

УДК 612.57+598.126+615.771.6

К.Р. Арутюнян, А.В. Восканян, Р.А. Арутюнян, М.В. Антонян

Влияние гепарина на температурный гомеостаз и развитие патологических процессов в организме при действии яда гюрзы

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л.Р. Манвеляном 29/VIII 2003)

В яде гадюковых (Viperidae) имеются протеолитические ферменты, действующие подобно трипсину, тромбину и каллекреину. В результате действия этих ядов развивается геморрагия, обусловленная как повышением проницаемости сосудистой стенки, так и нарушениями в свёртывающей системе крови. Высвобождение из тканей под действием энзимов ядов таких биологически активных веществ, как гистамин, брадикинин, и образование эндорфинов приводят к падению артериального давления, увеличению сосудистой проницаемости, нарушению трофики тканей из-за расстройств в микроциркуляторном русле и в конечном итоге к развитию взаимосвязанных патологических процессов, характерных для яда гюрзы. Нами было показано, что при системном введении в организм яда гюрзы в "ядре" организма развивается гипертермический эффект с повышением активности симпатической нервной системы [1-4]. Показано, что при действии яда гюрзы происходит перераспределение объема циркулирующей крови, изменение ее свертываемости, развитие тромбогеморрагического синдрома и нарушение микроциркуляторных процессов в жизненно важных органах [5]. Большую роль при этом играет развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС синдром), приводящего к многочисленным тромбозам, развитию ишемии в тканях и дальнейшему их некрозу, осложненному действием ряда лизирующих ферментов и физиологически активных веществ яда, запускающих простагландин-тромбоксановую систему: брадикинина (с увеличением проницаемости капилляров, дилатация артериол); гистамина (гипотензивное действие и увеличение сосудистой проницаемости) и т.п. Экзогенный гистамин яда приводит к высвобождению субстанции Р из С-волокон афферентной сенсорной системы, иннервирующей соединительную ткань, гладкую мускулатуру и кровеносные сосуды, которая высвобождает эндогенный гистамин из перитонеальных мастоцитов и мукозных клеток [6]. По данным некоторых авторов [7,8], активация симпатических сосудорасширяющих нервов скелетной мускулатуры вдвое увеличивает отношение прекапиллярного сопротивления к посткапиллярному, что приводит к абсорбции в сосудистое русло экстравазкулярной жидкости. Это важный компенсаторный механизм при геморрагии, когда проявляется генерализованное увеличение симпатической импульсации.

В настоящей статье исследовано влияние гепарина на терморегуляцию организма при действии змеиного яда. Выбор гепарина обусловлен тем, что он является естественным противосвертывающим фактором крови в организме, тормозящим превращение протромбина в тромбин, фибриногена в фибрин [9-11], и одновременно тем, что литературные данные

относительно роли гепарина в организме при инокуляции геморрагических ядов довольно противоречивы [12-17].

Методом многочасового непрерывного термографирования у опытных крыс в термонеutralных условиях (20-21⁰С) окружающей среды определяли температуру "ядра" в области ободочной кишки и бедренных мышц и "оболочки" организма в области проксимального отдела хвостовой артерии.

Датчиками для регистрации температуры с исследуемых участков тела явились термопары диаметром 100 микрон. Регистрация производилась при помощи 12-канального самопишущего потенциометра. Последний был подключен к выходу фотоэлектрического умножителя типа Ф-116/2 с чувствительностью 0.013⁰С для определения температуры "ядра" и 0.13⁰С - температуры "оболочки" и термокамеры. Рабочие спаи термопар вводили в мякоть бедренных мышц на глубину 1.5-2.0 см; через прямую кишку в ободочную на глубину 6-7 см; закрепляли на хвосте над хвостовой артерией на расстоянии 1.5 см от анального отверстия. Свободные спаи всех термопар помещались в ультратермостат типа У-10, где поддерживалась эталонная температура.

Эксперименты проводились в четырех сериях. В первой серии изучали влияние яда кавказской гюрзы (*Vipera lebetina obtusa*) на изучаемые терморегуляторные показатели организма крыс в дозе 50 мкг/100 г массы животного при ЛД₅₀ равном 1.8 мг/кг массы при внутривентральном введении. Яд был получен путем механической дойки змей одним из авторов статьи. Яд высушивали в эксикаторе под вакуумом при остаточном давлении -0.9 атм. над силикагелем до полной "кристаллизации" и доводили до постоянного веса. Стандартизация проводилась в соответствии с ТУ РА 37507194.3265-2003 [18]. За час до эксперимента отвешивали 10 мг сухого яда и растворяли в 10 мл физиологического раствора для получения стандартного раствора с концентрацией 1 мкг /мкл. Крысам со средней массой 250 г вводили 125 мкг яда.

Во второй серии изучали влияние гепарина на терморегуляторные показатели экспериментальных животных в дозе 0.1 мл/100 г массы тела. В третьей серии изучали одновременное действие яда и гепарина на исследуемые показатели. Во время первых трех серий экспериментов животные находились в прозрачных камерах с ограниченным объемом, однако при визуальной оценке их гиподинамического состояния не было отмечено девиантного поведения, полипноэ, саливации или какой-либо иной выраженной эмоциональной реакции. Работа выполнена на 16 половозрелых самцах белых беспородных крыс, всего проведено 18 экспериментов. В четвертой серии была определена ЛД₅₀ по методу Беренса [18] при введении крысам вышеуказанной дозы гепарина (30 половозрелых самцов).

**Динамика изменения температуры различных органов крыс
при медикации ядом гюрзы и гепарином**

Гепарин							
	Контроль	15 мин	30 мин	45 мин	60 мин	75 мин	90 мин
Орган	Температура органа в градусах Цельсия						
Кишка	38.21	38.18	38.14	38.06	38.01	38.02	37.89
Мышца	36.13	36.13	36.14	36.11	36.11	35.98	35.69
Артерия	27.36	27.11	27.17	27.09	26.94	27.01	26.93
Гепарин и яд							
	Контроль	15 мин	30 мин	45 мин	60 мин	75 мин	90 мин
Орган	Температура органа в градусах Цельсия						
Кишка	37.31	37.21	37.21	37.13	37.03	37.02	37.01
Мышца	35.77	35.87	35.99	35.87	35.68	35.56	35.51
Артерия	26.76	26.92	26.92	26.68	26.54	26.42	26.45

Данные первой серии экспериментов показали, что введение яда гюрзы крысам индуцирует гипертермический эффект в "ядре" организма и в течение 60 мин после введения яда температура ободочной кишки повышается в среднем на 1.0°C или с 37.14 ± 0.2 до $38.22 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$, а затем снижается и в течение 90 мин держится выше нормы на 0.63°C (рис.1,а). Температура скелетных мышц под воздействием яда гюрзы снижается. Действительно, из данных рис. 1, а видно, что в первые 90 мин она снижается от нормы

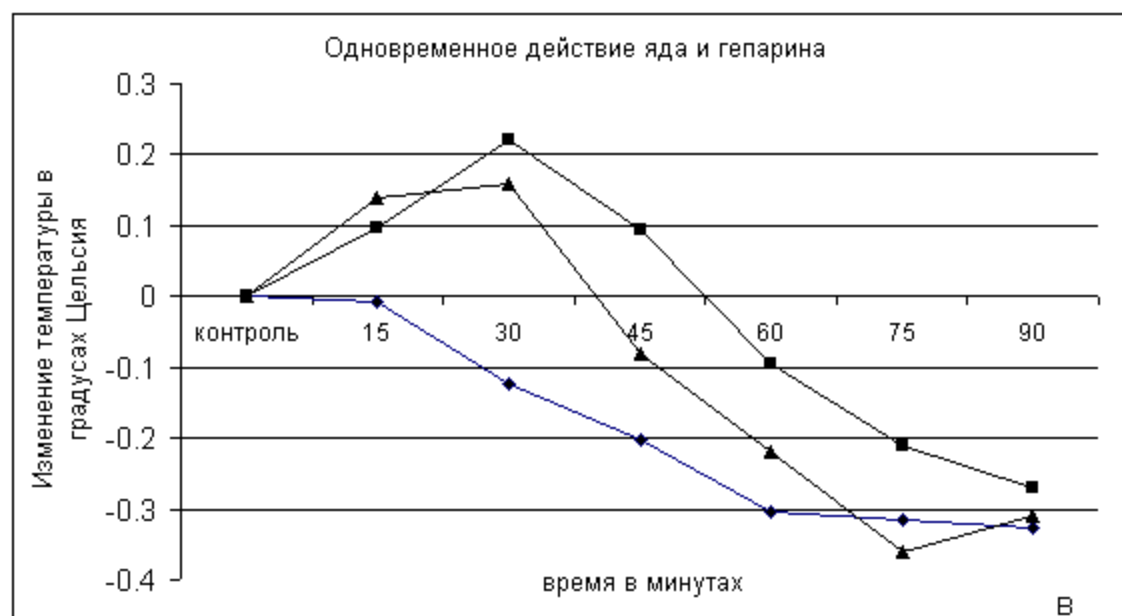
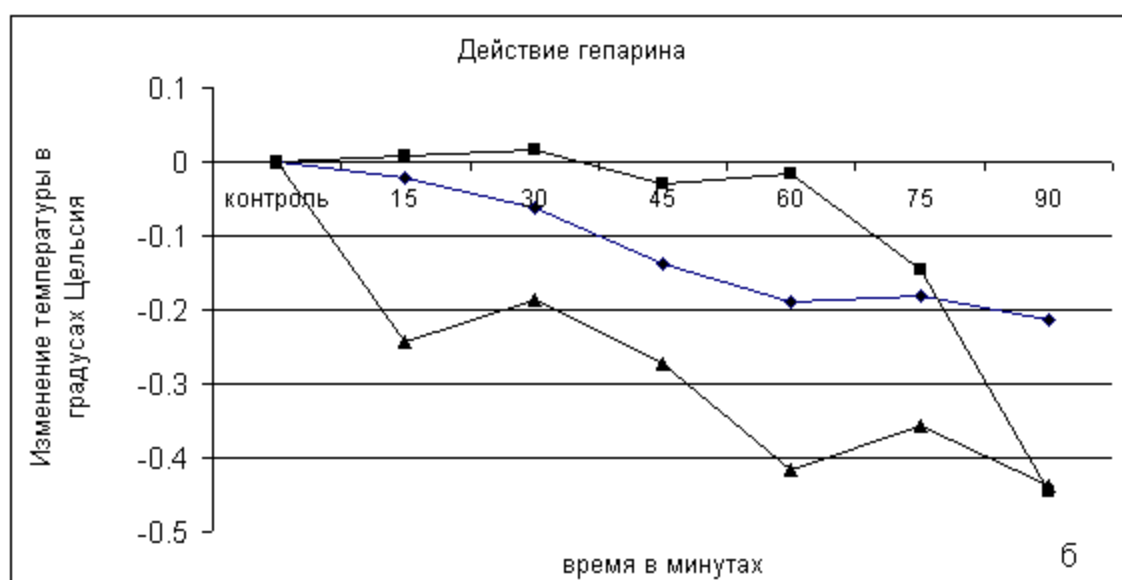
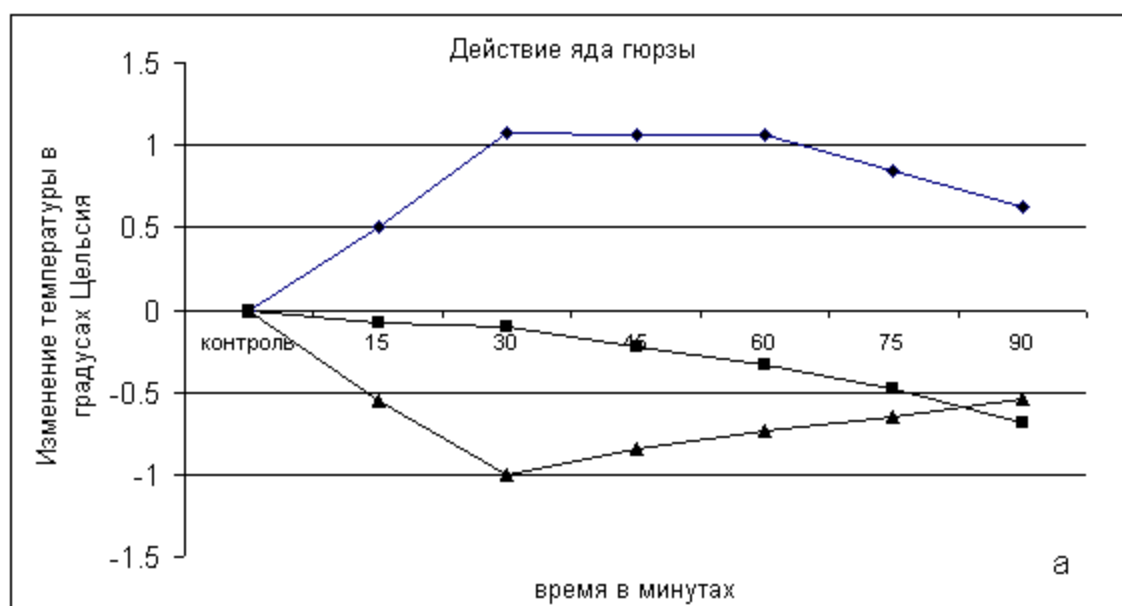


Рис.1. Изменение температуры различных органов: а - при действии яда гюрзы, б - при действии гепарина, в - при одновременном действии яда и гепарина. Ромбом обозначена ободочная кишка; квадратом - бедренная мышца, треугольником - хвостовая артерия.

в пределах 0.69°C или с 37.48 ± 0.5 до $36.79 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$. Что касается действия яда на температуру хвостовой артерии, то в первые 30 мин она снижается на 1.0° или с 24.06 до $23.06 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, затем наблюдается повышение температуры, однако за время регистрации она не приходит к исходному уровню.

Результаты второй серии экспериментов показывали, что введение крысам гепарина приводит к выраженному гипотермическому эффекту, снижая температуру как "ядра", так и "оболочки" организма. Температура ободочной кишки и скелетных мышц снижалась соответственно на 0.21 и 0.44°C или с 38.2 до 37.8°C и с 36.1 до 35.6°C соответственно, а температура хвостовой артерии снижалась на 0.43°C или с 27.3 до 26.9°C (таблица, рис. 1,б).

Особый интерес представляют данные третьей серии экспериментов (таблица, рис. 1,в). При совместном введении в организм яда гюрзы и гепарина (сначала яд, через 1 мин - гепарин) купируется гипертермическое действие яда на висцеральные органы, при этом температура как "ядра", так и "оболочки" тела через 30 мин после введения снижается, в течение 90 мин температура ободочной кишки снижается на 0.3°C или с 37.3 до 37.0°C , у поперечно-полосатой мышцы - на 0.2°C , т.е. с 35.7 до 35.5°C , у артериальных сосудов - с 26.7 до 26.4°C .

Данные четвертой серии дали весьма обнадеживающие результаты - летальная доза яда гюрзы при протекторном действии гепарина изменилась вдвое и стала равной 3.6 мг/кг массы крыс вместо 1.8 мг/кг (рис. 2).

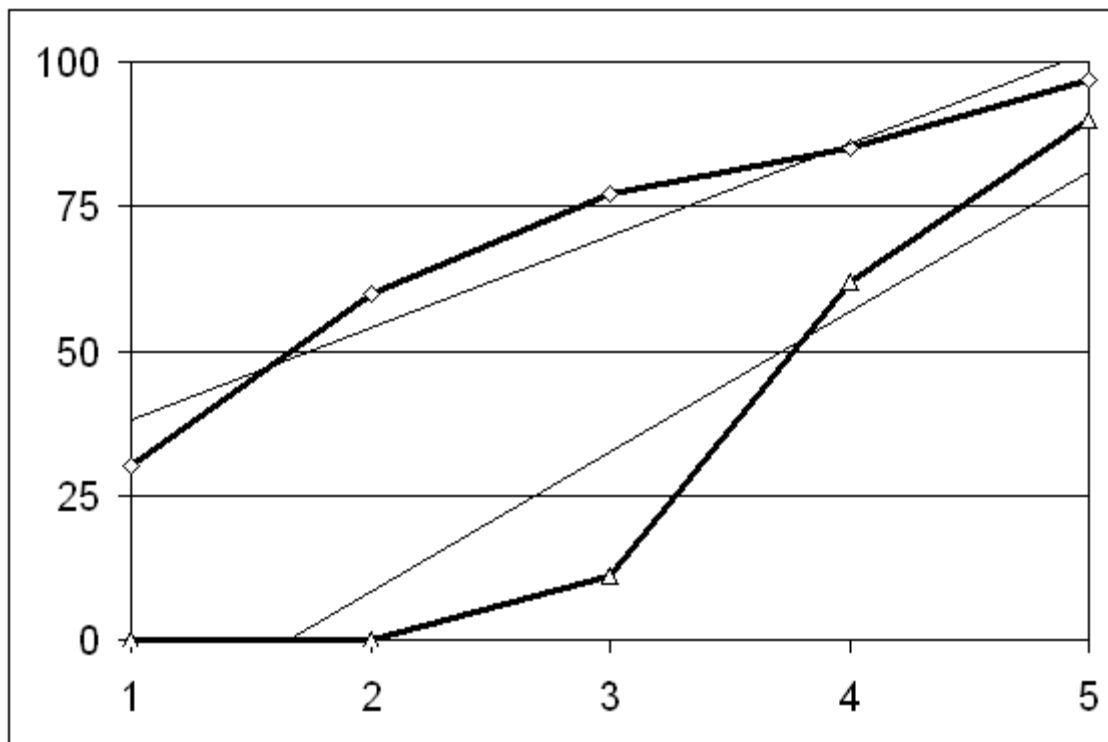


Рис.2. Кривые смертности крыс при действии яда гюрзы (указано ромбами) и одновременном действии яда и гепарина (указано треугольниками). По оси абсцисс отложены единицы введенного яда в мг/кг, по оси ординат отложен процент смертности крыс.

Известно, что температурный гомеостаз организма регулируется химическими и физическими механизмами терморегуляции. Химическая терморегуляция организма осуществляется сократительными и несократительными процессами в организме, а одним из основных механизмов физической терморегуляции является сосудистая реакция периферических артериальных сосудов. Гипертермическое действие яда гюрзы, с одной стороны, является результатом активации механизмов несократительного термогенеза, а с другой, - угнетения механизмов сократительного термогенеза. Эффект яда, по всей видимости, обусловлен снижением теплоотдачи через периферические артериальные сосуды. К такому заключению можно прийти исходя из того, что происходит повышение температуры одного из главных эффекторов несократительного термогенеза - желудочно-кишечного тракта (ободочная кишка) и понижение температуры основного эффектора сократительного термогенеза - поперечно-полосатой мускулатуры (бедренная мышца), а снижение температуры артериальных сосудов происходит из-за ослабления теплоотдачи через механизмы симпатической регуляции сосудистых реакций [11]. Гепарин, являясь ингибитором свертывания крови (инактивация фактора Ха и тромбина) и предотвращая образование тромбов в циркулирующей крови, кардинально влияет на развитие ДВС-синдрома в организме и снимает ишемизацию тканей, тем самым уменьшая патологическое перераспределение больших объемов крови между "ядром" и "оболочкой". Такого развития процессов достаточно, чтобы вдвое уменьшить смертельное действие гемотропных ядов.

Институт физиологии им.Л.А.Орбели НАН РА

Литература

1. Арутюнян Р.А., Восканян А.В., Арутюнян К.Р., Мартиросян С.Ш. - ДНАН Армении. 1998. Т. 98. N1. С.74-77.
2. Арутюнян Р.А., Восканян А.В., Арутюнян К.Р., Мартиросян С.Ш. - ДНАН Армении. 1998. Т. 98. N2. С.175-178.
3. Арутюнян Р.А., Восканян А.В., Арутюнян К.Р., Мартиросян С.Ш. -Российский физиол. журн. им.И.М.Сеченова. 2000. Т. 86. N2. С.210-215
4. Восканян А.В. - Журн. теоретич. и клинич. медицины. 1999. Т.2. N7. С. 58-62.
5. Баркаган З.С., Суховеева Э.Я., Шевченко В.И. - В кн.: Вопросы герпетологии. III Всесоюз. герпетол. конф. Л. 1973. С.30-31.
6. Inflammation, Basic principles and clinical correlates. Editors John I. Gallin et al. 1988. 995 p.
7. Mellander S. - Proc.roy.Soc.Med. 1968. V. 61. P. 55-61.
8. Oberg B. - Acta physiol. Scand. 1964. V. 62. Suppl. 229. P.1-98.
9. Орлов Б.Н., Вальцева И.А. - Яды змей. Ташкент. Медицина. 1977. 251 с.

10. *Нагапетян Х.О., Арутюнян Р.А., Матинян Л.А., Арутюнян К.Р.* Медицинская наука Армении. 2001. Т. 41. N3. С. 16-21.
11. *Guieu R., Kopeyan C., Rochat H.* - Life Sci. 1993. V. 53(26). P. 1935-46
12. *Calil-Elias S., Martinez A.M., Melo P.A.* - Histol. Histopathol. 2002. Apr. V. 17(2). P. 463-70.
13. *Marsh N.A.* - Haemostasis. 2001. May-Dec. V. 31(3-6). P. 211-7.
14. *Legnani C., Preda L., Palareti G., Lunghi B., Rossi E., Coccheri S.* - Haematologica. 2002. Feb. V. 87(2). P.182-8.
15. *Sue S.C., Chien K.Y., Huang W.N., Abraham J.K., Chen K.M., Wu W.G.* - J. Biol. Chem. 2002. Jan 25. V. 277(4). P. 2666-73.
16. *Sue S.C., Brisson J.R., Chang S.C., Huang W.N., Lee S.C., Jarrell H.C., Wu W.* - Biochemistry. 2001. Sep. 4. V. 40(35). P.10436-46.
17. *Oshima-Franco Y., Leite G.B., Silva G.H., Cardoso D.F., Hyslop S., Giglio J.R., da Cruz-Hofling M.A., Rodrigues-Simioni L.* *Toxicon*. 2001. Oct. V. 39(10). P.1477-85.
18. *Восканян А.В.* - Ту РА 37507194.3265-2003.

Ք.Ռ. Հարությունյան, Ա.Վ. Ոսկանյան, Ռ.Ա. Հարությունյան, Մ.Վ. Անտոնյան

**Հեպարինի ազդեցությունը ջերմաստիճանային հոմեոստազի վրա և
ախտաբանական գործընթացների զարգացումը օրգանիզմում գյուրգայի թույնի
ազդեցության ներքո**

Օձի թույնի և հեպարինի համատեղ ներարկման ժամանակ կասեցվում է թույնի հիպերթերմիկ ազդեցությունը առնետների որովայնի օրգանների վրա, դրա հետ մեկտեղ մարմնի «միջուկի» և «կեղևի» ջերմաստիճանը ներարկումից 30 րոպե հետո իջնում է: 90 րոպեի ընթացքում ադու ջերմաստիճանը իջնում է 0.3°C կամ 37.3 -ից մինչև 37.0°C , մկանինը՝ 0.2°C , այսինքն 35.7 -ից մինչև 35.5°C , իսկ պոչի զարկերակը՝ 26.7 -ից մինչև 26.4°C : Գյուրգայի թույնի 50% մահացու դոզան հեպարինի պաշտպանական ազդեցության ներքո պակասում է երկու անգամ և հավասարվում է 3.6 մգ/կգ առնետի զանգվածի 1.8 մգ/կգ դիմաց: