



Биол. журн. Армении, 4 (62), 2010

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЯДОВ ЛЕВАНТИЙСКОЙ (*MACROVIPERA LEBETINA OBTUSA*) И АРМЯНСКОЙ (*MONTIVIPERA RADDEI RADDEI*) ГАДЮК

A.B. ВОСКАНЯН, М.В. АНТОНЯН, С.С. ГЕВОРГЯН

Институт физиологии им.акад.Л.А.Орбели НАН РА, лаборатория пурификации,
сертификации и стандартизации физиологически активных веществ
www.neuroscience.am; avvoskanyan@rambler.ru.

Впервые проведено сравнительное исследование действия летальных доз ядов левантийской (*Macrovipera lebetina obtusa*) и армянской (*Montivipera raddei raddei*) гадюк для физиологических экспериментов. Полученные данные представляют ценность для медико-биологических исследований с использованием ядов гадюк.

Токсичность ядов – гюрза кавказская – гадюка армянская – LD_{50}

Առաջին անգամ կատարվել է լեւանտինյան (*Macrovipera lebetina obtusa*) և հայկական իծերի (*Montivipera raddei raddei*) թույների մահացու դեղաչափերի ազդեցության համեմատական հետազոտություն ֆիզիոլոգիական փորձերի համար: Ստացված տվյալները արժեք են ներկայացնում այն բժշկականաբանական հետազոտությունների համար, որտեղ օգտագործվում են իծերի թույները:

Թույների տոքսիկոլոգիան – գյուրզա կովկասյան – իծ հայկական – LD_{50}

Comparative study of Levantine (*Macrovipera lebetina obtusa*) and Armenian (*Montivipera raddei raddei*) viper's venoms lethal doses action for the first time was carried out for physiological experiments needs. Obtained data are usable for medicinal and biological investigations with this venoms treatment.

Venoms toxicity – Caucasian Levantine viper – Armenian viper – LD_{50}

В последние годы возрос интерес к физиологически активным веществам, продуцируемым различными классами животных. В основе этого лежит огромное разнообразие химических соединений, которые могут быть использованы в самых различных отраслях народного хозяйства – от новых лекарственных препаратов в медицине до инсектицидов в сельском хозяйстве и питательных кремов в косметической промышленности. Это физиологически и фармакологически активные вещества, получаемые от медуз и улиток, жаб и саламандр, змей и пауков. Одни продукты жизнедеятельности животных используются в нативном виде, другие – после фракционирования и пурификации, третьи становятся прототипами семейств синтетических аналогов с улучшенными свойствами. При этом в кругу интересов многих исследователей всегда были и остаются животные яды. Огромный объем работ посвящен различным компонентам ядов змей, которые проявляют самые разные свойства – факторов роста, ферментативной активности, сигнальных молекул, дезинтегрирующих и апоптотических систем и т.п. [8]. С другой стороны, не ослабевает интерес к цельным ядам как хорошо отработанной со стороны эволюции системы, предназначенной для питания и защиты змей [4,6,7].

Давно известно, что существуют принципиальные различия между действием ядов нейротропного и гемотропного действия. Для яда кобр при наличии токсинов, блокирующих передачу в нейромышечном синапсе, разница в токсичности в зависимости от пути введения очень мала [2], в то время как для яда гадюковых место введения имеет большое значение. Однако в последние годы все большее число исследований свидетельствует о том, что имеется ощутимая разница в составе и модусе действий ядов в пределах одного и того же вида, обитающего в различных природных условиях и климатических зонах. Данная работа посвящена определению токсичности яда гюрзы кавказской, живущей в природных условиях на территории Армении, и сравнительному исследованию токсичности ядов двух ядовитых змей фауны Армении – гюрзы или левантийской гадюки (ЛГ) и армянской гадюки (АГ). Яд ЛГ проявляет ярко выраженные гемотропные свойства в гемолизе, геморрагии, протеазной активности и т.п., в то время как яд АГ считается ядом смешанного типа, то есть наряду с гемотропным действием, имеет выраженные нейротоксические свойства. Также исследованы некоторые вопросы, связанные с путями введения яда ЛГ, что имеет важное значение для вычисления летальных доз при воздействии на человека [5].

Материал и методика. Эксперименты были проведены на 140 половозрелых самцах белых мышей-альбиносов и 12 половозрелых самцах белых крыс-альбиносов. Исходя из принципиальных соображений по чистоте экспериментов, выживших животных использовали только для кормления змей. Летальную дозу, при которой погибало 50% животных по прошествии 24 ч после введения яда (LD_{50}), определяли по методу Беренса [3].

Исследования по охлаждению мышц, инокулированных ядом гюрзы, были проведены на четырех половозрелых крысах-самцах, наркотизированных нембуталом дозой 40 мг/кг массы животного. С обеих сторон в области, примыкающей к ягодичным мышцам, вводили яд, после чего с экспериментальной стороны накладывали водяной медный радиатор, который охлаждал мышцу до температуры на два градуса выше температуры водопроводной воды (рис.1). Контроль температуры проводили электронным термометром с точностью измерения 0,2°C. Площадь повреждения оценивали в соответствии с площадью геморрагического отека.



Рис.1. Наркотизированная крыса с откинутой шкуркой и обнаженными мышцами; слева на мышце установлен охлаждающий радиатор.

Результаты и обсуждение. Токсичность яда ЛГ впервые была определена нами в 90-х годах прошлого столетия [1]. Эта величина при внутрибрюшинном введении для белых лабораторных крыс и мышей (альбиносов) составила 1,8-1,9 мг/кг массы животных, что было несколько меньше (а стало быть токсичность была несколько выше), чем аналогичные данные литературы по среднеазиатской гюрзе (тогда еще *Vipera lebetina turanica*) [2].

При определении токсичности яда ЛГ при внутримышечном введении оказалось, что действие яда значительно ослабляется и LD_{50} для мышей составляет около 3,5 мг/кг массы (рис.2).

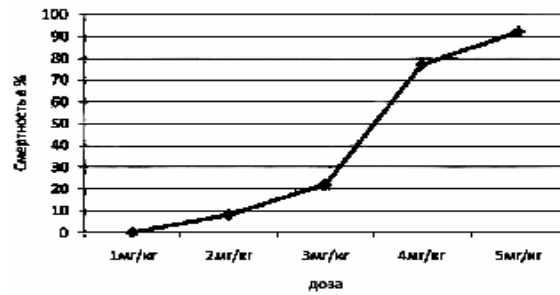


Рис.2. Смертность мышей при внутримышечном введении яда гюрзы кавказской.

Довольно неожиданные данные были получены при подкожном введении яда ЛГ: токсичность яда была очень низкой и составила около 23 мг/кг массы мышей (рис.3).

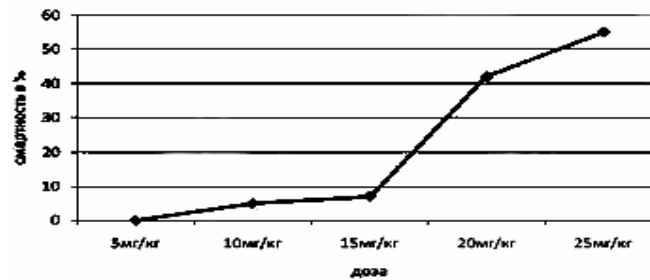


Рис. 3. Смертность мышей при подкожном введении яда гюрзы кавказской.

При рекогносцировочном определении токсичности яда АГ мы взяли почти те же дозы, что и для ЛГ, однако выяснилось, что яд АГ несколько токсичнее (рис.4) и нам пришлось протестировать также диапазон меньших доз (рис.5).

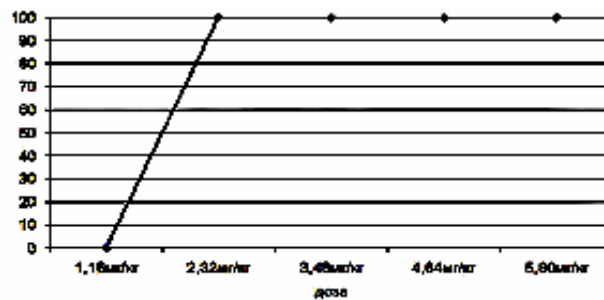


Рис.4. Смертность мышей при внутрибрюшинном введении яда гадюки армянской. (Предварительное определение диапазона доз, на оси ординат отложен процент смертности мышей).

Токсичность яда АГ при внутрибрюшинном введении оказалась равной 1,6 мг/кг живой массы мышей. Однако при сравнительном анализе токсичности ядов двух видов змей фауны Армении было, выявлено, что при малых дозах (до 50%) токсичнее яд гюрзы, в то время как при высоких – яд армянской гадюки (рис.6).

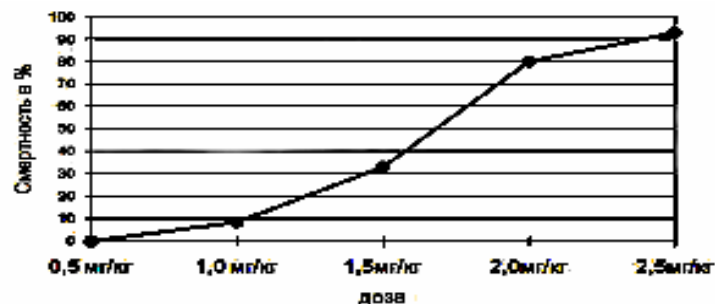


Рис.5. Смертность мышей при внутрибрюшинном введении яда гадюки армянской.

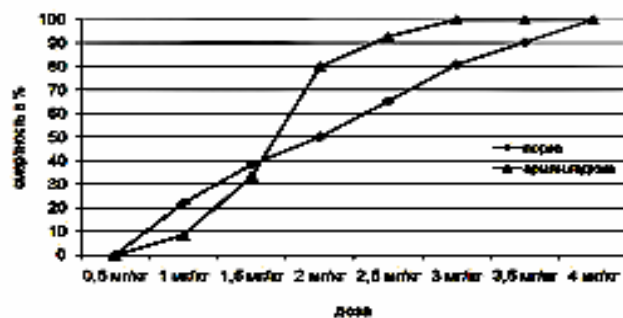


Рис.6. Смертность мышей при внутрибрюшинном введении ядов гюрзы кавказской и гадюки армянской.

При исследовании казеинолитического действия яда ЛГ *in vitro* определяли Q10. Выяснилось, что в зависимости от применяемой дозы яда и температуры среды, в которой работает фермент, возможно изменение сценария протекания деструктивных процессов в организме интоксичированного животного (рис.7).

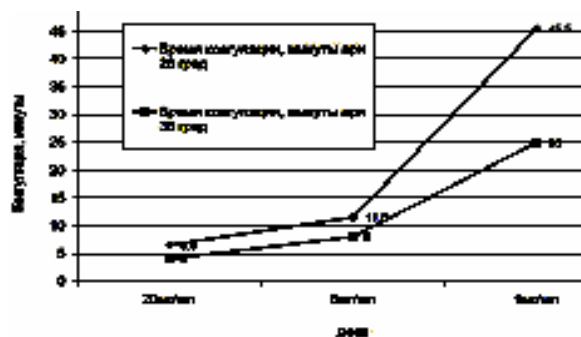


Рис.7. Время коагуляции молока под воздействием яда гюрзы различной степени разведения (1, 5 и 20 мг/мл молока) при различной температуре (28°C и 38°C).

Аналогичное явление наблюдается и в самом организме при охлаждении участка тела, куда был введен яд гюрзы. Под охлаждающим водяным радиатором в области дорзальных мышц задней конечности температура была ниже на 8°C (26°C на контрольной стороне и 18°C на охлаждаемой). Визуальная оценка позволила заключить, что распределение яда в охлажденной мышце было по площади меньше, чем в контрольной в 1.7-2.0 раза.

Необходимо отметить, что подкожное введение яда гюрзы малоэффективно как для самой змеи, так и при научных исследованиях по причине стаза яда в подкожной жировой клетчатке, а температура внешних покровов животных ниже почти на $8-10^{\circ}\text{C}$ по сравнению с температурой брюшины. Это означает, что при исследованиях действия яда ЛГ *in vivo* необходимо учитывать пути его введения, а *in vitro* также температуру среды и адекватность мишени. Мощное деструктивное действие ферментов и активных полипептидных соединений яда гюрзы при дозах, равных половине или четверти летальной, позволяет утверждать, что лечебный эффект этого яда чаще всего необходимо исследовать при гораздо больших разведениях (e.g. 1.10^{-6} и более), чем это применяется во многих исследованиях. Дозозависимое действие при исследовании отдельных фракций и интерпретация действия отдельных компонентов принципиально различны от комплексного действия цельного яда и понимания целесообразности их суммарного воздействия. Особенно осторожно нужно использовать данные, полученные *in vitro* при интерпретации действия яда на организм, потому что особое влияние токсинов яда на сердечно-сосудистую и нервную системы, особенно на симпатический отдел ВНС, вызывает реакции организма, принципиально отличные от реакций культуры ткани или пула нейронов в переживающих срезах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Восканян А.В. Некоторые аспекты исследований животных ядов в Армении. Журн. Вопр. теор. и клинич. медицины, 2, 7, с.58-62, 1999.
2. Орлов Б.Н., Гелахвили Д.Б., Ибрагимов А.К. Ядовитые животные и растения СССР., М. "Высшая школа", 272с., 1990.
3. Правдин Н.С. "Токсикология", М. , Изд-во "Медицина", 280с., 1973.
4. Bonnemain B. Helix and Drugs: Snails for Western Health Care From Antiquity to the Present. Med. 2005 Mar; 2, 1, 25-28. Epub Jan 28, 2005.
5. Evid Based Complement Alternat Khare AD, Khole V, Gade PR. Toxicities, LD50 prediction and in vivo neutralisation of some elapid and viperid venoms. Indian J Exp Biol. Dec; 30, 12, 1158-62, 1992
6. Perchuć AM, Menin L, Stocklin R, Buhler B, Schoni R. The potential of Bothrops moojeni venom in the field of hemostasis. Established use and new insights. Pathophysiol Haemost Thromb. 34 (4-5): 241-5, 2005.
7. Raghuraman H, Chattopadhyay A. Effect of micellar charge on the conformation and dynamics of melittin. Eur Biophys J. Nov; 33, 7, 611-22, 2004.
8. Schmidt JT, Lemere CA. Rapid activity-dependent sprouting of optic fibers into a local area denervated by application of beta-bungarotoxin in goldfish tectum. J Neurobiol. Jan; 29, 1, 75-90, 1996.

Поступила 14.07.2010.