, разработка методов их идентификации и противоядий, получение лекарственных средств на их основе в настоящее время весьма актуально для обеспечения биологической безопасности Российской Федерации. Актинии являются продуцентами токсичных веществ, характеризующихся высокой биологической активностью и огромным структурным разнообразием. Цель работы – обобщить современные данные о структуре и функции нейро- и кардиотоксинов актиний и показать перспективы их применения в научной и медицинской практике.

Строение и жизненный цикл стрекающих. Актинии (отряд Actiniaria) являются одними из множества

представителей типа стрекающие (Cnidaria) – большой группы ядовитых и потенциально ядовитых организмов с радиальной симметрией, отдалившейся от ветви билатеральных животных¹ около 600 млн лет назад. Помимо актиний, они включают гидроидных, медузы и кораллы [1–3]. Несмотря на определенные различия в морфологии или в жизненном цикле представителей конкретных классов стрекающих, все они – низкоорганизованные животные, состоящие из двух слоев клеток (эктодерма и энтодерма, разделенные мезоглеей). Большинство классов являются хищниками (хотя некоторые не брезгают и погибшими животными) или сосуществуют с фотосинтезирующими водорослями – эндосимбионтами зооксантеллами. Жизненный

¹ Двусторонне-симметричные или билатеральные (лат. Bilateria) – таксон животных, к которому относятся все двусторонне-симметричные типы. У всех них левая сторона тела зеркальным образом соответствует правой.

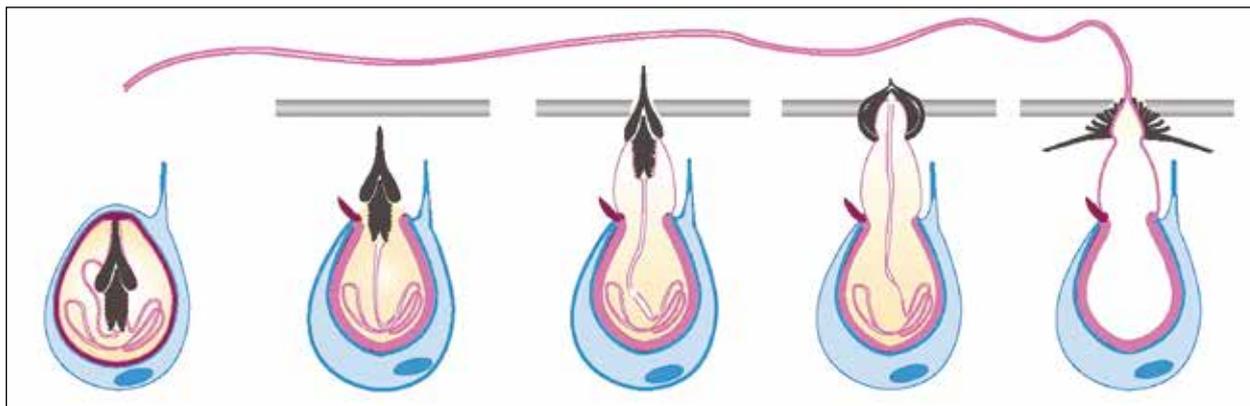


Рисунок 2 – Схематическое изображение стрекательной клетки и механизма работы нематоциста (клетка окрашена в голубой цвет, органелла – в розовый, острие – в темно-серый) [5] (В полости нематоциста содержится ядовитый секрет, состоящий из токсических небелковых соединений и белков/пептидов, обладающих цитолитическим действием и нарушающих целостность клетки жертвы. Токсические соединения, влияя на электрическую активность нейронов и мышечных клеток, вызывают спазм мышц и боль в месте укола. Местное воздействие яда актиний у млекопитающих наиболее часто приводит к локальному отеку, воспалению и гиперемии кожных покровов; развитие системной реакции маловероятно)

цикл стрекательных класса Medusozoa показан на рисунке 1.

Половым поколением² этого цикла является медуза. Половым поколением и конечной стадией жизненного цикла актиний (класс Anthozoa) остается полип [2].

Стрекающие были первыми многоклеточными организмами, у которых появились нервные клетки, объединенные в диффузную нервную систему. Сеть, сформированная нейронами разных типов, иннервирует все тело животного и может иметь участки повышенной плотности нейритов, но еще не подразделяется на центральный и периферический отделы. В связи с этим стрекательные являются объектом исследования процессов нейрогенеза (формирование нового функционирующего нейрона) и эволюции нервной системы [1, 4].

Вряд ли случайностью является то, что развитие у вида нервной системы сопровождается у актиний появлением способности продуцировать нейротоксины. «Прямой связью» между нейротоксичностью актиний и нервной системой, помимо самого определения нейротоксинов как веществ, влияющих на работу нервной системы (НС), является тот факт, что нейропептиды (нейротрансмиттеры), обычно содержащиеся в нейронах, могут «переквалифицироваться» в нейротоксины с соблюдением известного в эволюционной биологии «принципа экономии генов». Переходя в разряд токсинов, они кодируются отдельными

копиями генов, кодирующих нейропептиды. У актиний копии таких генов экспрессируются в стрекательных клетках. Но это характерно не только для нейропептидов, многие белки с иными функциями, например, структурными, сложно отделить от токсинов, исходя из анализа транскриптома.

Билатеральные животные, имеющие общего со стрекательными предка (с точки зрения предпосылок развития нервной системы), далеко не все ядовиты. Учитывая, что и морские бактерии продуцируют нейротоксины, становится ясно, что иметь нервную систему для ядовитых организмов не обязательно. По-видимому, сочетание у стрекательных радиальной симметрии, стрекательных клеток и нервной системы стало результатом естественного отбора в определенных морских экосистемах, «подхватившего» именно это сочетание признаков.

Ядовитый аппарат стрекательных. В один таксон различных стрекательных объединяет наличие специализированных жалящих клеток, содержащих нематоцисты – органеллы, внутри которых заключена свернутая полая нить с ядовитым острием на конце [2, 3]. В ответ на механическое или химическое раздражение острие молниеносно поражает клеточную мембрану организма-мишени, и нить выворачивается, доставляя ядовитое содержимое нематоциста к цели (рисунок 2).

Удар острием нематоцисты – одно из самых быстрых движений, на которое способны представители царства Животные. Процесс

² Половое поколение – стадия в сложном жизненном цикле животного, представленная особями, в организмах которых образуются гаметы (половые клетки).

занимает всего 700 наносекунд (нс), при этом достигается ускорение, позволяющее легкому и тонкому острию создать достаточное для проникновения сквозь мембрану клетки давление (более 7 гигапаскалей, ГПа) [5]. Нематоцисты служат лишь для ядовитого нападения, но представители класса коралловые полипы обладают также клетками, обеспечивающими животным защиту (птихоциты) и прикрепление к субстрату (спироциты) [2]. Таким образом, стреккающие являются древнейшими активно-ядовитыми организмами. Хотя у них не сформировался обособленный ядовитый аппарат (нематоцисты неравномерно распределены по всему телу стреккающих), стрекательные клетки позволяют им столь эффективно охотиться на мелких рыб и беспозвоночных, обороняться от хищников и конкурировать за территорию, что эти животные практически не изменились за 600 млн лет, прошедших с момента их появления.

Роль актиний в морских биоценозах.

Актинии – типичные представители донных биоценозов океанов, способные жить как на глубине свыше 10 км, так и на литорали, успешно справляясь с сопутствующими негативными факторами, такими как резкие колебания солености, уровня растворенного кислорода, температуры и значения pH морской воды [6, 7]. Эти организмы широко распространены в Мировом океане и заселяют морское дно от тропиков до полярного круга. Зоны максимального видового разнообразия актиний располагаются на 30°–40° к югу и северу от экватора [8]. На сегодняшний день описано около 1200 видов актиний. В то время как фауна северных районов Атлантического океана активно исследуется, актинии и их токсические субстанции северо-западной части Тихого океана остаются малоизученными. Особенно это касается видов, обитающих на значительной глубине [6].

Токсические свойства актиний придают им ряд преимуществ и конкурентных стратегий, позволяющих доминировать или возглавлять пищевую цепь в отдельных морских экосистемах. Так, например, они способны вытеснять известковые колониальные кораллы, занимая место ранее погибших рифов и образуя живые коралловые колонии. Кораллы погибают в результате контактного воздействия ядовитых щупалец, в которых концентрируются нематоцисты. Помимо этого, определенные преимущества в биоценозе дают актиниям скорость их размножения и роста, большая устойчивость к фоторадиации и повышению температуры, меньшее число естественных врагов (голожаберные моллюски, морские звезды, черепахи). Актинии способны

быстро восстанавливать свою численность и образовывать плотные скопления [9]. Все эти факторы делают актиний наиболее успешными представителями класса коралловые полипы.

Некоторые виды актиний благодаря своим токсическим свойствам живут в симбиозе с другими морскими животными. Актинии своей яркой окраской предостерегают хищников от нападения и тем самым спасают жизнь животным-симбионтам. Особенно свойственны яркие краски тропическим морским биоценозам. Белый, желтый и красный цвета, характерные для большинства ядовитых животных, распространены и среди актиний. Потеря актинией окраски происходит при гибели зооксантелл, чувствительных к колебаниям освещения, температуры и качества воды. Наиболее известно взаимовыгодное «сотрудничество» актиний и рыб-клоунов (род *Amphiprion*), обнаружен также тесный симбиоз рака-отшельника *Pagurus prideauxi* и актинии *Adamsia palliata*, которые живут исключительно совместно (рисунок 3А). Третьим обитателем раковины может стать многощетинковый червь, очищающий раковину и ее хозяина от паразитов. Молодые особи отшельников стремятся заполучить актинию и иногда «похищают» ее у других раков. Когда рак-отшельник вырастает и меняет свою раковину, он также переносит на нее сожительствующую с ним актинию. Передвигаясь по морскому дну, рак-отшельник расширяет охотничьи угодья актинии и, поедая частички ее добычи, пораженной ядом, приобретает иммунитет. Актиния, в свою очередь, защищает рака-отшельника в случае опасности своими стрекательными клетками [10].

Боксирующие крабы рода *Lybia* помещают актиний *Triactis producta* и *Alicia* sp. на обе свои клешни (рисунок 3Б). Крабы *Lybia leptochelis* приспособились использовать ядовитых актиний как средство для поражения и захвата добычи. Эта стратегия совместного выживания стала обязательной как для самих крабов, так и для актиний рода *Alicia*. Для более эффективной охоты крабы разделяют актинию на две части, получая две генетически идентичные особи. Это уникальный случай, когда бесполое размножение и, следовательно, генетическое разнообразие одного организма зависит от поведенческих особенностей другого [11].

Взаимоотношения актиний и рыб-клоунов стали классическим примером мутуализма – формы симбиоза, при которой партнеры не только приносят пользу, но и становятся необходимыми друг другу для выживания. Благодаря слою слизи, предотвращающей поражение рыб-клоунов стреккающими клетками актиний, они могут прятаться среди ядовитых щупалец, оставаясь в



Рисунок 3 – Примеры симбиоза ядовитых актиний с морскими животными

(А – рак-отшельник *Pagurus prideaux* и актиния *Adamsia palliata*, прикрепленная к раковине и собирающая частички пищи с морского дна. Б – боксирующий краб *Lybia leptochelis*, несущий на своих клешнях две особи актинии *Alicia* sp. [11]. В – Рыба-клоун *Amphiprion percula* среди щупалец актинии *Stichodactyla gigantea*. Для актиний характерна яркая окраска, при этом представители одного вида часто бывают окрашены в разные цвета. Рыбы-клоуны, известные своими симбиотическими отношениями с актиниями, подвергаются быстрой диверсификации морфологических признаков, которые зависят от вида актинии-симбионта. Предполагается, что полосы на теле рыбы изначально служили для маскировки среди щупалец актиний, но симбиоз с более опасными видами актиний вызвал развитие предостерегающей окраски рыб-клоунов [12, 13])¹

¹ Использовались изображения с сайтов <https://www.flickr.com/photos/jim1/42831321475> и <https://www.flickr.com/photos/78765221@N03/6905873848/> (дата обращения: 20.03.2019).

безопасности (рисунок 3В). Подобная стратегия защиты от хищников настолько эффективна, что обеспечила закрепление в популяции такого признака, как высокая продолжительность жизни (до 30 лет). Это значительно больше, чем можно было бы ожидать от рыб, не вовлеченных в симбиотические отношения с актинией [12]. Рыбы-клоуны, в свою очередь, также охраняют актиний от потенциальных агрессоров, удаляют непереваренные остатки пищи и выделяют аммиак, служащий пищей эндосимбионтам актиний – зооксантеллам. Симбиоз с различными видами опасных актиний позволяет нескольким

видам рыб-клоунов мирно сосуществовать в пределах одной экосистемы, занимая разные экологические ниши [13].

Актинии как источник флуоресцентных и хромобелков для молекулярной биологии и микроскопии. Подобно другим представителям типа стрекающие, актинии являются продуцентами флуоресцентных белков. Их они используют для привлечения потенциальных жертв. Мальков рыб и креветок привлекают светящиеся подвижные щупальца, молниеносно жалящие неосторожное животное при прикосновении. Кроме того,

фотосинтезирующие кораллы и актинии, обитающие на мелководье, продуцируют флуоресцирующие белки в качестве антиоксидантов и для защиты от воздействия интенсивного солнечного света.

Флуоресцирующие белки активно используются в научных исследованиях в качестве генетически кодируемых маркеров для наблюдения за активностью промоторов генов, обнаружения белок-белковых взаимодействий, наблюдения за изменением определенных клеточных параметров и т.д. [14, 15]. Наиболее распространены среди животных классов Hydrozoa, Anthozoa и Medusozoa зеленые флуоресцентные белки. Практически все представители класса Anthozoa характеризуются флуоресценцией в этой области спектра. Именно зеленый флуоресцентный белок (GFP – green fluorescent protein) медузы *Aequorea victoria* был впервые использован в качестве флуоресцентной метки [16]. В 2008 г. Осаму Симомура (Osamu Shimomura), Мартин Чалфии (Martin Chalfie) и Роджер Тсиен (Roger Tsien) стали лауреатами Нобелевской премии по химии за получение и разработку различных форм зеленого флуоресцентного белка GFP.

В организмах животных класса коралловые полипы (Anthozoa) впервые были обнаружены флуоресцентные белки с эмиссией в красной области спектра [17]. В настоящий момент на их основе разрабатываются молекулярные инструменты, позволяющие наблюдать за активностью нейронов в условиях *in vitro* и *in vivo* [18]. Кроме того, известны коралловые полипы, продуцирующие желтые и голубые флуоресцентные белки [17, 19], а также GFP-подобные хромобелки, которые практически не флуоресцируют, но имеют яркую окраску и эффективно поглощают видимый свет [20]. Если хромобелки способны переходить во флуоресцирующую форму при облучении светом определенной длины волны и интенсивности, их называют фотоактивируемыми и используют для отслеживания перемещения отдельных клеток, органелл и белков, а также для флуоресцентной микроскопии ультравысокого разрешения [21]. За разработку методов флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения, в том числе с использованием фотоактивируемых белков, Штефан Хелль (Stefan Hell), Уильям Мернер (William Moerner) и Эрик Бетциг (Eric Betzig) в 2014 г. получили Нобелевскую премию по химии.

Клиническая картина при поражении ядом актиний. Токсины актиний влияют на работу основных систем и органов млекопитающих. При *местном поражении* клиническая картина напоминает легкую форму поражения кожи ипритом, но без

скрытого периода. Клиническая картина поражения в результате воздействия ядовитых экстрактов актиний при *парентеральном введении* экспериментальным животным не дает четкой картины, так как отражает следующие патологические проявления в разной степени выраженности: тромбоз и кровоизлияния в тканях сердца и почек, гранулематоз и другие повреждения тканей печени, образование глиальных узелков, изменение поведения животного (потеря баланса, конвульсии, паралич и др.), ассоциированное с нарушением функций нервной системы. Наибольшую опасность для млекопитающих представляют кардио- и нейротоксичность пептидов актиний [22, 23].

Наблюдаемые морфологические изменения тканей печени и почек, вероятно, вызваны не только попытками организма обезвредить и вывести из организма опасные соединения. Из яда актиний *Phyllodiscus semoni* был выделен токсин PsTX-115, обладающий направленным действием на ткань почек. Токсин концентрируется в почках в результате клубочковой фильтрации, что может стать причиной острой почечной недостаточности у пациентов. Исследование нефротоксичности PsTX-115 демонстрирует повреждение клубочкового аппарата почек (гломерулопатия): повреждение эндотелия, образование тромбов, тяжелый тубулярный некроз и т.д. (рисунок 4). Токсин связывается с компонентом системы комплемента C3b. Применение систематического ингибитора системы комплемента эффективно предотвращает серьезные повреждения почек спустя сутки, но не в течение первых 10 минут. Таким образом, система комплемента не является первичным источником повреждений [24].

У людей контакт с актиниями вызывает, главным образом, кожные высыпания и отеки, также возможны головокружение, тошнота или более серьезные повреждения кожных покровов вплоть до некроза. Сообщается об острой реакции на воздействие актиний, принадлежащих к семейству Actinodendronidae (hell's fire anemones) и о менее выраженном негативном эффекте при поражении представителями семейства Aliciidae. Считается, что токсины большинства актиний в тех количествах, что попадают на кожу человека при контакте, не представляют серьезной угрозы его здоровью, если не имеет место *аллергическая реакция*. Результатом развития у пострадавшего анафилактического шока может стать остановка сердца и дыхания [3, 22]. Однако этого нельзя сказать о воздействии очищенных токсических субстанций, попадающих в организм человека парентерально или энтерально. Токсины актиний обладают способностью в низких концентрациях действовать на молекулярные мишени в клетках млекопитающих (ионные

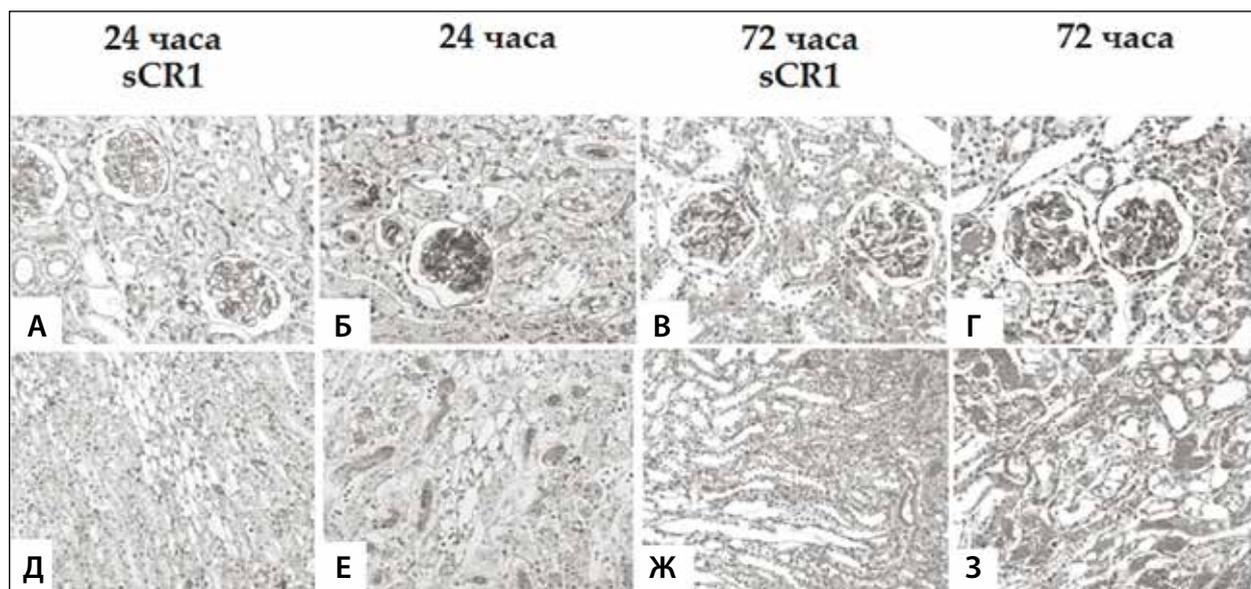


Рисунок 4 – Нефротоксичность, вызванная воздействием яда *Phyllo-discus semoni* на ткани почки крысы (световая микроскопия)

(Б, Г, Е, З – повреждение клубочков и межтубулярной ткани почек спустя 24 и 72 часа после введения яда. А, В, Д, Ж – введение ингибитора системы комплемента sCR1 значительно снижает степень морфологических изменений ткани почек. А, В, Д, Ж – увеличение в 400 раз. Б, Г, Е, З – увеличение в 200 раз) [24]

каналы) благодаря высокой гомологии последних среди всех таксонов – от рыб и членистоногих, с которыми сосуществуют актинии, до высших млекопитающих, включая человека. Такая гомология молекулярных мишеней обусловлена общим эволюционным прошлым этих организмов, когда простые структуры, эффективно выполняющие определенную функцию в органе или ткани (например, ионные каналы в нервной ткани), «подхватываются» естественным отбором в неизменном виде для формирования более сложных биологических структур.

Структурное разнообразие компонентов яда актиний. Как уже упоминалось ранее, стрекательные клетки распределены по всему телу актинии, но наибольшая их концентрация наблюдается в щупальцах, акрорагах и аконтиях³ (рисунок 5) [2]. Актиния использует щупальца для охоты, короткие и закругленные акрораги, локализованные у основания щупалец, предназначены для борьбы с соседними особями за жизненное пространство (рисунок 5А), длинные нитевидные аконтии животное выпускает в случае опасности (рисунок 5Б) [2, 25].

Высоким содержанием токсинов, нарушающих деятельность нервных и мышечных клеток, отличаются щупальца

актинии, использующие эти соединения, чтобы обездвижить и захватить жертву. Актинопорины⁴, напротив, необходимы для внутривидовых взаимодействий и защиты (в том числе от бактерий), поэтому, естественно, они распределены в теле животного иначе, чем токсины. В соответствии с функциями, состав ядовитого секрета актинии варьирует в зависимости от того, из какой части тела актинии он был получен [27]. Все компоненты ядовитого секрета актиний делятся на две большие группы: соединения небелковой природы (пурины, полиэферы, биогенные амины и др.) и белки/пептиды, которые составляют основную массу биологически активных молекул. Свое негативное действие компоненты яда оказывают одним из двух возможных способов: 1) разрушением (лизисом) клетки и ее структур; 2) воздействием на ионные каналы.

Цитолизины и гидролитические ферменты действуют первым способом – они нарушают, соответственно, целостность клеточной мембраны или разрушают необходимые клетке макромолекулы (полисахариды, ДНК и белки) [2, 28]. Механизм развития патологии при внутривенном введении цитолизина актиний остается

³ Акрораги и аконтии – щупальцевидные выросты, служащие для защиты актинии.

⁴ Актинопорины – высокоосновные белки, формирующие в сфингомиелинсодержащих мембранах эукариот катион-селективные тороидальные ионные поры, включающие 4 или 8 мономеров. Они оказывают мощное литическое действие на такие мембраны, благодаря чему получили свое название.

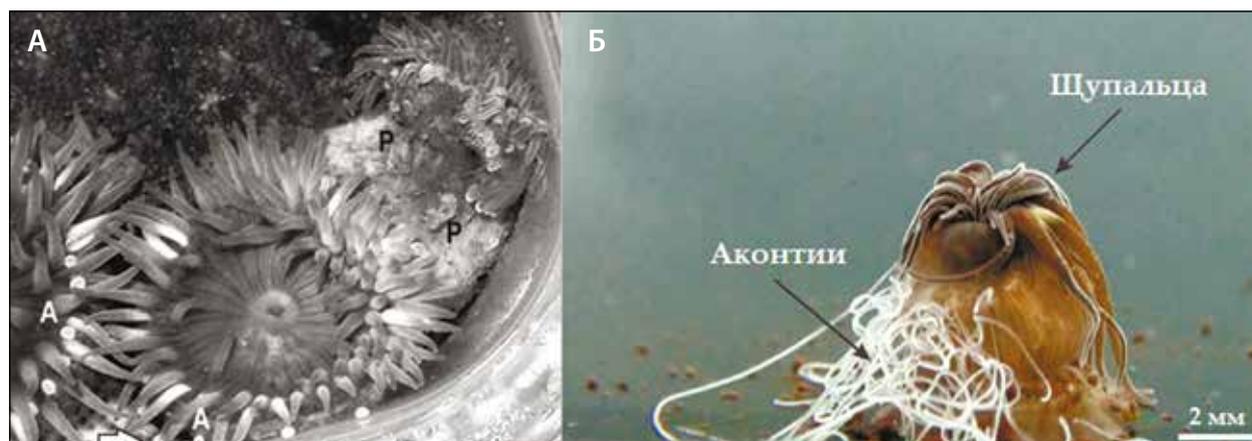


Рисунок 5 – Борьба с соседними особями за жизненное пространство у актиний
(А – внутривидовая агрессия особей *Anthopleura elegantissima*. Актиния в центре использует свои акрораги (показаны стрелкой), что вызывает негативную реакцию крайнего правого полупа, Р [26].
Б – показана одна из стадий высвобождения аконтиев актинии *Ecaiptasia pallida* в ответ на многократную стимуляцию животного [25]. Щупальца, акрораги и аконтии усеяны стрекательными клетками, содержащими металлопротеазы, ингибиторы протеаз, фосфолипазы и другие биологически активные белки/пептиды)

неизвестным. К числу симптомов относятся отек легких, гемолиз или агрегация тромбоцитов, кардиотоксичность.

Модуляторы ионных каналов используют второй способ – специфически связываются с ионными каналами и регулируют их активность, контролируя транспорт ионов сквозь мембрану и электрическую активность клеток. Особенностью актиний является высокое содержание в их яде модуляторов ионных каналов, в то время как медузы и гидры продуцируют в основном гидролитические ферменты и цитолизин

Таблица 1 – Сравнительная токсичность для млекопитающих (мышь) актинопоринов, нейротоксинов и боевых отравляющих веществ

Вещество	LD ₅₀ мкг/кг*	Источник
RpI	145 ^a	[32]
RpII	4200 ^a	
RpIII	53 ^a	
Тетродотоксин	10 ^a	[33]
Эквинатоксин II	35 ^a	[34]
Метридиолизин	320 ^a	
Альфа-гемолизин <i>Staphylococcus aureus</i>	0,04-0,06 ^b	[35]
Синильная кислота	3700 ^c	[36]
Зарин	450 ^a	

* Указан способ введения отравляющих веществ (синильная кислота, зарин), актинопоринов актиний (эквинатоксин и метридиолизин), пороформирующего токсина бактерии *S. aureus*, нейротоксинов актинии *Radianthus paumotensis* (Rp) и тетродотоксина: а – внутривентральное введение, б – внутривенное введение, с – пероральное введение.

[29]. Выраженными симптомами при введении активных модуляторов ионных каналов животным являются спазмы или паралич; кардио- или нейротоксичность может вызвать смерть [30, 31].

Данные в таблице 1 демонстрируют, что хотя токсичность биологически активных пептидов актиний варьирует в широких пределах, она сравнима с токсичностью наиболее известных и опасных представителей природных токсинов, имеющих сходный механизм действия (альфа-гемолизин и тетродотоксин) или боевых отравляющих веществ (ОВ), таких как зарин и синильная кислота. Токсины актиний, как правило, в 10–100 раз более токсичны при внутривенном введении. Отдельные представители нейротоксинов (RpII, см. таблицу 1) характеризуются сравнительно более высокими значениями LD₅₀ для млекопитающих в связи со своей видоспецифичностью [31]. Но эти токсины гораздо опаснее для насекомых и ракообразных, в этом случае наблюдаемая величина LD₅₀ на порядок ниже [32].

Сравнивая яды таких организмов, как пчелы, пауки и актинии, можно отметить, что каждый из них продуцирует определенное число индивидуальных токсинов, принадлежащих структурным группам, характерным для представителей данного таксона, что облегчает установление их источника при расследовании биопреступления. Так, пчелы продуцируют относительно небольшое число гидролитических ферментов и мембранолитических токсинов, которые используют для защиты. Именно их действие вызывает отек и покраснение при укусе [37, 38].

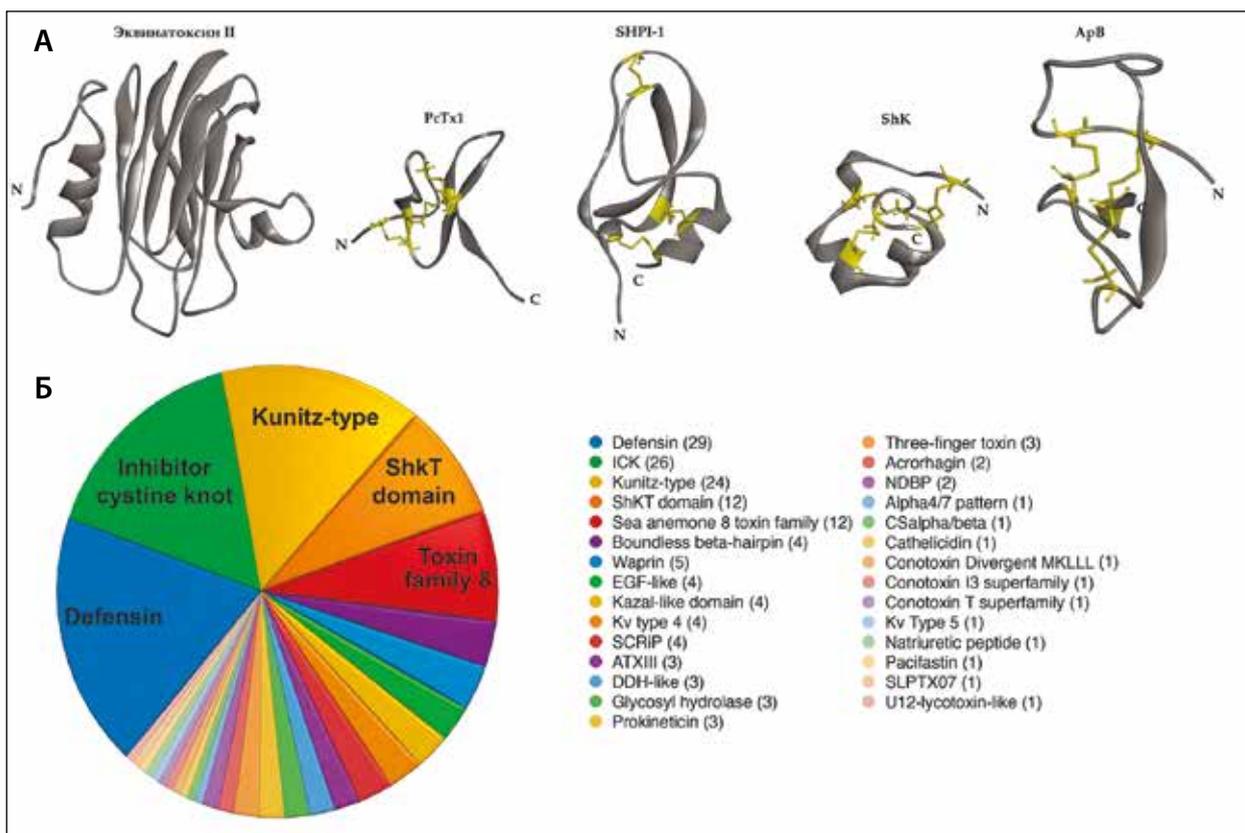


Рисунок 6 – Структурное многообразие токсинов актиний, обеспечивающее их яду широкий спектр поражающей активности и затрудняющее симптоматическое лечение пациентов (А – пространственные структуры основных классов токсинов актиний и токсина паука (PcTx1) представлены в форме ленточной диаграммы. Аминокислотные остатки цистеина, формирующие дисульфидные мостики, изображены в стержневом представлении и окрашены в желтый цвет. Обозначены N- и C-концы молекул токсинов. Молекула актинопорина (эквинатоксин II) состоит из 12 β -тяжей и двух α -спиралей, расположенных симметрично с двух сторон. «Ингибиторный цистиновый узел» (PcTx1) представляет собой два β -тяжа, соединенных гибкой β -шпилькой, он стабилизирован тремя дисульфидными мостиками. 3D-структура пептидов Кунитц-типа (SHPI-1) включает в себя короткую 310-спираль на N-конце, β -шпильку между двумя тяжами и α -спираль на C-конце. Основные элементы фолда ShkT (ShK) – это две короткие α -спирали и три β -поворота в N- и C-концевых областях молекулы. Нейротоксины (ApB), принадлежащие к дефензинам, формируют β -лист, состоящий из четырех антипараллельных β -тяжей. Особенностью их структуры является гибкая и протяженная петля. Визуализация выполнена с помощью программы Discovery Studio 4.0. Идентификационные номера Protein Data Bank – базы данных пространственных структур белковых молекул – 1kd6, 2kpi, 3m7q, 4lfs, 1arf соответственно. Б – семейства токсинов, идентифицированных в транскриптом актинии *Stichodactyla haddoni* с помощью алгоритма поиска гомологичных аминокислотных последовательностей BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) в базе данных UniProt. Круговая диаграмма демонстрирует вклад каждого семейства в протеом яда актинии. В скобках указано число пептидов актинии в каждом семействе [43])

Пауки, напротив, считаются рекордсменами среди ядовитых животных по количеству индивидуальных токсинов. Их яды включают десятки различных пептидов-модуляторов ионных каналов. Высоко гомологичные пептиды образуют так называемые комбинаторные библиотеки, которые необходимы паукам для успешного поражения широкого круга мишеней с одной стороны и позволяют избежать возможной резистентности жертвы (например,

в результате мутации ионного канала) – с другой. Но при этом подавляющее большинство токсинов пауков имеет пространственную структуру, известную как «ингибиторный цистиновый узел» или ICK (inhibitor cystine knot) (рисунок 6А) [39, 40].

Ядовитый секрет актиний вне самих актиний сложно идентифицировать по принадлежности тому или иному животному, так как он характеризуется наличием максимального числа различных

структурных классов и пространственных структур пептидов среди изученных наземных и морских организмов (пчелы, пауки, скорпионы, змеи, моллюски конусы и др.) [40]. Представители некоторых структурных классов пептидов актиний, таких как ингибиторы сериновых протеиназ Кунитц-типа и пороформирующие токсины (актинопорины) (рисунок 6А), также формируют комбинаторные библиотеки [41, 42]. Рисунок 6Б демонстрирует структурное разнообразие пептидов актинии *Stichodactyla haddoni* (по данным комплексного транскриптомного/протеомного исследования) [43].

Наиболее представленными и хорошо изученными классами пептидов актиний являются компактные и стабильные молекулы, содержащие три дисульфидные связи. К ним относятся: *нейротоксины-активаторы потенциал-зависимых натриевых Na_v каналов* (входят в группу дефензинов, см. рисунок 6А) [31, 44]; *токсины структурного типа I*, ингибирующие потенциал-зависимые калиевые K_v каналы (ShkT-домен токсинов-модуляторов K_v , см. рисунок 6А) [45]; *ингибиторы сериновых протеиназ Кунитц-типа* (структурный тип II), которые, помимо ферментов, ингибируют активность ванилоидного рецептора TRPV1 (transient receptor potential vanilloid channel) и различных подтипов K_v каналов [45].

Нейротоксины актиний. Представителей трех вышеперечисленных структурных классов формально можно отнести к нейротоксинам, поскольку эти пептиды оказывают влияние на функционирование ионных каналов (модулируют), интенсивно экспрессирующихся в клетках нервной системы животных. Тем не менее, не все они одинаково опасны для организма-мишени. Несмотря на то, что ингибирование K_v каналов нейронов, обеспечивающих реполяризацию мембраны, повышает возбудимость нейронов, в литературе отсутствуют данные о высокой токсичности ингибиторов K_v каналов [45]. Наиболее опасными для организма млекопитающих считаются токсины-модуляторы Na_v каналов. Именно активаторы Na_v обладают выраженной нейро- и кардиотоксичностью, свойственной ядовитому секрету актиний (антоплеурины из актинии *Anthopleura xanthogrammica* и токсины АТХ из *Anemonia sulcata*) [31,30].

Потенциал-зависимые натриевые каналы – главная мишень нейротоксинов. Потенциал-зависимые натриевые каналы представляют собой белки, формирующие в цитоплазматических мембранах поры; они, как следует из названия каналов, проницаемы только для

ионов натрия и открываются в ответ на деполяризацию клеточных мембран. Этот процесс является первой фазой формирования потенциала действия, который позволяет электровозбудимым клеткам обмениваться друг с другом электрическими импульсами [46]. Na_v каналы играют исключительную роль в обеспечении согласованной работы такой сложноорганизованной системы, как многоклеточный организм. В связи с этим за подавляющим большинством токсинов хищных ядовитых организмов естественный отбор «закрепил» эти каналы своей типовой мишенью [44]. Модификация цикла работы Na_v наносит максимальный ущерб организму, вызывая паралич и смерть жертвы. Медицинское применение токсины-модуляторы Na_v нашли в качестве местных анальгетиков или пестицидов, минимизирующих урон для окружающей среды.

Потенциал-зависимые каналы имеют сложное строение и механизмы функционирования. Пороформирующие субъединицы Na_v каналов эукариот представляют собой белковую цепь, включающую от 1800 до 2000 аминокислотных остатков. Она пронизывает клеточную мембрану в общей сложности 24 раза и формирует четыре домена, каждый из которых состоит из шести трансмембранных спиралей (рисунки 7А и 7Б). Четыре потенциал-чувствительных домена меняют свою конформацию в ответ на изменение мембранного потенциала и регулируют открытие/закрытие поры [46].

Показано, что существует два основных способа регулирования токов через Na_v каналы: механическое блокирование поры или воздействие на потенциал-чувствительный домен, управляющий порой [44, 49]. Установлено, что небольшие молекулы лекарственных препаратов, используемых в качестве обезболивающих, антидепрессантов, антиконвульсантов или антиаритмических средств, блокируют пору со стороны цитоплазмы (лидокаин, карбамазепин, мексилетин) [50]. Один из самых известных и самых опасных природных токсинов, тетродотоксин⁵ [33], блокирует пору с внеклеточной стороны. Принцип его действия часто сравнивают с пробкой, закупоривающей горлышко бутылки [51]. Аналогичным образом действуют нейротоксины белковой природы – μ -токсины моллюсков конусов: GIIIA, TIIIA, SIIIA, KIIIA, MIIIA (см. рисунок 7В).

Всего на сегодняшний день идентифицировано 9 сайтов связывания токсинов-модуляторов Na_v каналов из организмов скорпионов, ос, пауков, змей, моллюсков конусов,

⁵ Тетродотоксин – мощнейший природный токсин небелковой природы, оказывающий нейропаралитическое действие, блокируя проведение сигнала потенциал-зависимыми натриевыми каналами (см. таблицу 1). Токсин является причиной отравления и смерти людей при употреблении иглобрюха (фугу).

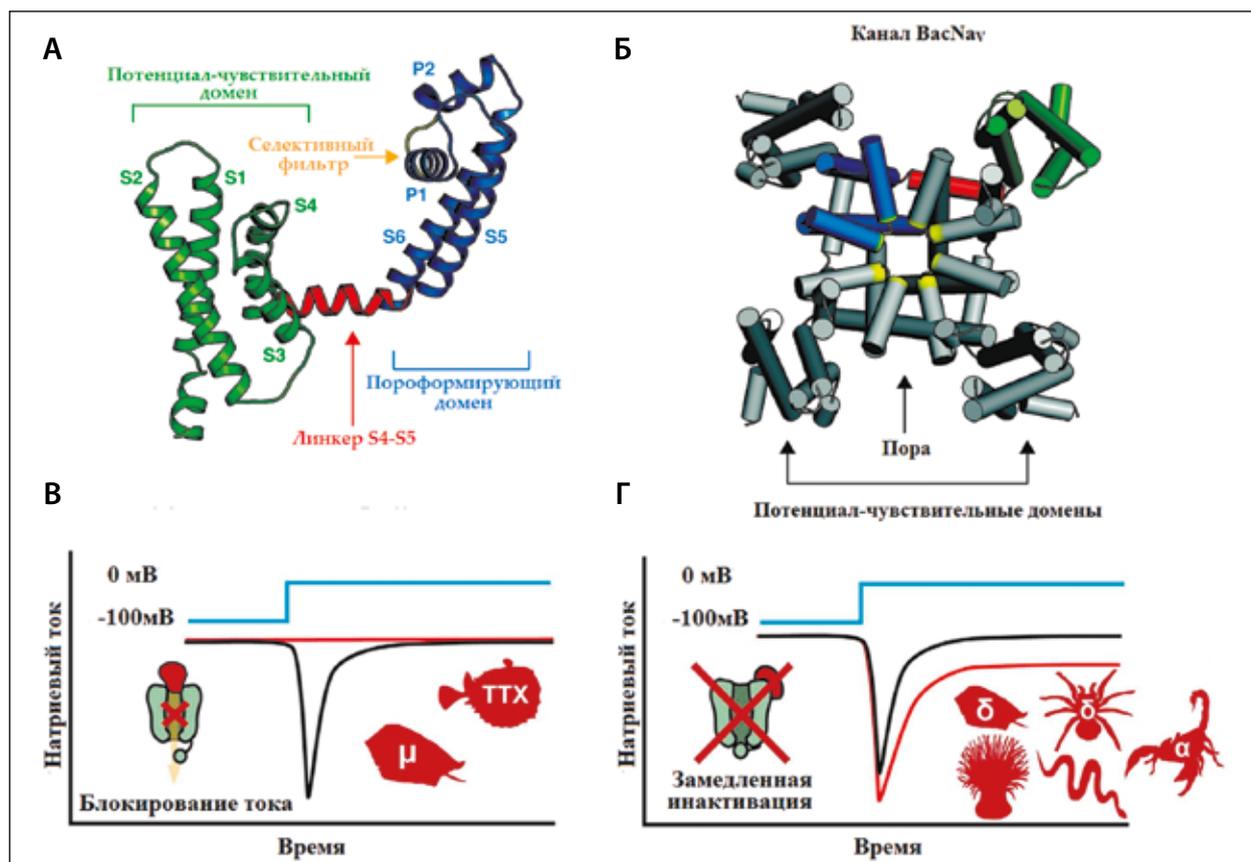


Рисунок 7 – Действие нейротоксинов на потенциал-зависимые натриевые каналы нервных клеток (А – субъединица канала $Na_v\alpha$ (PDB 3RVZ); участки цепи окрашены в соответствии с выполняемыми функциями. Б – топология прокариотического гомотетрамерного потенциал-зависимого натриевого канала, $Na_v NaCN$, [47]. Вид с внеклеточной стороны. В и Г – схематическое представление эффекта, который токсины оказывают на биофизические свойства Na_v каналов. В – тетродотоксин и μ -токсины механически блокируют пору канала. Г – α - и δ -токсины замедляют быструю инактивацию. Записи тока иллюстрируют эффект α -токсина скорпиона OD1 [48])

актиний, даже бактерий и динофитовых водорослей [44, 48]. Токсины этих организмов также принадлежат разным структурным классам, каждый имеет уникальный механизм действия и фармакологический профиль (специфичность в отношении определенных подтипов Na_v каналов) [49].

Как упоминалось ранее, Na_v каналы – необходимый элемент мембраны электровозбудимых клеток. В организме млекопитающих существует девять подтипов Na_v каналов ($Na_v1.1$ – $Na_v1.9$). Для центральной нервной системы (ЦНС) характерна экспрессия $Na_v1.1$ – $Na_v1.3$ и $Na_v1.6$ каналов, клетки периферической нервной системы содержат $Na_v1.7$ –

$Na_v1.9$ каналы, а нормальную работу скелетных мышц и тканей сердца обеспечивают $Na_v1.4$ и $Na_v1.5$ каналы соответственно [48, 52, 53]. Особенно опасным считается воздействие токсинов на токи каналов мускулатуры, сердца и ЦНС. Это прямое противопоказание для использования токсина в медицинских целях, поскольку неосторожное вмешательство может привести к параличу, аритмии, остановке дыхания и пр. [44]. Исключением является лечение *каналопатий* – заболеваний, возникших в результате мутаций или изменения уровня экспрессии канала, повлекших за собой изменение электрической активности, которое корректируется избирательным действием токсинов⁶ [45].

⁶ В отличие от многочисленных нарушений «механики» миокарда (растяжение волокон, сужение просвета сосудов, аномальное сообщение между внутренними структурами), каналопатии обусловлены нарушениями электрической активности клеток. Отсюда другое название каналопатий – электрические заболевания миокарда. К ним относятся синдромы удлиненного и укороченного QT-интервала (увеличением длительности периода реполяризации желудочков сердца), синдромы Бругада и Ленегра (пароксизмы полиморфной желудочковой тахикардии, часто рецидивирующие), катехоламинэргическая полиморфная желудочковая тахикардия и др. Клинически каналопатии проявляются весьма серьезной симптоматикой по типу тахиаритмий,

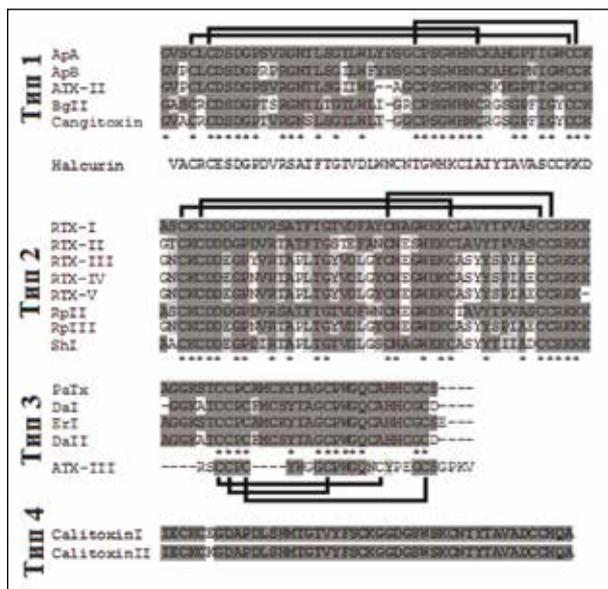


Рисунок 8 – Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей нейротоксинов актиний (на темно-сером фоне показаны идентичные а.о., на светло-сером – подобные, звездочками обозначены высоко консервативные а.о., сверху/снизу – схема расположения дисульфидных мостиков)

Современная медицина нуждается главным образом в селективных ингибиторах подтипов $\text{Na}_v1.7$ – $\text{Na}_v1.9$ для прерывания болевого сигнала на этапе его формирования (в периферических ноцицепторах⁷) и передачи в ЦНС [52, 55].

Механизм действия нейротоксинов актиний. Установлено, что при взаимодействии с Na_v каналом токсины актиний связываются с так называемым сайтом 3, который локализован в области внеклеточных линкеров, соединяющих третью и четвертую трансмембранные спирали, входящие в состав потенциал-чувствительного домена IV (рисунок 7А). С этим сайтом также связываются α -токсины скорпионов, токсины змей, δ -токсины пауков и моллюсков конусов (рисунок 7Г). Эти пептиды имеют разную структуру, но оказывают аналогичный эффект на натриевые токи [48]. Как видно на рисунке 7Г, связывание молекулы токсина с потенциал-чувствительным доменом дает возможность ионам натрия проходить сквозь пору в течение более длительного промежутка времени. Следовательно, все упомянутые токсины являются активаторами Na_v каналов и замедляют кинетику

инактивации каналов электровозбудимых мембран, что приводит к увеличению длительности потенциала действия. В результате может возникнуть стойкая деполяризация мембраны, и проведение возбуждения по нервным и мышечным волокнам блокируется [44].

Обычно натриевый ток течет сквозь пору всего 1–2 миллисекунды (мс). Сразу после завершения активации пору эукариотических Na_v каналов со стороны цитоплазмы закрывает участок цепи, соединяющий третий и четвертый домены (быстрая инактивация). Затем сужается сама пора (медленная инактивация) и потенциал-чувствительные домены возвращаются в исходное конформационное состояние, что делает канал вновь готовым к работе [46, 48]. Модель действия токсинов, связывающихся с сайтом 3, предполагает, что образование комплекса токсин-канал препятствует конформационным изменениям потенциал-чувствительного домена IV, которые обычно происходят под действием электрического поля и дают начало процессу быстрой инактивации. Канал фиксируется в состоянии, при котором уже произошли все процессы, необходимые для открытия поры, а вот движение, предшествующее закрытию канала, становится невозможным [31, 44, 48].

Классификация нейротоксинов актиний. На сегодняшний день идентифицировано более пятидесяти токсинов-модуляторов Na_v каналов. Именно они стали первыми пептидами, выделенными из ядов актиний сначала в качестве основных компонентов токсичных фракций, а позднее – индивидуальных соединений, аминокислотные последовательности которых удалось установить [2, 56].

Нейротоксины актиний объединяются в одну группу благодаря своей способности регулировать работу каналов, но внутри группы их классифицируют, исходя из гомологии аминокислотных последовательностей. Выделяют четыре структурных типа нейротоксинов актиний [48].

Токсины типов 1 и 2 состоят из 46–49 а.о. и содержат шесть высоко консервативных остатков цистеина, формирующих три дисульфидные связи. Считается, что эти два типа токсинов имеют общего предшественника [57]. Подобие аминокислотных последовательностей токсинов 1 и 2 типов достигает 30 %, но в пределах одного типа гомология существенно выше (более 60 %). Интересно, что актинии семейства Actiniidae

приступов головокружений, резкой и стойкой утраты сознания, которая продолжается не более 1 мин (синкопальное состояние). Большинство случаев так называемой внезапной остановки сердца (ранее совершенно необъяснимых) обусловлено именно нарушениями электролитного баланса вследствие той или иной калопатии.

⁷ Ноцицепторы (болевы рецепторы) – локализованы в периферической нервной системе, представляют собой чувствительные нейроны, порождающие болевые ощущения. Они отличаются высоким порогом адекватных стимулов, т.е. реагируют только на раздражитель, потенциально способный повредить ткани.

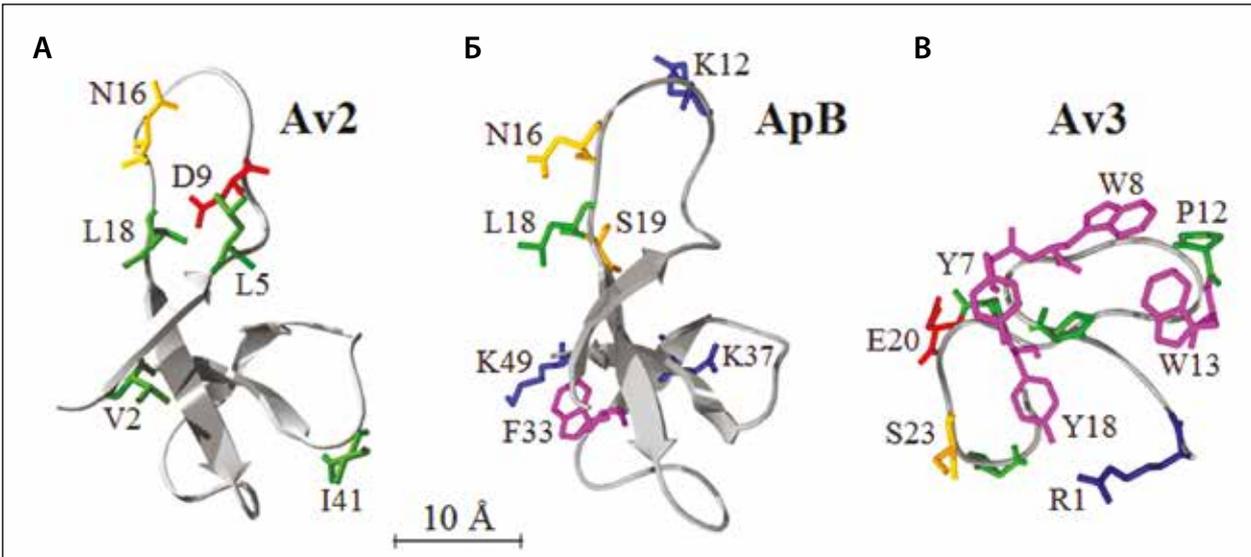


Рисунок 9 – Пространственная структура молекул токсинов актиний [64]

(сравнение функционально-важных аминокислотных остатков на поверхности молекул токсинов актиний, связывающихся с сайтом $3 Na_v$ каналов. 3-D модели токсинов Av2 (ATX-II), ApV (антоплеурин В) и Av3 (ATX-III), принадлежащих 1, 2 и 3 структурному типу соответственно. Боковые цепи остатков изображены в стержневом представлении и окрашены в соответствии с природой радикала: розовый (ароматические), зеленый (алифатические), оранжевый (полярные), голубой (положительно заряженные) и красный (отрицательно заряженные))

содержат только токсины структурного типа 1, тогда как у видов, представителей семейства Stichodactylidae, обнаружены токсины обоих типов [58]. Первичная структура нейротоксинов типов 1 и 2 уникальна, она не имеет аналогов среди токсинов других животных (в отличие от Кунитц-фолда или «цистинового узла») и может быть использована в качестве «зацепки» при расследовании биопреступления.

Структурный тип 3 включает пять коротких пептидов, состоящих из 27–32 аминокислотных остатков (а.о.). Первичные структуры четырех токсинов имеют общую схему локализации четырех дисульфидных мостиков. К этому типу также относят пептид АТХ-III из *A. sulcata* [59], однако он содержит только три дисульфидных мостика и не имеет общих структурных мотивов с другими токсинами (рисунок 8, рисунок 9В) [58].

Четвертая группа представлена двумя токсинами из актинии *Calliactis parasitica*. Калитоксины I и II (46 а.о.) [60] сравнимы с токсинами типов 1 и 2 по длине аминокислотной цепи и топологии расположения дисульфидных связей, но аминокислотные последовательности токсинов значительно отличаются (рисунок 8). Две последние группы, по-видимому, менее представлены в составе ядов актиний по сравнению с токсинами типов 1 и 2.

К настоящему времени наиболее исследованы представители нейротоксинов структурного типа 1. Их пространственная

структура представляет собой скрученный β -лист, состоящий из четырех β -тяжей; α -спирали полностью отсутствуют (см. рисунки 9А и 9Б) [61, 62]. В составе всех токсинов обнаружена гибкая и протяженная петля, названная «аргининовой петлей» (а.о. 8–17) – фрагмент молекулы, имеющий решающее значение для связывания токсина с Na_v каналом и составляющий около 25 % аминокислотной последовательности (см. рисунки 9А и 9Б). Не известно, действительно ли данный участок цепи является неупорядоченным, или, связываясь с каналом, он приобретает определенную конформацию. В таком случае гибкость петли обуславливает способность токсинов проявлять достаточную аффинность к целому ряду Na_v каналов [63].

Было проведено исследование важности конкретных аминокислотных остатков (преимущественно ароматических, заряженных и остатков глицина, обеспечивающих гибкость цепи) для активности антоплеуринов А и В из *A. xanthogrammica*, а также токсина АТХ-II из *A. sulcata* [58, 60, 61]. Анализ активности мутантных токсинов продемонстрировал, с одной стороны, единство аминокислотных остатков, обеспечивающих взаимодействие токсинов с Na_v каналами млекопитающих и насекомых, а с другой стороны – выявил наличие некоторых отличий молекулярных поверхностей антоплеурина В и АТХ-II, обеспечивающих сохранение активности

(рисунки 9А, 9Б). Отмечают, что направление дипольного момента молекулы, в частности нейротоксина, оказывает значительное влияние на ее ориентацию в комплексе с каналом, и этот факт может объяснить незначительную разницу (около 20 %) между функционально-значимыми остатками двух гомологичных токсинов [65].

Кардиотоксины актиний. В силу особенностей первичной структуры нейротоксинов актиний (точечные аминокислотные замены, рисунок 8), некоторые из них специфичны к одному из подтипов натриевых каналов, $Na_v1.5$, который экспрессируется в тканях сердца [30, 31]. Таким образом, именно специфичность взаимодействия с одним или несколькими подтипами натриевых каналов, характерных для тканей сердца, нервной или мышечной систем, будет определять биологическую активность конкретного токсина (кардио-, нейротоксичность или способность вызывать мышечные спазмы и паралич). Часть токсинов актиний представляет опасность главным образом для насекомых и ракообразных, а не для млекопитающих (видоспецифичность) [31, 32].

Первым охарактеризованным кардиотоксином актиний стал антоплеурин А, который оказался в 50 раз более активным в отношении Na_v каналов сердца по сравнению с каналами нервной системы. К числу кардиотоксинов, действующих, в основном, на $Na_v1.5$, относятся также токсин АТХ-II и антоплеурин В. Установлено, что за специфичность взаимодействия токсинов с различными подтипами Na_v отвечают положительно заряженные остатки токсинов (Arg12 и Lys49, см. рисунок 9Б). Особенностью кардиотоксинов актиний является прочное связывание с каналом (токсины медленно связываются и диссоциируют). Показано, что воздействие кардиотоксинов актиний продлевает потенциал действия. Это приводит к перевозбуждению мембран и блокированию передачи сигналов между клетками [44].

Идентификация токсинов актиний в образцах, диагностика и лечение поражений. Современная биохимия позволяет выделить индивидуальные токсины актиний из сложной смеси, используя многоступенчатую жидкостную хроматографию. На начальных этапах исследования экстрактов актиний считалась приемлемой идентификация отдельных токсинов в составе смесей на основании точной молекулярной массы и частичной аминокислотной последовательности и их сравнения с уже имеющимися данными. В настоящее время, зная о возможности присутствия в составе экстракта десятков токсинов, различающихся между собой точечными аминокислотными заменами, достоверным способом иден-

тификации является определение полной аминокислотной последовательности методами классической структурной химии белка (секвенирование по методу Эдмана) или более современным методом tandem mass spectrometry (анализ фрагментов молекулы токсина для установления его структуры) [66]. Эти методы могут быть использованы не только для изучения токсинов актиний, но и в криминалистике – для установления происхождения и природы яда в случае расследования биопреступления, совершенного с помощью яда актиний.

При диагностике кожных поражений, вызванных токсинами актиний, прежде всего нужно учитывать анамнез пораженного, т.е. наличие условий для контакта с этими животными. Лечение симптоматическое, специфических средств для оказания медицинской помощи нет. К тому же идентификация конкретного вида актиний, оказавшей поражающее действие на человека, также обычно не проводится. Это связано со сложностью состава ядовитого секрета актиний и относительно небольшой группой риска (главным образом ныряльщики и гидробиологи), в целом благоприятным прогнозом отравления для пациентов, подвергшихся атаке актиний через кожные покровы. Если ожоги все же были получены, то степень опасности в конкретном случае будет зависеть от вида животного, длительности и площади контакта, правильно оказанной первой медицинской помощи. Важно избежать высвобождения дополнительной порции токсинов из оставшихся на коже стрекательных клеток под воздействием пресной воды. Риск развития аллергии повышает повторный контакт с актинией. Вероятно, по этой причине для специалистов, работающих с актиниями, характерны симптомы крапивницы. Не рекомендовано профилактическое применение антибиотиков для предупреждения инфекции. Антигистаминные препараты и стероиды, использующиеся для лечения контактного дерматита, также применяются достаточно редко и под контролем врача, поскольку сложный состав ядов актиний делает эти препараты менее эффективными в данном случае. Анальгетики применяются для купирования болевых симптомов, исходя из состояния пациента.

Уникальная способность токсинов актиний в низких концентрациях действовать на молекулярные мишени электровозбудимых клеток млекопитающих, блокируя ионные каналы, стала возможной благодаря высокой гомологии последних во всех таксонах, от рыб

и членистоногих, с которыми сосуществуют актинии в своих экосистемах, до высших млекопитающих, включая человека. При этом ядовитый секрет актиний характеризуется наличием максимального количества пептидов различных структурных классов и пространственных структур среди изученных наземных и морских организмов (пчелы, пауки, скорпионы, змеи, моллюски конусы и др.), что затрудняет его идентификацию и дифференциацию от ядов животных других таксонов. По токсическому действию биологически активные пептиды актиний в основном можно отнести к нейротоксинам, поскольку они оказывают влияние на функционирование натриевых каналов в клетках нервной системы животных. Кардиотоксическое действие секрета актиний обусловлено специфичностью взаимодействия отдельных

входящих в его состав нейротоксинов с одним или несколькими подтипами натриевых каналов мышечных клеток, характерных для тканей сердца. Несмотря на то, что первыми описанными нейро- и кардиотоксинами актиний стали активаторы Na_v каналов, детали механизма их действия и архитектура комплекса с Na_v до сих пор остаются неизвестными. Однако дальнейшее изучение механизмов взаимодействия нейротоксинов актиний с ионными каналами в клетках нервной и мышечной системы способно привести к созданию препаратов для лечения *каналопатий* и *антидотов* широкого спектра действия, блокирующих токсины, воздействующие на натриевые каналы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00631.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Rentzsch F., Layden M., Manuel M. The cellular and molecular basis of cnidarian neurogenesis // Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol. 2017. V. 6, № 1. P. e257.
2. Frazão B., Vasconcelos V., Antunes A. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: An overview // Mar. Drugs. 2012. V. 10, № 12. P. 1812–1851.
3. Prentis P.J., Pavasovic A., Norton R.S. Sea anemones: Quiet achievers in the field of peptide toxins // Toxins (Basel). 2018. V. 10, № 1.
4. Busengdal H., Rentzsch F. Unipotent progenitors contribute to the generation of sensory cell types in the nervous system of the cnidarian *Nematostella vectensis* // Dev. Biol. 2017. V. 431, № 1. P. 59–68.
5. Nüchter T., Benoit M., Engel U., et al. Nanosecond-scale kinetics of nematocyst discharge // Curr. Biol. 2006. V. 16, № 9. P. R316–R318.
6. Eash-loucks W.E., Fautin D.G. Taxonomy and distribution of sea anemones (Cnidaria: Actiniaria and Corallimorpharia) from deep water of the northeastern Pacific // Zootaxa. 2012. V. 3375, № 1. P. 1.
7. Amado E.M., Vidolin D., Freire C.A., et al. Distinct patterns of water and osmolyte control between intertidal (*Bunodosoma caissarum*) and subtidal (*Anemonia sargassensis*) sea anemones // Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol. 2011. V. 158, № 4. P. 542–551.
8. Fautin D.G., Malarky L., Soberón J. Latitudinal diversity of sea anemones (Cnidaria: Actiniaria) // Biol. Bull. 2013. V. 224, № 2. P. 89–98.
9. Ткаченко К.С. Конкуренционное вытеснение массовых видов мадрепоровых кораллов одиночной актинией *Anemonia maritima* (Carlgren) на коралловых рифах Центрального Вьетнама // Известия самарского научного центра РАН. 2015. V. 17, № 4. P. 956–961.
10. Ross D.M. The symbiosis between the «cloak anemone» *Adamsia carciniopados* (Otto) (Anthozoa-Actiniaria) and *Pagurus prideauxi* Leach (Decapoda-Anomura) // Bolletino di Zool. 1984. V. 51, № 3–4. P. 413–421.
11. Schnytzer Y., Gimán Y., Karplus I., et al. Boxer crabs induce asexual reproduction of their associated sea anemones by splitting and intraspecific theft // PeerJ. 2017. V. 5. P. e2954.
12. Buston P.M., García M.B. An extraordinary life span estimate for the clown anemonefish *Amphiprion percula* // J. Fish Biol. 2007. V. 70, № 6. P. 1710–1719.
13. Litsios G., Sims C.A., Wüest R.O., et al. Mutualism with sea anemones triggered the adaptive radiation of clownfishes // BMC Evol. Biol. 2012. V. 12. P. 212.
14. Mishin A.S., Belousov V.V., Solntsev K.M., et al. Novel uses of fluorescent proteins // Curr. Opin. Chem. Biol. 2015. V. 27. P. 1–9.
15. Hutter H. Fluorescent protein methods: Strategies and applications // Methods in cell biology. 2012. V. 107. P. 67–92.
16. Chalfie M., Tu Y., Euskirchen G., et al. Green fluorescent protein as a marker for gene expression // Science. 1994. V. 263, № 5148. P. 802–805.
17. Chang H.-Y., Ko T.P., Chang Y.C., et al. Crystal structure of the blue fluorescent protein with a Leu-Leu-Gly tri-

peptide chromophore derived from the purple chromoprotein of *Stichodactyla haddoni* // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V. 130. P. 675–684.

18. Shen Y., Dana H., Abdelfattah A.S., et al. A genetically encoded Ca²⁺ indicator based on circularly permuted sea anemone red fluorescent protein eqFP578 // BMC Biol. 2018. V. 16, № 1. P. 9.

19. Shaner N.C., Campbell R.E., Steinbach P.A., et al. Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. red fluorescent protein // Nat. Biotechnol. 2004. V. 22, № 12. P. 1567–1572.

20. Lukyanov K.A., Fradkov A.F., Gurskaya N.G., et al. Natural animal coloration can be determined by a nonfluorescent green fluorescent protein homolog // J. Biol. Chem. 2000. V. 275, № 34. P. 25879–25882.

21. Stiel A.C., Stiel A.C., Andresen M., et al. Generation of monomeric reversibly switchable red fluorescent proteins for far-field fluorescence nanoscopy // Biophys. J. 2008. V. 95, № 6. P. 2989–2997.

22. Mizuno M. Envenomation by cnidarians and renal injuries nephrotoxic effects of venoms from sea anemones from Japan. Springer, Dordrecht, 2017. P. 1–13.

23. Ravindran V.S., Kannan L., Venkateshvaran K. Biological activity of sea anemone proteins: I. Toxicity and histopathology // Indian J. Exp. Biol. 2010. V. 48, № 12. P. 1225–1232.

24. Mizuno M., Nozaki M., Morine N., et al. A protein toxin from the sea anemone *Phyllo-discus semoni* targets the kidney and causes a severe renal injury with predominant glomerular endothelial damage // Am. J. Pathol. 2007. V. 171, № 2. P. 402–414.

25. Lam J., Cheng Y.W., Chen W.U., et al. A detailed observation of the ejection and retraction of defense tissue acontia in sea anemone (*Exaiptasia pallida*) // PeerJ. 2017. V. 5. P. e2996.

26. Macrander J., Brugler M.R., Daly M. A RNA-seq approach to identify putative toxins from acrorhagi in aggressive and non-aggressive *Anthopleura elegantissima* polyps // BMC Genomics. 2015. V. 16, № 1. P. 221.

27. Macrander J., Broe M., Daly M. Tissue-specific venom composition and differential gene expression in sea anemones // Genome Biol. Evol. 2016. V. 8, № 8. P. 2358–2375.

28. Klyshko E.V., Il'ina A.P., Monastyrnaya M.M., et al. Biologically active polypeptides and hydrolytic enzymes in sea anemones of northern temperate waters // Russ. J. Mar. Biol. 2003. V. 29, № 3. P. 161–166.

29. Rachamim T., Morgenstern D., Aharonovich D., et al. The dynamically evolving nematocyst content of an Anthozoan, a Scyphozoan, and a Hydrozoan // Mol. Biol. Evol. 2015. V. 32, № 3. P. 740–753.

30. Hanck D.A., Sheets M.F. Site-3 toxins and cardiac sodium channels // Toxicon. 2007. V. 49, № 2. P. 181–193.

31. Wanke E., Zaharenko A.J., Redaelli E., et al. Actions of sea anemone type 1 neurotoxins on voltage-gated sodium channel isoforms // Toxicon. 2009. V. 54, № 8. P. 1102–1111.

32. Schweitz H., Bidard J.N., Frelin C., et al. Purification, sequence, and pharmacological properties of sea anemone toxins from *Radianthus paumotensis*. A new class of sea

anemone toxins acting on the sodium channel // Biochemistry. 1985. V. 24, № 14. P. 3554–3561.

33. Bane V., Lehane M., Dikshit M., et al. Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection // Toxins (Basel). 2014. V. 6, № 2. P. 693–755.

34. Anderluh G., Macek P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) // Toxicon. 2002. V. 40, № 2. P. 111–124.

35. Gill D.M. Bacterial toxins: a table of lethal amounts // Microbiol. Rev. 1982. V. 46, № 1. P. 86–94.

36. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. Воениздат, 1990. 271 с.

37. Danneels E.L., Van Vaerenbergh M., Debyser G., et al. Honeybee venom proteome profile of queens and winter bees as determined by a mass spectrometric approach // Toxins (Basel). 2015. V. 7, № 11. P. 4468–4483.

38. Barkan N.P., Bayazit M.B., Demiralp O.D. Proteomic characterization of the venom of five *Bombus* (*Thoracobombus*) species // Toxins (Basel). 2017. V. 9, № 11.

39. Saez N.J., Senff S., Jensen J.E., et al. Spider-venom peptides as therapeutics // Toxins (Basel). 2010. V. 2, № 12. P. 2851–2871.

40. Миков А.Н., Козлов С.А. Структурные особенности цистеин-богатых полипептидов из ядов морских анемонов // Биоорганическая химия. 2015. V. 41, № 5. P. 511–523.

41. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Zelepuga E., et al. New Kunitz-type HCRG polypeptides from the sea anemone *Heteractis crispa* // Mar. Drugs. 2015. V. 13, № 10. P. 6038–6063.

42. Valle A., Alvarado-Mesén J., Lanio M.E., et al. The multigene families of actinoporins (part I): Isoforms and genetic structure // Toxicon. 2015. V. 103. P. 176–187.

43. Madio B., Undheim E.A.B., King G.F. Revisiting venom of the sea anemone *Stichodactyla haddoni*: Omics techniques reveal the complete toxin arsenal of a well-studied sea anemone genus // J. Proteomics. 2017. V. 166. P. 83–92.

44. Deuis J.R., Mueller A., Israel M.R., et al. The pharmacology of voltage-gated sodium channel activators // Neuropharmacology. 2017. V. 127. P. 87–108.

45. Norton R.S., Chandy K.G. Venom-derived peptide inhibitors of voltage-gated potassium channels // Neuropharmacology. 2017. V. 127. P. 124–138.

46. Gamal El-Din T.M., Lenaeus M.J., Catterall W.A. Structural and functional analysis of sodium channels viewed from an evolutionary perspective // Handbook of experimental pharmacology. 2017. V. 246. P. 53–72.

47. Clairfeuille T., Xu H., Koth C.M., et al. Voltage-gated sodium channels viewed through a structural biology lens // Curr. Opin. Struct. Biol. 2017. V. 45. P. 74–84.

48. Israel M.R., Tay B., Deuis J.R., et al. Sodium channels and venom peptide pharmacology // Advances in pharmacology. 2017. V. 79. P. 67–116.

49. Wu Y., Ma H., Zhang F., et al. Selective voltage-gated sodium channel peptide toxins from animal venom: Pharmacological probes and analgesic drug development // ACS Chem. Neurosci. 2018. V. 9, № 2. P. 187–197.

50. Carnevale V., Klein M.L. Small molecule modulation of voltage gated sodium channels // Curr. Opin. Struct. Biol. 2017. V. 43. P. 156–162.

51. Chen R., Chung S.-H. Mechanism of tetrodotoxin

- block and resistance in sodium channels // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014. V. 446, № 1. P. 370–374.
52. de Lera Ruiz M., Kraus R.L. Voltage-gated sodium channels: Structure, function, pharmacology, and clinical indications // *J. Med. Chem.* 2015. V. 58, № 18. P. 7093–7118.
53. Wang J., Ou S., Wang Y. Distribution and function of voltage-gated sodium channels in the nervous system // *Channels.* 2017. V. 11, № 6. P. 534–554.
54. Jarecki B.W., Piekarczyk A.D., Jackson J.O. et al. Human voltage-gated sodium channel mutations that cause inherited neuronal and muscle channelopathies increase resurgent sodium currents // *J. Clin. Invest.* 2010. V. 120, № 1. P. 369–378.
55. Thomas A.M., Atkinson T.J. Old friends with new faces: Are sodium channel blockers the future of adjunct pain medication management? // *J. Pain.* 2018. V. 19, № 1. P. 1–9.
56. Wunderer G., Machleidt W., Wachter E. Toxin II from *Anemonia sulcata* the first sequence of a coelenterate toxin // *Hoppe. Seyler's. Z. Physiol. Chem.* 1976. V. 357, № 2. P. 239–240.
57. Ishida M., Yjkoama A., Shimakura K., et al. Halkurin, a polypeptide toxin in the sea anemone *Halkurias* sp., with a structural resemblance to tipe 1 and 2 toxins // *Toxicon.* 1997. V. 35. P. 537–544.
58. Messerli S.M., Greenberg R.M. Cnidarian toxins acting on voltage-gated ion channels // *Mar. Drugs.* 2006. V. 4, № 3. P. 70.
59. Martinez G., Kopeyan C. Toxin III from *Anemonia sulcata*: primary structure // *FEBS Lett.* 1977. V. 84, № 2. P. 247–252.
60. Spagnuolo A., Zanetti L., Cariello L., et al. Isolation and characterization of two genes encoding calitoxins, neurotoxic peptides from *Calliactis parasitica* (Cnidaria) // *Gene.* 1994. V. 138, № 1–2. P. 187–191.
61. Pallaghy P.K., Scanlon M.J., Monks S.A., et al. Three-dimensional structure in solution of the polypeptide cardiac stimulant anthopleurin-A // *Biochemistry.* 1995. V. 34, № 11. P. 3782–3794.
62. Monks S.A., Pallaghy P.K., Scanlon M.J., et al. Solution structure of the cardiostimulant polypeptide anthopleurin-B and comparison with anthopleurin-A // *Structure.* 1995. V. 3, № 8. P. 791–803.
63. Seibert A.L., Liu J., Hanck D.A., et al. Arg-14 loop of site 3 anemone toxins: Effects of glycine replacement on toxin affinity // *Biochemistry.* 2003. V. 42, № 49. P. 14515–14521.
64. Moran Y., Gordon D., Gurevitz M. Sea anemone toxins affecting voltage-gated sodium channels – molecular and evolutionary features // *Toxicon.* 2009. V. 54, № 8. P. 1089–1101.
65. Moran Y., Cohen L., Kahn R., et al. Expression and mutagenesis of the sea anemone toxin Av2 reveals key amino acid residues important for activity on voltage-gated sodium channels // *Biochemistry.* 2006. V. 45, № 29. P. 8864–8873.
66. Kalina R., Gladkikh I., Dmitrenok P., et al. New APETx-like peptides from sea anemone *Heteractis crispata* modulate ASIC1a channels // *Peptides.* 2018. V. 104.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Проспект 100-летия Владивостока, д. 159, г. Владивосток, 690022, Российская Федерация.

Калина Римма Сергеевна. Младший научный сотрудник.

Монастырская Маргарита Михайловна. Ведущий научный сотрудник, д-р хим. наук.

Контактная информация для всех авторов: kalinarimma@gmail.com

Контактное лицо: Калина Римма Сергеевна; kalinarimma@gmail.com

Neuro- and Cardiotoxins from Sea Anemones: Structure, Function and Potential of Application in Research and Medical Practice

R.S. Kalina, M.M. Monastyrnaya

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Prospect 100-let Vladivostok 159, Vladivostok 690022, Russian Federation

Sea anemones are well-spread everywhere in the World Ocean and represent the most ancient active poisonous organisms. Their main instrument of attack on other animals are the nematocysts – stinging organelles with the curtailed hollow thread with poisonous edge on the end. In order to attract their potential victims, they use fluorescent proteins. These proteins became a separate object of research as genetically coded markers for the observation of activity of promoters of genes. The poisonous secret of sea anemones is characterized by the presence of maximum number of peptides of various structural classes and spatial structures among the studied land and marine organisms (bees, spiders, scorpions, snakes ect.). This fact complicates the identification of sea anemones' secret and its differentiation from poisons of animals of other taxons, if the concrete source of its origin is unknown. The toxicity of some biologically active sea anemone peptides (RpI, RpIII) at intravenous administration to experimental animals is comparable with that of the most well-known and dangerous representatives of natural toxins with the similar mechanism of action (an alpha-hemolysine and tetrodotoxin), or chemical warfare agents, such as sarin and hydrogen cyanide. Based on their toxic effect, the biologically active sea anemone peptides generally can be classified as neurotoxins due to their impact on the functioning of sodium channels in the cells of the nervous system of animals. Cardiotoxic effect of sea anemone secret is caused by the specificity of interaction between its separate neurotoxins and one of the sub-types of sodium channels of muscle cells, characteristic for heart tissues. The main ways of identification of sea anemone neurotoxins in samples (for example, during the investigation of biological crimes) can be sequence by Edman's method or tandem mass spectrometry (the analysis of fragments of toxin molecule for the establishment of its structure). Further study on the mechanisms of interaction between the sea anemone neurotoxins and the ion channels of the cells of nervous and muscular systems may result in the creation of medicines for treatment of channelopathy, as well as pluripotential antidotes, blocking the toxins, that influence on sodium channels.

Keywords: sea anemones; antidote; biological crime; sarin; ion channel; cardiotoxin; neuropeptide; neurotoxin; nematocyst; nephrotoxicity; sequence by Edman's method; hydrogen cyanide; thread cell; tandem mass-spectrometry; tetrodotoxin; fluorescent protein; cytolysin.

For citation: Kalina R.S., Monastyrnaya M.M. Neuro- and Cardiotoxins from Sea Anemones: Structure, Function and Potential of Application in Research and Medical Practice // *Journal of NBC Protection Corps*. 2019. V. 3. № 2. P. 117–136.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Rentsch F, Layden M., Manuel M. The cellular and molecular basis of cnidarian neurogenesis // *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 2017. V. 6, № 1. P. e257.
2. Frazão B., Vasconcelos V., Antunes A. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: An overview // *Mar. Drugs*. 2012. V. 10, № 12. P. 1812–1851.
3. Prentis P.J., Pavasovic A., Norton R.S. Sea anemones: Quiet achievers in the field of peptide toxins // *Toxins (Basel)*. 2018. V. 10, № 1.
4. Busengdal H., Rentsch F. Unipotent progenitors

- contribute to the generation of sensory cell types in the nervous system of the cnidarian *Nematostella vectensis* // *Dev. Biol.* 2017. V. 431, № 1. P. 59–68.
5. Nüchter T., Benoit M., Engel U. et al. Nanosecond-scale kinetics of nematocyst discharge // *Curr. Biol.* 2006. V. 16, № 9. P. R316–R318.
 6. Eash-loucks W.E., Fautin D.G. Taxonomy and distribution of sea anemones (Cnidaria: Actiniaria and Corallimorpharia) from deep water of the northeastern Pacific // *Zootaxa.* 2012. V. 3375, № 1. P. 1.
 7. Amado E.M., Vidolin D., Freire C.A. et al. Distinct patterns of water and osmolyte control between intertidal (*Bunodosoma caissarum*) and subtidal (*Anemonia sargassensis*) sea anemones // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2011. V. 158, № 4. P. 542–551.
 8. Fautin D.G., Malarky L., Soberón J. Latitudinal diversity of sea anemones (Cnidaria: Actiniaria) // *Biol. Bull.* 2013. V. 224, № 2. P. 89–98.
 9. Tkachenko K.S. Competitive exclusion of common scleractinians by solitary anemone *Anemonia manjano* (Carlagn) on coral reefs of the central Vietnam // *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2015. V. 17, № 4. P. 956–961 (in Russian).
 10. Ross D.M. The symbiosis between the «cloak anemone» *Adamsia carciniopados* (Otto) (Anthozoa-Actiniaria) and *Pagurus prideauxi* Leach (Decapoda-Anomura) // *Bolletino di Zool.* 1984. V. 51, № 3–4. P. 413–421.
 11. Schnytzer Y., Gimán Y., Karplus I. et al. Boxer crabs induce asexual reproduction of their associated sea anemones by splitting and intraspecific theft // *Peer J.* 2017. V. 5. P. e2954.
 12. Buston P.M., García M.B. An extraordinary life span estimate for the clown anemonefish *Amphiprion percula* // *J. Fish Biol.* 2007. V. 70, № 6. P. 1710–1719.
 13. Litsios G., Sims C.A., Wüest R.O. et al. Mutualism with sea anemones triggered the adaptive radiation of clownfishes // *BMC Evol. Biol.* 2012. V. 12. P. 212.
 14. Mishin A.S., Belousov V.V., Solntsev K.M. et al. Novel uses of fluorescent proteins // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2015. V. 27. P. 1–9.
 15. Hutter H. Fluorescent protein methods: Strategies and applications // *Methods in cell biology.* 2012. V. 107. P. 67–92.
 16. Chalfie M., Tu Y., Euskirchen G. et al. Green fluorescent protein as a marker for gene expression // *Science.* 1994. V. 263, № 5148. P. 802–805.
 17. Chang H.-Y., Ko T.P., Chang Y.C. et al. Crystal structure of the blue fluorescent protein with a Leu-Leu-Gly tripeptide chromophore derived from the purple chromoprotein of *Stichodactyla haddoni* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 130. P. 675–684.
 18. Shen Y., Dana H., Abdelfattah A.S. et al. A genetically encoded Ca²⁺ indicator based on circularly permuted sea anemone red fluorescent protein eqFP578 // *BMC Biol.* 2018. V. 16, № 1. P. 9.
 19. Shaner N.C., Campbell R.E., Steinbach P.A. et al. Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. Red fluorescent protein // *Nat. Biotechnol.* 2004. V. 22, № 12. P. 1567–1572.
 20. Lukyanov K.A., Fradkov A.F., Gurskaya N.G. et al. Natural animal coloration can be determined by a nonfluorescent green fluorescent protein homolog // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275, № 34. P. 25879–25882.
 21. Stiel A.C., Stiel A.C., Andresen M. et al. Generation of monomeric reversibly switchable red fluorescent proteins for far-field fluorescence nanoscopy // *Biophys. J.* 2008. V. 95, № 6. P. 2989–2997.
 22. Mizuno M. Envenomation by cnidarians and renal injuries nephrotoxic effects of venoms from sea anemones from Japan. Springer, Dordrecht, 2017. P. 1–13.
 23. Ravindran V.S., Kannan L., Venkateshvaran K. Biological activity of sea anemone proteins: I. Toxicity and histopathology // *Indian J. Exp. Biol.* 2010. V. 48, № 12. P. 1225–1232.
 24. Mizuno M., Nozaki M., Morine N. et al. A protein toxin from the sea anemone *Phyllo-discus semoni* targets the kidney and causes a severe renal injury with predominant glomerular endothelial damage // *Am. J. Pathol.* 2007. V. 171, № 2. P. 402–414.
 25. Lam J., Cheng Y.W., Chen W.U. et al. A detailed observation of the ejection and retraction of defense tissue acontia in sea anemone (*Exaiptasia pallida*) // *Peer J.* 2017. V. 5. P. e2996.
 26. Macrander J., Brugler M.R., Daly M. A RNAseq approach to identify putative toxins from acrorhagi in aggressive and non-aggressive *Anthopleura elegantissima* polyps // *BMC Genomics.* 2015. V. 16, № 1. P. 221.
 27. Macrander J., Broe M., Daly M. Tissue-specific venom composition and differential gene expression in sea anemones // *Genome Biol. Evol.* 2016. V. 8, № 8. P. 2358–2375.
 28. Klyshko E.V., Il'ina A.P., Monastyrnaya M.M. et al. Biologically active polypeptides and hydrolytic enzymes in sea anemones of northern temperate waters // *Russ. J. Mar. Biol.* 2003. V. 29, № 3. P. 161–166.
 29. Rachamim T., Morgenstern D., Aharonovich D. et al. The dynamically evolving nematocyst content of an Anthozoan, a Scyphozoan, and a Hydrozoan // *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 32, № 3. P. 740–753.
 30. Hanck D.A., Sheets M.F. Site-3 toxins and cardiac sodium channels // *Toxicon.* 2007. V. 49, № 2. P. 181–193.
 31. Wanke E., Zaharenko A.J., Redaelli E. et al. Actions of sea anemone type 1 neurotoxins on voltage-gated sodium channel isoforms // *Toxicon.* 2009. V. 54, № 8. P. 1102–1111.
 32. Schweitz H., Bidard J.N., Frelin C. et al. Purification, sequence, and pharmacological properties of sea anemone toxins from *Radianthus paumotensis*. A new class of sea anemone toxins acting on the sodium channel // *Biochemistry.* 1985. V. 24, № 14. P. 3554–3561.
 33. Bane V., Lehane M., Dikshit M. et al. Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection // *Toxins (Basel).* 2014. V. 6, № 2. P. 693–755.
 34. Anderluh G., Macek P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) // *Toxicon.* 2002. V. 40, № 2. P. 111–124.
 35. Gill D.M. Bacterial toxins: a table of lethal amounts // *Microbiol. Rev.* 1982. V. 46, № 1. P. 86–94.
 36. Aleksandrov V.N., Emelyanov V.I. Chemical warfare agents. M., Voenisdat, 1990. 271 p. (In Russian).
 37. Danneels E.L., Van Vaerenbergh M., Debysse G. et al.

- Honeybee venom proteome profile of queens and winter bees as determined by a mass spectrometric approach // *Toxins* (Basel). 2015. V. 7, № 11. P. 4468–4483.
38. Barkan N.P., Bayazit M.B., Demiralp O.D. Proteomic characterization of the venom of five *Bombus* (*Thoracobombus*) species // *Toxins* (Basel). 2017. V. 9, № 11.
39. Saez N.J., Senff S., Jensen J.E. et al. Spider-venom peptides as therapeutics // *Toxins* (Basel). 2010. V. 2, № 12. P. 2851–2871.
40. Mikov A. N., Kozlov S. A. Structural features of cysteine-stabilized polypeptides from sea anemones venoms // *Bioorg. Chem.* 2015. V. 41, № 5. P. 511–523 (in Russian).
41. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Zelepuga E. et al. New Kunitz-type HCRG polypeptides from the sea anemone *Heteractis crispa* // *Mar. Drugs*. 2015. V. 13, № 10. P. 6038–6063.
42. Valle A., Alvarado-Mesén J., Lanio M.E. et al. The multigene families of actinoporins (part I): Isoforms and genetic structure // *Toxicon*. 2015. V. 103. P. 176–187.
43. Madio B., Undheim E.A.B., King G.F. Revisiting venom of the sea anemone *Stichodactyla haddoni*: Omics techniques reveal the complete toxin arsenal of a well-studied sea anemone genus // *J. Proteomics*. 2017. V. 166. P. 83–92.
44. Deuis J.R., Mueller A., Israel M.R. et al. The pharmacology of voltage-gated sodium channel activators // *Neuropharmacology*. 2017. V. 127. P. 87–108.
45. Norton R.S., Chandy K.G. Venom-derived peptide inhibitors of voltage-gated potassium channels // *Neuropharmacology*. 2017. V. 127. P. 124–138.
46. Gamal El-Din T.M., Lenaeus M.J., Catterall W.A. Structural and functional analysis of sodium channels viewed from an evolutionary perspective // *Handbook of experimental pharmacology*. 2017. V. 246. P. 53–72.
47. Clairfeuille T., Xu H., Koth C.M. et al. Voltage-gated sodium channels viewed through a structural biology lens // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2017. V. 45. P. 74–84.
48. Israel M.R., Tay B., Deuis J.R. et al. Sodium channels and venom peptide pharmacology // *Advances in pharmacology*. 2017. V. 79. P. 67–116.
49. Wu Y., Ma H., Zhang F. et al. Selective voltage-gated sodium channel peptide toxins from animal venom: Pharmacological probes and analgesic drug development // *ACS Chem. Neurosci.* 2018. V. 9, № 2. P. 187–197.
50. Carnevale V., Klein M.L. Small molecule modulation of voltage gated sodium channels // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2017. V. 43. P. 156–162.
51. Chen R., Chung S.-H. Mechanism of tetrodotoxin block and resistance in sodium channels // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014. V. 446, № 1. P. 370–374.
52. de Lera Ruiz M., Kraus R.L. Voltage-gated sodium channels: Structure, function, pharmacology, and clinical indications // *J. Med. Chem.* 2015. V. 58, № 18. P. 7093–7118.
53. Wang J., Ou S., Wang Y. Distribution and function of voltage-gated sodium channels in the nervous system // *Channels*. 2017. V. 11, № 6. P. 534–554.
54. Jarecki B.W., Piekarczyk A.D., Jackson J.O. et al. Human voltage-gated sodium channel mutations that cause inherited neuronal and muscle channelopathies increase resurgent sodium currents // *J. Clin. Invest.* 2010. V. 120, № 1. P. 369–378.
55. Thomas A.M., Atkinson T.J. Old friends with new faces: Are sodium channel blockers the future of adjunct pain medication management? // *J. Pain*. 2018. V. 19, № 1. P. 1–9.
56. Wunderer G., Machleidt W., Wachter E. Toxin II from *Anemonia sulcata* the first sequence of a coelenterate toxin // *Hoppe. Seylers. Z. Physiol. Chem.* 1976. V. 357, № 2. P. 239–240.
57. Ishida M., Yjkoama A., Shimakura K. et al. Halkurin, a polypeptide toxin in the sea anemone *Halkurias* sp., with a structural resemblance to tipe 1 and 2 toxins // *Toxicon*. 1997. V. 35. P. 537–544.
58. Messerli S.M., Greenberg R.M. Cnidarian toxins acting on voltage-gated ion channels // *Mar. Drugs*. 2006. V. 4, № 3. P. 70.
59. Martinez G., Kopeyan C. Toxin III from *Anemonia sulcata*: primary structure // *FEBS Lett.* 1977. V. 84, № 2. P. 247–252.
60. Spagnuolo A., Zanetti L., Cariello L. et al. Isolation and characterization of two genes encoding calitoxins, neurotoxic peptides from *Calliactis parasitica* (Cnidaria) // *Gene*. 1994. V. 138, № 1–2. P. 187–191.
61. Pallyghy P.K., Scanlon M.J., Monks S.A. et al. Three-dimensional structure in solution of the polypeptide cardiac stimulant anthopleurin-A // *Biochemistry*. 1995. V. 34, № 11. P. 3782–3794.
62. Monks S.A., Pallyghy P.K., Scanlon M.J. et al. Solution structure of the cardiostimulant polypeptide anthopleurin-B and comparison with anthopleurin-A // *Structure*. 1995. V. 3, № 8. P. 791–803.
63. Seibert A.L., Liu J., Hanck D.A. et al. Arg-14 loop of site 3 anemone toxins: Effects of glycine replacement on toxin affinity // *Biochemistry*. 2003. V. 42, № 49. P. 14515–14521.
64. Moran Y., Gordon D., Gurevitz M. Sea anemone toxins affecting voltage-gated sodium channels – molecular and evolutionary features // *Toxicon*. 2009. V. 54, № 8. P. 1089–1101.
65. Moran Y., Cohen L., Kahn R. et al. Expression and mutagenesis of the sea anemone toxin Av2 reveals key amino acid residues important for activity on voltage-gated sodium channels // *Biochemistry*. 2006. V. 45, № 29. P. 8864–8873.
66. Kalina R., Gladkikh I., Dmitrenok P. et al. New APETx-like peptides from sea anemone *Heteractis crispa* modulate ASIC1a channels // *Peptides*. 2018. V. 104.

Authors

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. Prospect 100-let Vladivostoky 159, Vladivostok 690022, Russian Federation.

Rimma Sergeevna Kalina. Junior Researcher.

Margarita Michailovna Monastyrnaya. Leading Researcher, Doctor of Chemical Sciences.

Contact information for all authors: kalinarimma@gmail.com

Contact person: Rimma Sergeevna Kalina; kalinarimma@gmail.com