

# Aspectos funcionales de las L-aminoácido oxidasas (L-AAOS) de venenos de serpientes en accidentes ofídicos: una mini-revisión

Functional aspects of L-amino acid oxidases (L-AAOs) from snake venoms in ophidic accidents: a mini-review

ALEXIS RODRÍGUEZ-ACOSTA<sup>1,2</sup>

## Resumen

Las L-aminoácido oxidasas son enzimas ampliamente distribuidas en diversos filos como bacterias, hongos, plantas, mamíferos y muchas serpientes venenosas, y de diferentes especies no venenosas, en estas últimas, no solo en la glándula del veneno, sino que también exhibe la actividad de las L-AAOs, en diferentes órganos, tales como pulmón, hígado, riñón y eritrocitos. Las L-AAOs que se encuentran en los venenos de serpientes son más activas que las producidas en muchos microorganismos. Las L-AAOs tienen intensa actividad sobre el sistema hemostático de los mamíferos. Los SV-LAAOs (de venenos de serpientes) exhiben diversas actividades, como hemorragia, agregación plaquetaria, edema, apoptosis, acción antitumoral; además se han descrito actividades microbicidas y anti-VIH. En esta revisión queremos llamar la atención acerca de este importante sistema enzimático presente en muchos venenos de serpientes de las familias Viperidae y Colubridae.

**Palabras clave:** L-amino oxidasas, toxinas naturales, accidente ofídico, veneno de serpiente.

## Abstract

L-amino acid oxidases are enzymes widely distributed in various phyla such as bacteria, fungi, plants, mammals, and many venomous and non-venomous snakes of different species, in the latter, not only in the venom gland but also exhibiting the activity of L-AAOs, in different organs, such as lung, liver, kidney, and erythrocytes. The L-AAOs found in snake venoms are more active than those produced in many microorganisms. The L-AAOs have intense activity on the haemostatic system of mammals. The SV-LAAO exhibit diverse activities, such as haemorrhages, platelet aggregation, oedema, apoptosis, anti-tumor activity; also, have been described microbial and anti-VIH activities. In this review, we want to draw attention to this important enzyme system present in many venoms of snakes of the Viperidae and Colubridae families.

**Keywords:** L-amino oxidases, natural toxins, ophidic accident, snake venom.

1. Laboratorio de Inmunoquímica y Ultraestructura, Instituto Anatómico "Dr. José Izquierdo", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, República Bolivariana de Venezuela.
2. Biotecfar C.A., Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Caracas, República Bolivariana de Venezuela. Correspondencia: rodriguezacosta1946@yahoo.es. ORCID: [0000-0003-1234-7522](https://orcid.org/0000-0003-1234-7522)

## Introducción

Las serpientes usan su veneno para capturar y digerir a sus presas, además como mecanismo de defensa contra sus depredadores. A medida que el veneno, una vez inyectado por su sistema dental en el cuerpo de la presa, éste invade todos los aspectos de su fisiología y los componentes del veneno comienzan a descomponer las matrices extracelulares (es decir, colágeno, fibronectina, vitronectina, entre otros) que protegen a las células; algunos componentes se unen a los receptores celulares causando cambios fisiopatológicos que resultan en dolor, inflamación, necrosis, alteraciones neurológicas, trastornos de la hemostasia, con otras consecuencias. Muchos componentes hacen la sangre incoagulable, mientras otros causan trombosis, que pueden provocar la muerte. Hay otros componentes que simplemente causan parálisis temporales, que le dan a la serpiente el tiempo suficiente, para tragar la presa entera sin luchar. Hay aproximadamente 375 especies venenosas entre las aproximadamente 2.900 especies de serpientes en el mundo (Rengifo y Rodríguez-Acosta, 2019).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) determina que los accidentes ofídicos son un problema de Salud Colectiva en diversos países tropicales y subtropicales. Cada año se producen 5,4 millones de mordeduras de serpiente, que originan entre 1,8 y 2,7 millones de casos de envenenamientos, con aproximadamente 125.880 fallecimientos, y alrededor del triple de amputaciones y otras discapacidades persistentes. La mayoría de los casos se producen en África, Asia y Latinoamérica. La OMS, incluyó el envenenamiento por serpientes, entre las enfermedades tropicales desatendidas más prioritarias (WHO, 1981).

Venezuela epidemiológicamente está entre los primeros seis países con mayor número per capita de accidentes ofídicos al año, a pesar de existir un sub-registro de acuerdo a los datos de la División de Epidemiología del Ministerio del Poder Popular para la Salud. En los últimos diez años hubo un promedio anual entre 4.000 a 8.000 casos de mordedura de serpientes, con una mayor incidencia en los trimestres de febrero-abril y junio-agosto y una mortalidad del 2% (Rengifo y Rodríguez-Acosta, 2019), siendo su tasa de mortalidad de 12/año, y muchas otras sufren daño permanente que conduce a una discapacidad física (Williams y col., 2010). La Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que el envenenamiento por serpientes es una enfermedad desatendida que necesita más evaluación (WHO, 1981). Actualmente, el único tratamiento de los pacientes envenenados es el uso de anti-venenos, que consiste en anticuerpos producidos en animales inmunizados, principalmente caballos, ovejas y aves, que se han inyectado con dosis sub-letales de veneno.

## Desarrollo

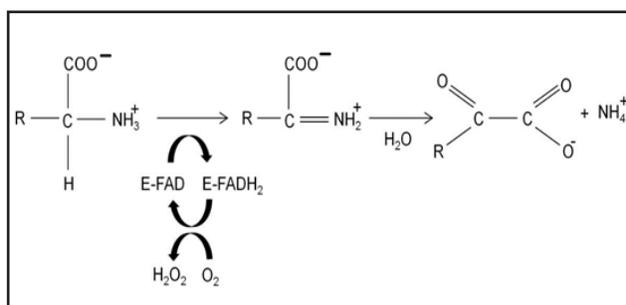
ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE LAS ENZIMAS L-AMINOÁCIDO OXIDASAS (L-AAOS) PRESENTES EN LOS VENENOS DE SERPIENTES

La L-aminoácido oxidasa fue hallada y reportada por primera vez por Zeller y col. (1946) en Viperidae. Krebs en 1933 (Krebs, 1981) había previamente observado su actividad, en tejidos de hígado de mamíferos. Blanchard y col. (1945) fueron los primeros en aislar las L-AAOs de un riñón de rata. Estas enzimas son ampliamente distribuidas en diversos filos como bacterias, hongos, plantas, mamíferos y muchas serpientes venenosas,

y de diferentes especies no venenosas (Zeller y col., 1946), en estas últimas, no solo en la glándula del veneno, sino que también exhibe la actividad de las L-AAOs, en diferentes órganos, tales como pulmón, hígado, riñón y eritrocitos. Las L-AAOs que se encuentran en los venenos de serpientes son más activas que las producidas en muchos microorganismos (Sarkar y Devi, 1968). Las L-AAOs de microorganismos y especies vegetales están involucrados en la utilización de fuentes de nitrógeno. Por ejemplo, *Neurospora crassa* usa amonio, glutamina y glutamato en todos los ciclos diarios, pero bajo condiciones de carencia de nutrientes, utiliza los péptidos almacenados bajo la acción de las L-AAOs (Xiao y Marzluf, 1993). Esta a su vez es regulada por NIT2, una proteína de unión al ADN (miembro de la familia de las nitrilasas) (Xiao y Marzluf, 1993; Calderón y col., 1997).

Las L-AAOs son homodímeros que tienen un peso entre ~120 a 150kDa, con sub-unidades monoméricas que varían de ~50 a 60 kDa y su pI es de 4,4 a 8,12 (Souza y col., 1999; Du y Clemetson, 2002; Bregge-Silva y col., 2012). Están unidos a los cofactores FAD (Flavina Adenina Dinucleótido) o FMN (Flavina Mononucleótido) (Figura 1), originando un pigmento llamado riboflavina, que les da el color amarillo a algunos venenos. Sin embargo, hay una variación de color en el veneno para algunas especies como *Crotalus viridis helleri* (Johnson y col., 1987).

En el mecanismo de las L-AAOs, el FAD reacciona con los L-aminoácidos y los oxida de aminoácidos a iminoácidos y luego los hidroliza a  $\alpha$ -cetoácidos y amoníaco. Toda la reacción es una desaminación oxidativa; liberando amoníaco como producto final,

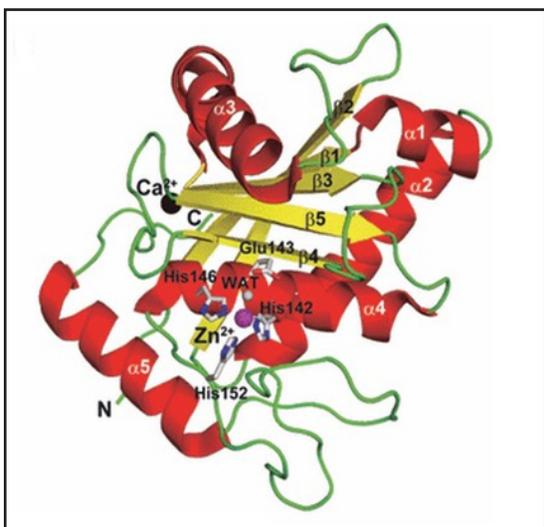


**Figura 1.** Mecanismo de reacción de la enzima L-aminoácido oxidasa. Son enzimas que catalizan una reacción de oxidación/reducción utilizando oxígeno molecular ( $O_2$ ) a modo de aceptor de electrones. En estas reacciones el oxígeno se reduce a agua ( $H_2O$ ) o a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Las oxidasas son una subclase de las oxidoreductasas. En el ejemplo, el flavín adenín dinucleótido (FAD) reacciona con los L-aminoácidos y los oxida a iminoácidos, los cuales luego hidrolizan a  $\alpha$ -cetoácido y amoníaco. Se produce otra semi-reacción para generar el FAD para prolongar el ciclo, oxidando el  $FADH_2$  a FAD, que da peróxido de hidrógeno como residuo intermedio.

que se transporta hacia el ciclo de la urea. También ocurre otra semi-reacción para generar el FAD y prolongar el ciclo oxidando el  $FADH_2$  a FAD, que da peróxido de hidrógeno como residuo intermedio (Figuras 1 y 2). El estrés oxidativo del  $H_2O_2$  da como resultado la producción de efectos enzimáticos que contribuyen a la toxicidad del veneno (Li y col., 2008; Guo y col., 2012; Costa y col., 2014).

Los venenos de varias especies de serpientes son particularmente fuentes ricas de SV-L-AAOs (Snake Venom-L-AAOs) (Figura 3), por ejemplo, en *C. rhodostoma* constituye el 30% del contenido proteico del veneno (Ponnudurai y col., 1994).

Durante la década de los 90, se hicieron diversos estudios sobre las actividades fisicoquímicas y enzimáticas de las SV-LAAOs (Massey y Curti, 1967) incluyendo su inactivación por cambios de pH (Porter y Bright, 1980) o congelación (Curti y col.,



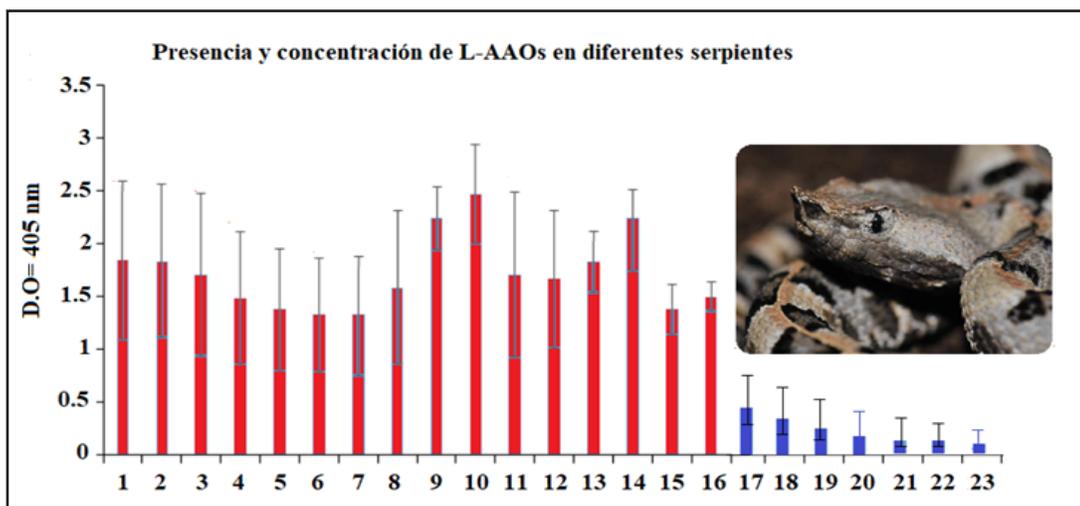
**Figura 2.** La estructura de la L-aminoácido oxidasa de veneno de serpiente (A) Una representación con cintas que muestran los tres dominios de la estructura: el color rojo representa el dominio de unión del flavín adenín dinucleótido (FAD), el amarillo representa el dominio de unión del sustrato y el verde representa el dominio helicoidal (Kang y col., 2011)

1968; Coles y col., 1977). Mientras que estudios más recientes, se refieren a sus efectos farmacológicos y biológicos.

Los SV-LAAOs exhiben diversas actividades, como hemorragia, agregación plaquetaria, edema, apoptosis, acción antitumoral; además se han descrito actividades microbicidas y anti-VIH (Du y Clemetson, 2002; Guo y col., 2012).

Pawelek y col. (2000) describieron la estructura cristalográfica de rayos X de SV-L-AAOs, del veneno de *C. rhodostoma*, demostrando que las SV-LAAOs son funcionalmente un dímero; cada subunidad consta de tres dominios: un dominio de unión a sustrato, un dominio de unión a FAD y un dominio helicoidal. La estructura de L-AAO muestra cierta similitud con la DAAO porcina (D-aminoácido oxidasa), sin embargo, la entrada de sustrato en los dominios varía.

El FMN resultó ser el cofactor de L-AAOs en el veneno de *C. rhodostoma* (Ponnudurai y col., 1994) detectado a partir de su estructura cristalina. Las proteínas de unión a FAD están presentes en los venenos de las serpientes



**Figura 3.** Se presenta la amplia distribución intraespecie e interespecie y concentración de L-AAOs en serpientes del continente americano y Venezuela. (1) *Crotalus scutulatus scutulatus*<sup>1</sup> (2) *C.s.scutulatus*<sup>2</sup> (3) *C.s.scutulatus*<sup>3</sup> (4) *C.s.scutulatus*<sup>4</sup> (5) *C.s.scutulatus*<sup>5</sup> (6) *C.s.scutulatus*<sup>6</sup> (7) *C.s.scutulatus*<sup>7</sup> (8) *Crotalus adamanteus*<sup>1</sup> (9) *Crotalus adamanteus*<sup>2</sup> (10) *Crotalus adamanteus*<sup>3</sup> (11) *Crotalus adamanteus*<sup>4</sup> (12) *Crotalus atrox*<sup>1</sup> (13) *Crotalus atrox*<sup>2</sup> (14) *Crotalus atrox*<sup>3</sup> (15) *Agkistrodon piscivorus* (16) *Sistrurus c. edwardsii* (17) PLH3-*Porthidium l. hutmanni* (18) PLH4-*Porthidium l. hutmanni* (19) PLH5-*Porthidium l. hutmanni* (20) PLH7-*Porthidium l. hutmanni* (21) PLH8-*Porthidium l. hutmanni* (22) PLH1-*Porthidium l. hutmanni* (23) PLH2-*Porthidium l. hutmanni* (Pineda y Rodríguez-Acosta, 2020) (Foto: Luis A Rodríguez).

donde FMN también es cofactor.

Las SV-L-AAOs exhiben espectros de absorción típicos con máximos a 465 y 380 nm debido a el FAD. Las SV-L-AAOs de *Crotalus adamanteus* tiene una masa de 58,7 kDa medida por masa espectroscopia. A veces, un solo tipo de veneno contiene más de un tipo de L-AAO (Stiles y col., 1991; Pineda y Rodríguez-Acosta, 2020).

Hay tres tipos diferentes de SV-L-AAOs en relación al pH que se asemejan a fosfolipasas. Las SV-L-AAOs exhiben especificidad catalítica para aminoácidos hidrófobos aromáticos de cadena larga, su configuración, masas moleculares y puntos isoeléctricos son bastante variados.

Las SV-L-AAOs son capaces de inducir cambios en la función plaquetaria e inhibir su agregación también (Guo y col., 2012); son en su mayoría capaces de inducir apoptosis y muchas veces muestran actividades antimicrobianas, como ya vimos, y antiparasitarias, según Ande y col. (2008) la existencia de SV-L-AAOs puede ser un medio de protección contra agentes naturales, parásitos y bacterias.

Para evitar la inactivación, los SV-L-AAOs deben mantenerse a temperaturas de 4°C y pH cercano al punto isoeléctrico (pI).

Hasta ahora se han clonado y analizado al menos cuatro ADNc de SV-L-AAOs, siendo la secuencia de sus aminoácidos en estos cuatro venenos de serpientes muy similar. Estos SV-L-AAOs comparten similitud de su secuencia con la mono-amino-oxidasa humana.

Estas oxidasas, que durante los accidentes ofídicos son dañinas para los humanos y animales, también pudieran

tener algunos beneficios útiles. Quizás, las nuevas actividades descubiertas, de estas enzimas podrán utilizarse para sistemas de reparación de apoptosis, cáncer, VIH y ADN (Francischetti y col., 2004), ya que, al día de hoy, las SV-L-AAOs juegan un papel importante en el tratamiento de algunas enfermedades y se pueden usar como un quimioterapéutico eficaz (cáncer), antimicrobiano (bacteriano, fúngico, viral, parasitario), y otras acciones antitumorales (Ehara y col., 2002; Ciscotto y col., 2009; Rodrigues y col., 2009).

El envenenamiento por serpientes puede provocar hemorragia, necrosis local y edema; si no se trata adecuadamente puede provocar efectos sistémicos adversos como coagulopatía, nefrotoxicidad, neurotoxicidad y cardiotoxicidad, que puede provocar la muerte. Como tal, las metaloproteasas del veneno de serpiente (SVMP) y las desintegrinas son dos de los más importantes componentes tóxicos que contribuyen a la hemorragia e interfieren con el sistema hemostático (Sánchez y Rodríguez-Acosta, 2008). Por otro lado, con respecto a los efectos biológicos de las SV-L-AAOs, estas también generan daño al endotelio vascular, causando un efecto hemorrágico, ya que las SV-L-AAOs inducen la apoptosis, en las células del endotelio (Souza y col., 1999). Además, intervienen en la aparición del edema, al aumentar la permeabilidad vascular e inducir inflamación y la liberación de histamina, prostaglandina, kininas y serotonina (Ali y col., 2000). Por otro lado, el efecto edematogénico de la actividad de las SV-L-AAOs, no se pierde porque son resistentes a la presencia de antihistamínicos. Estos autores observaron que la actividad edematosa de SV-L-AAOs del veneno de *Ophiophagus hannah* no era inhibido en presencia de dexametasona

(esteroide antiinflamatorio). Otros efectos descritos, tienen que ver con su actividad sobre la agregación plaquetaria, ya que se ha demostrado que las SV-L-AAOs son responsables de la inducción e inhibición de la agregación plaquetaria. Du y Clemetson (2002) propusieron que el peróxido de hidrógeno liberado por un mecanismo enzimático puede interferir con los receptores (GPIIb / IIIa) de las plaquetas y el fibrinógeno, lo que altera el mecanismo de agregación. Zhong y col. (2009) refieren que el  $H_2O_2$  inhibe la función plaquetaria. Mientras que otros (Izidoro y col., 2006; Alves y col., 2008; Rodrigues y col., 2009) demostraron que la capacidad SV-L-AAOs era inducir la agregación plaquetaria. Sin embargo, este efecto siempre fue suprimido por inhibidores como catalasa y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Por tanto, los autores sugirieron que la producción de peróxido de hidrógeno durante la oxidación del sustrato está relacionada con estos cambios de actividad.

Como vemos, las SV-L-AAOs inducen efectos citotóxicos, particularmente sobre las enfermedades tumorales, pero el mecanismo citotóxico real es poco conocido. Sin embargo, hay suficiente evidencia que la producción de  $H_2O_2$  generado durante la actividad catalítica de las SV-L-AAOs conduce a un estrés oxidativo (Samel y col., 2006; Zhang y Wei, 2007). El  $H_2O_2$  liberado se acumula como especies reactivas de oxígeno (ROS) para provocar el deterioro directo de las membranas celulares y la exposición al glutatión (GSH) o catalasa, que inhiben la actividad del  $H_2O_2$  (Naumann y col., 2011), produce una reducción del efecto citotóxico de las SV-L-AAOs.

Este estrés oxidativo también podría conducir a la disipación de la potencia de

la membrana mitocondrial (MMP) e inducir la translocación del citocromo C al citosol (Singh y col., 2007). El citocromo C luego activa la caspasa-9, un iniciador de la presencia de caspasa en el mecanismo mitocondrial intrínseco, que media la apoptosis. Las proteínas apoptóticas p53 se expresan sustancialmente en presencia de las SV-L-AAOs, seguido de la translocación de la proteína Bax citoplasmática hacia las mitocondrias, para activar las vías apoptóticas corriente abajo (descendente) (Zhang y Wei, 2007). Las SV-L-AAOs también pueden activar otro iniciador caspasa-8 en el receptor extrínseco de muerte de apoptosis, antes de la activación descendente de caspasa-3 (la fase ejecutora de la apoptosis) (Suhr y Kim, 1996). Teóricamente, las SV-L-AAOs ejercen su función apoptótica a través de dos vías: la extrínseca e intrínseca.

Muchos ejemplos experimentales hablan de la acción citotóxica de las SV-L-AAOs sobre el ADN de grupos celulares. Por ejemplo: estas enzimas del veneno de *Agkistrodon halys* muestran citotoxicidad en células de leucemia linfoblástica murina (L1210) con características apoptóticas prominentes como la fragmentación del ADN (Suhr y Kim, 1996). También se ha demostrado que el ACL-LAAO aislado del veneno de *Agkistrodon contortrix* causan la fragmentación del ADN en las células HL60 (Souza y col., 1999). Se encontró que SV-L-AAOs alteraba varios genes apoptóticos, autofágicos y relacionados con el ciclo celular, como resultado de la acumulación de  $H_2O_2$ , liberado por la acción de la enzima (Fung y col., 2015). Del mismo modo, la apoxina 1, un tipo de SV-L-AAOs del veneno de *Crotalux atrox* también induce la fragmentación del ADN en células endoteliales umbilicales humanas, HL-60 (leucemia humana) A2780 (carcinoma de

ovario humano) y NK-3 (células endoteliales de rata) debido a altos niveles de  $H_2O_2$  (Torii y col., 1997). BatroxL-AAOs ejerce un retardo en la fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> con una disminución en las fases S y G<sub>2</sub>/M (de Melo y col., 2011). Otro SV-L-AAOs (ACTX-6), del veneno de *Agkistrodon acutus*, también provoca la detención del ciclo celular en las células A549 (Zhang y Wu, 2008). Además de la apoptosis, las SV-L-AAOs exhiben una transición de la apoptosis a la necrosis cuando su concentración aumenta (Samel y col., 2006; de Melo y col., 2011; Costal-Oliveira y col., 2019). Esto presumiblemente está relacionado con los niveles del  $H_2O_2$  producidos por la enzima, ya que el tratamiento con catalasa redujo significativamente el número de células necróticas (Ande y col., 2006).

Pineda y Rodríguez-Acosta (2020) describieron en la serpiente de Margarita (estado Nueva Esparta), ocho péptidos de SV-LAAOs llamados PLH1-LAAO, PLH2-LAAO, PLH3-LAAO, PLH4-LAAO, PLH5-LAAO, PLH6-LAAO, PLH7-LAAO y PLH8-LAAO, luego de su purificación usando MALDI TOF/TOF y "tandem mass spectrometry" (LC-MS/MS), los cuales seguramente están relacionados con las actividades hemostáticas del veneno de esta serpiente.

Finalmente, se ha determinado que las SV-L-AAOs exhiben selectividad hacia las células cancerosas y son relativamente no tóxicas para células normales (Lee y col., 2014; Lu y col., 2018; Abidin y col., 2018).

### Referencias bibliográficas

- Abidin SA, Rajadurai P, Hoque-Chowdhury ME, Othman I, Naidu R. 2018. Cytotoxic, anti-proliferative and apoptosis activity of L-amino acid oxidase from Malaysian *Cryptelytrops purpureomaculatus* (CP-LAAO) venom on human colon cancer cells. *Molecules* 23: E1388.
- Ali S A, Stoeva S, Abbasi A, Alam J M, Kayed R, Faigle M, Voelter W. 2000. Isolation structural and functional characterization of an apoptosis-inducing L-amino acid oxidase from leaf-nosed viper (*Eristocophis macmahoni*) snake venom. *Arch Biochem Biophys* 384: 216–226.
- Alves RM, Antonucci GA, Paiva HH, Cintra ACO, Franco JJ, Mendonca-Franqueiro E P, Dias-Baruffi M. 2008. Evidence of caspase-mediated apoptosis induced by L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops atrox* snake venom. *Comp Biochem Physiol Part A: Mol Integ Physiol* 151: 542–550.
- Ande SR, Kommoju PR, Draxl S, Murkovic M, Macheroux P, Ghisla S, Ferrando-May E. 2006. Mechanisms of cell death induction by L-amino acid oxidase, a major component of ophidian venom. *Apoptosis* 11: 1439–1451.
- Ande SR, Fussi H, Knauer H, Murkovic M, Ghisla S, Fröhlich K U, Macheroux P. 2008. Induction of apoptosis in yeast by L-amino acid oxidase from the Malayan pit viper *Calloselasma rhodostoma*. *Yeast* 25: 349–357.
- Blanchard M, Green DE, Ratner S. 1945. Isolation of L-amino acid oxidase. *J Biol Chem* 161:583–97.
- Bregge-Silva C, Nonato MC, de Albuquerque S, Ho PL, de Azevedo ILM, Diniz MR V, Lomonte B, Rucavado A, Díaz C, Gutiérrez JM, Arantes EC. 2012. Isolation and biochemical, functional and structural characterization of a novel L-amino acid oxidase from *Lachesis muta* snake venom. *Toxicon* 60: 1263–1276.
- Calderón J, Olivera L, Martínez L M, Dávila G. 1997. A *Neurospora crassa* mutant altered in the regulation of L-amino acid oxidase. *Microbiology* 143(6): 1969–1974.
- Ciscotto P, De Avila R M, Coelho EAF, Oliveira J, Diniz CG, Fariás LM, Chávez-Olórtegui C. 2009. Antigenic microbicidal and antiparasitic properties of an L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops jararaca* snake venom. *Toxicon* 53: 330–341.
- Costa T R, Burin, SM, Menaldo DL, de Castro F A, Sampaio S V. 2014. Snake venom L-amino acid oxidases: an overview on their antitumor effects. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* 20: 23.
- Costal-Oliveira F, Stransky S, Guerra-Duarte C, Naves de Souza DL, Vivas-Ruiz DE, Yarlequé A, Sanchez EF, Chávez-Olórtegui C, 2019. Braga VMM. L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom triggers autophagy, apoptosis and necrosis in normal human keratinocytes. *Sci*

- Rep 9: 781.
- Coles C, Edmondson D, Singer T. 1977. Reversible inactivation of L-amino acid oxidase. *J Biol Chem* 252: 8035–8039.
- Curti B, Massey V, Zmudka M. 1968. Inactivation of snake venom L-amino acid oxidase by freezing. *J Biol Chem* 243: 2306–2314.
- de Melo Alves Paiva R, de Freitas Figueiredo R, Antonucci GA, Paiva HH, de Lourdes Pires Bianchi M, Rodrigues KC, Lucarini R, Caetano RC, Linhari Rodrigues Pietro RC, Martins CH, de Albuquerque S, Sampaio SV. 2011. Cell cycle arrest evidence, parasiticidal and bactericidal properties induced by L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom. *Biochimie* 93: 941–947.
- Du XY, Clemetson KJ. 2002. Snake venom L-amino acid oxidases. *Toxicon* 40: 659–665.
- Ehara T, Kitajima S, Kanzawa N, Tamiya T, Tsuchiya T. 2002. Antimicrobial action of achacin is mediated by L-amino acid oxidase activity. *FEBS Lett* 531: 509–512.
- Francischetti IM, My-Pham V, Harrison J, Garfield MK, Ribeiro JM. 2004. *Bitis gabonica* (Gaboon viper) snake venom gland: toward a catalogue for the full-length transcripts (cDNA) and proteins. *Gene* 337: 55–69.
- Fung SY, Lee ML, Tan NH. 2015. Molecular mechanism of cell death induced by king cobra (*Ophiophagus hannah*) venom L-amino acid oxidase. *Toxicon* 96: 38–45.
- Guo C, Liu S, Yao Y, Zhang Q, Sun M Z. 2012. Past decade study of snake venom L-amino acid oxidase. *Toxicon* 60: 302–311.
- Izidoro LF, Ribeiro MC, Souza GR, Sant'Ana CD, Hamaguchi A, Homsí-Brandeburgo MI, Goulart LR, Belebóni RO, Nomizo A, Sampaio SV, Soares AM, Rodrigues VM. 2006. Biochemical and functional characterization of an L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pirajai* snake venom. *Bioorg Med Chem* 14: 7034–7043.
- Johnson E K, Kardong KV, Ownby CL. 1987. Observations on white and yellow venoms from an individual southern Pacific rattlesnake (*Crotalus viridis helleri*). *Toxicon* 25: 1169–1180.
- Kang TS, Georgieva D, Genov N, Murakami MT, Sinha M, Kumar RP, Kaur P, Kumar S, Dey S, Sharma S, Vrieling A, Betzel C, Takeda S, Arni RK, Singh TP, Kini RM. 2011. Enzymatic toxins from snake venom: structural characterization and mechanism of catalysis. *FEBS J* 278: 4544–76.
- Krebs H. 1981. *Reminiscences and Reflections*. Oxford: Clarendon Press.
- Lee ML, Fung SY, Chung I, Pailoor J, Cheah SH, Tan NH. 2014. King cobra (*Ophiophagus hannah*) venom L-amino acid oxidase induces apoptosis in PC-3 cells and suppresses PC-3 solid tumour growth in a tumour xenograft mouse model. *Int J Med Sci* 11: 593–601.
- Li R, Zhu S, Wu J, Wang W, Lu Q, Clemetson K J. 2008. L-amino acid oxidase from *Naja atra* venom activates and binds to human platelets. *Acta Biochim Biophys Sin* 40: 19–26.
- Lu W, Hu L, Yang J, Sun X, Yan H, Liu J, Chen J, Cheng X, Zhou Q, Yu Y, Wei JF, Cao P. 2018. Isolation, and pharmacological characterization of a new cytotoxic L-amino acid oxidase from *Bungarus multicinctus* snake venom *J Ethnopharmacol* 213: 311–320.
- Massey V, Curti B. 1967. On the reaction mechanism of *Crotalus adamanteus* L-amino acid oxidase. *J Biol Chem* 242: 1259–1264.
- Naumann GB, Silva LF, Silva L, Faria G, Richardson M, Evangelista K, Kohlhoff M, Gontijo CM, Navdaev A, de Rezende FF, Eble JA, Sanchez EF. 2011. Cytotoxicity and inhibition of platelet aggregation caused by an L-amino acid oxidase from *Bothrops leucurus* venom. *Biochim Biophys Acta* 1810: 683–694.
- Pawelek PD, Cheah J, Coulombe R, Macheroux P, Ghisla S, Vrieling A. 2000. The structure of L-amino acid oxidase reveals the substrate trajectory into an enantiomerically conserved active site. *EMBO J* 19: 4204–4215.
- Pineda ME, Rodríguez-Acosta A. 2020. The report of some basic L-amino-acid oxidases peptides isolated from the Neotropical Lansberg's hognose viper (*Porthidium lansbergii hutmanni*) snake venom from Margarita Island (Venezuela). *Saber UDO* 32:213–221.
- Ponnudurai G, Chung M C, Tan N H. 1994. Purification and properties of the L-amino acid oxidase from Malayan pit viper (*Calloselasma rhodostoma*) venom. *Arch Biochem Biophys* 313: 373–378.
- Porter DJ, Bright H J. 1980. 3-Carbanionic substrate analogs bind very tightly to fumarase and aspartase. *J Biol Chem* 255: 4772–4780.
- Rengifo C, Rodríguez-Acosta A. 2019. *Serpientes, Veneno y Tratamiento Médico en Venezuela*. 2da. Edición, Caracas: Universidad Central de Venezuela. Disponible: <https://www.amazon.com>.

- [com/Serpientes-Venenos-Tratamiento-m%C3%A9dico-Venezuela/dp/B086B8FJZP?asin=B086B8FJZP&revisionId=&format=4&depth=1](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19111111/)
- Rodrigues RS, da Silva JF, Boldrini França J, Fonseca FP, Otaviano AR, Henrique Silva F, Hamaguchi A, Magro AJ, Braz AS, dos Santos JI, Homs-Brandeburgo MI, Fontes MR, Fuly AL, Soares AM, Rodrigues VM. 2009. Structural and functional properties of Bp-LAAO a new L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pauloensis* snake venom. *Biochimie* 91: 490–501.
- Samel M, Vija H, Rönholm G, Siigur J, Kalkkinen N, Siigur E. 2006. Isolation and characterization of an apoptotic and platelet aggregation inhibiting L-amino acid oxidase from *Vipera berus berus* (common viper) venom. *Biochim Biophys Acta* 1764: 707–714.
- Sánchez EE, Rodríguez-Acosta A. 2008. Inhibitors of snake venoms and development of new therapeutics. *Immunopharmacol Immunotoxicol J* 30: 647–678.
- Sarkar NK, Devi AN. 1968. Enzymes in snake venoms. *Venom Anim Ven* 1: 167–216.
- Singh M, Sharma H, Singh N. 2007. Hydrogen peroxide induces apoptosis in HeLa cells through mitochondrial pathway. *Mitochondrion* 7: 367–373.
- Souza DH, Eugenio LM, Fletcher JE, Jiang MS, Garratt RC, Oliva G, Selistre-de-Araujo HS. 1999. Isolation and structural characterization of a cytotoxic L-amino acid oxidase from *Agkistrodon contortrix laticinctus* snake venom: preliminary crystallographic data. *Arch Biochem Biophys* 368: 285–290.
- Stiles BG, Sexton FW, Weinstein SA. 1991. Antibacterial effects of different snake venoms: purification and characterization of antibacterial proteins from *Pseudechis australis* (Australia king brown or mulga snake) venom. *Toxicon* 29: 1129–1141.
- Suhr SM, Kim DS. 1996. Identification of the snake venom substance that induces apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 224: 134–139.
- Torii S, Naito M, Tsuruo T. 1997. Apoxin I, a novel apoptosis-inducing factor with L-amino acid oxidase activity purified from Western diamondback rattlesnake venom. *J Biol Chem* 272: 9539–9542.
- WHO. World Health Organization. 1981. Progress in the characterization of venoms and standardization of antivenoms. WHO Offset Publication No. 58. Geneva. Disponible: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37282/WHO\\_OFFSET\\_58.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37282/WHO_OFFSET_58.pdf?sequence=1)
- Williams D, Gutiérrez JM, Harrison R, Warrell DA, White J, Winkel KD, Gopalakrishnakone P. 2010. The Global Snake Bite Initiative: an antidote for snake bite. *The Lancet* 375: 89–91.
- Xiao XD, Marzluf G A. 1993. Amino-acid substitutions in the zinc-finger of NIT2, the nitrogen regulatory protein of *Neurospora crassa*, alter promoter element recognition. *Curr Gen* 24: 212–218.
- Zeller EA, Iselin B, Maritz A. 1946. Über das vorkommen der ophiolambda-aminosaure-oxydase. 4. mitteilung über eine neue lambdaaminosaure-oxydase. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 4: 233–248.
- Zhang L, Wei LJ. 2007. ACTX-8, a cytotoxic L-amino acid oxidase isolated from *Agkistrodon acutus* snake venom, induces apoptosis in HeLa cervical cancer cells. *Life Sci* 80: 1189–1197.
- Zhang L, Wu WT. 2008. Isolation and characterization of ACTX-6: a cytotoxic L-amino acid oxidase from *Agkistrodon acutus* snake venom. *Nat Prod Res* 22: 554–563.
- Zhong SR, Jin Y, Wu JB, Jia Y H, Xu G L, Wang G C, Lu Q M. 2009. Purification, and characterization of a new L-amino acid oxidase from *Daboia russellii siamensis* venom. *Toxicon* 54: 763–771.

---

Recibido: 13/05/2021  
Aceptado: 18/06/2021