

На правах рукописи

Оксана Олеговна Данилова

**МОДИФИКАЦИЯ ГЕПАРИНОМ ТОКСИЧЕСКИХ И ТЕРМОПРО-
ТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ЗООТОКСИНОВ**

03.00.13 – физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2008

Работа выполнена на кафедре физиологии и биохимии человека и животных
Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор

Александр Евгеньевич Хомутов;

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор

Гелашвили Давид Бежанович;

доктор медицинских наук, профессор

Бояринов Геннадий Андреевич.

Ведущая организация:

Нижегородская государственная медицинская академия

Защита состоится «_5 июня_» 2008г. в 15 часов на заседании диссертационного совета Д.212.166.15 Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1, биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан «__» _____ 2008г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат биологических наук, доцент

А.С. Корягин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Актуальной задачей современной физиологии является выяснение роли эндогенных физиологически активных веществ в регуляции вегетативных функций организма. Одним из важных биорегуляторов является гепарин, синтезируемый тучными клетками печени, легких, соединительной ткани, играющий особую роль в поддержании гомеостаза. Хорошо установленным фактом является способность гепарина образовывать комплексы с широким спектром белков, пептидов, ферментов, катионных соединений, при этом могут меняться как его собственные свойства, так и свойства веществ, вступающих с ним во взаимодействие (Кудряшов, 1975; Хомутов, 1987; Ляпина, 1987; Умарова и др., 1993; Кондашевская, Ляпина, 1998; Chen J. et al., 2006; Troy, 2006; Prakesh et al., 2007).

Влияние высокой температуры окружающей среды на организм человека и животных охватывает широкий круг вопросов физиологического характера. Одним из вопросов этого влияния является тот факт, что кратковременное действие тепла на организм или эпизодические случаи перегревания не являются типичными в условиях жизнеобитания. Чаще всего организм сталкивается с более или менее продолжительным влиянием высокой внешней температуры, которое связано с климатогеографическими условиями или со спецификой процессов (Султанов и др., 2001; Portner, 2001, 2002; Sharma, Hoopes, 2003).

На кафедре физиологии и биохимии человека и животных в течение последних 30 лет под руководством профессора А.Е. Хомутова ведутся активные исследования термопротекторных свойств зоотоксинов как на уровне целостного организма, так и отдельных функциональных систем. В экспериментах на лабораторных животных показано увеличение продолжительности жизни при предварительном введении зоотоксинов по сравнению с использованием только высокой внешней температуры. Установлен механизм защитно-компенсаторных реакций, связанных с острым перегреванием.

Однако практическое использование зоотоксинов при высокой внешней температуре без учета эндогенных факторов, к которым относится гепарин, невозможно, так как гепарин, обладая полифункциональными свойствами, может изменить вектор действия зоотоксинов на диаметрально противоположный (Хомутов и др. 2005, 2006; Ягин, 2007)

Цель исследования: изучение токсических и термопротекторных свойств зоотоксинов в условиях вызванной гипер- и гипогепаринемии.

Задачи исследования:

1. провести сравнительный анализ токсических свойств ядов животных, относящихся к разным таксономическим группам при нормотермии (20°C) в условиях вызванной гипер- и гипогепаринемии;
2. изучить влияние экзогенного и эндогенного гепарина на термопротекторные свойства зоотоксинов на уровне целостного организма;

3. изучить состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем в условиях экспериментальной гипертермии на фоне введения зоотоксинов и предварительном введении гепарина;

5. оценить гистологические изменения в органах крыс при действии высокой температуры на фоне введения зоотоксинов и предварительного введения гепарина;

6. исследовать *in vitro* взаимодействие гепарина с зоотоксинами.

Научная новизна работы. Установлено, что как яды, относящиеся к нейротропным антикоагулянтам (пчелиный яд, яд скорпиона, яд кобры), так и яды, относящиеся к прокоагулянтам (яды эфы, гюрзы и гадюки) в присутствии гепарина теряют свои токсические свойства. Гепарин не действует на токсические свойства яда щитомордника и жабьего яда.

Показано, что пчелиный яд, яд скорпиона, яды кобры, щитомордника, эфы, гюрзы, гадюки и жабы в определенных дозах увеличивают продолжительность жизни в условиях высокой внешней температуры (50°C) в 1,5 – 5,0 раз. Впервые установлено, что совместное применение гепарина и зоотоксинов (кроме яда щитомордника и жабьего яда) блокирует проявление термопротекторных свойств. Гепарин не влияет на термопротекторные свойства яда щитомордника и жабьего яда.

Оптическая плотность растворов гепарина и пчелиного яда, мелиттина, яда кобры, гюрзы, эфы *in vitro* резко увеличивается. Яд щитомордника и жабий яд не взаимодействуют в растворе с гепарином, не изменяют оптической плотности и не изменяют спектров поглощения в УФ-области.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные о токсическом и термопротекторном действии зоотоксинов на фоне введения гепарина значительно расширяют современное представление о неспецифической регуляции гомеостаза. Фундаментальное значение для понимания процессов теплового стресса имеют исследования состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем, функционирующие в условиях высокой внешней температуры на фоне действия зоотоксинов и вызванной гипер- и гипогепаринемии.

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлено, что токсичность пчелиного яда и ядов змей (кроме яда щитомордника) в условиях нормотермии (20°C) зависит от дозы предварительно введенного гепарина. Гипогепаринемия усиливает токсичность ядов животных. Эндогенный и экзогенный гепарин не оказывает влияния на токсические свойства яда щитомордника и жабьего яда.

2. Показано, что все исследованные зоотоксины (пчелиный яд, яд скорпиона, жабий яд, яд кобры, гюрзы, эфы, гадюки) обладают термопротекторным действием. Гепарин блокирует термопротекторное действие большинства исследованных зоотоксинов и не влияет на эти свойства яда щитомордника и жабьего яда.

3. Установлено, что экзогенный и эндогенный гепарин изменяют показатели сердечно-сосудистой системы, регистрируемые при введении пчелиного яда и яда кобры в условиях гипертермии, а щитомордника не изменяют.

4. Показано, что экзогенный и эндогенный гепарин изменяют показатели внешнего дыхания, регистрируемые при введении пчелиного яда и яда кобры в условиях гипертермии, а щитомордника не изменяют.

5. Выявлено взаимодействие гепарина с пчелиным ядом, мелиттином, ядом кобры, гюрзы и эфы *in vitro*. Яд щитомордника и жабий яд не взаимодействуют *in vitro* с гепарином.

Апробация работы. Основные положения работы были доложены и обсуждены: на Всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, 2005), на 4-й Всероссийской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2005), на 6-й Международной выставке и конференции «Интермед – 2005» (Москва, 2005), на IV Всероссийской конференции, посвященной 80-летию Института физиологии им. И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2005), на научно-практической конференции «Инновационные технологии в пчеловодстве» (Рыбное, 2006), на научно-практической конференции «Современные технологии в пчеловодстве» (Рыбное, 2006).

По материалам диссертации опубликовано 18 работ, в числе которых 5 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации материалов кандидатских диссертаций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 181 странице и состоит из введения, 1 главы обзора литературы, материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, выводов, библиографического указателя, приложения. Список цитируемой литературы содержит 304 источника, из которых 163 на русском и 141 на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 65 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовался яд кобры среднеазиатской (*Naja oxiana* Eichw.), эфы (*Echis carinatus* Schneid), щитомордника восточного (*Agkistrodon blomhoffi* Voie), гюрзы (*Vipera lebetina* L.), гадюки обыкновенной (*Vipera berus* L.), полученные из Ташкентского института зоологии и паразитологии, а также яд скорпиона (*Butus eupeus* C. Koch), нативный яд пчелы (*Apis mellifera* L.) и яд жабы (*Bufo bufo* L), полученные в полевых условиях сотрудниками кафедры физиологии и биохимии человека и животных ННГУ.

Исследования были проведены на 320 белых крысах массой 180 - 210 г и 150 лабораторных мышях массой 20±2 г. Все животные до опыта содержались на общем рационе вивария. Кроме того, было исследовано 120 гистологических срезов паренхиматозных органов (печень, легкие, почки, селезенка). При изучении процесса взаимодействия гепарина с зоотоксинами *in vitro* было исследовано 140 образцов.

В работе использовали гепарин (АО «Курган»), содержащий 5000 МЕ в 1 мл, протамина сульфат (1% раствор). Для спектрофотометрических исследований использовали сухой гепарин (производство Франция), содержащий 130 МЕ в 1 мг, разведенный в дистиллированной воде или фосфатном буфере (рН 7,2).

Исследуемые вещества разводились в изотоническом растворе хлорида натрия и вводились внутрибрюшинно животным в возрастающих количествах. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке методом пробит-анализа Миллера и Тейтнера (Беленький, 1963). Влияние гепарина на токсичность ядов животных определяли в аналогичных экспериментах, вводя животным смеси гепарина с зоотоксинами в различных соотношениях, а также яды на фоне предварительной гепаринизации (за 10 минут до введения зоотоксина) и гепарин через 10 минут после интоксикации.

Опыты по изучению действия высокой температуры на показатели жизнедеятельности животных проводились в термокамере, конструкция которой была разработана на кафедре физиологии и биохимии человека и животных ННГУ (Хомутов, Ягин, 1986). Эксперименты проводились при стабилизированной температуре 50°C. Термокамера была выполнена в виде герметичного устройства 1,3x1,0x1,0 м с теплоизолированными стенками и вентиляционными отверстиями в передней части. Высокая температура автоматически поддерживалась с помощью тепловентилятора, расположенного вне камеры и блока стабилизации температуры, датчик которого располагался внутри камеры. Передняя стенка камеры была выполнена из прозрачного органического стекла для визуальной регистрации продолжительности жизни, двигательной активности, поведенческих реакций животных.

Электрокардиограмма записывалась в трех стандартных отведениях. Для регистрации ЭКГ животные фиксировались на столе, лежа на спине. В дистальные отделы конечностей вводились тонкие инъекционные иглы, представляющие собой электроды кардиографа. По показателям ЭКГ высчитывалась частота сердечных сокращений. Давление измеряли кровавым методом в бедренной артерии. Регистрация давления осуществлялась посредством записи показаний ртутного манометра на ленте кимографа или с помощью электроманометра ЭМ-02 с регистрацией на электросамописце НЗ20-3. Частоту дыхания измеряли при помощи пневмотахографа.

Светоскопическую микроскопию проводили в гистологических препаратах селезенки, печени, почек, легкого, приготовленных после 72 - 96 часов фиксации в 10% буферном растворе водного нейтрального формалина. Материал, залитый в парафиновые блоки, резали на санном микротоме МС-2. Срезы толщиной 7мкм окрашивались гематоксилин-эозином, железным гематоксилином, ставилась РА-реакция как без, так и с предварительной обработкой амилазой. С каждого блока делали по 10 ступенчатых срезов каждой окраски. Обсчет объектов проводили с помощью системы "Интеграл-2МГ". Поле зрения на срезах выбирали по методу случайных чисел. Осмотр и микрофотографирование гистологических препаратов осуществляли на микроскопе МБИ-15.

Взаимодействие гепарина с зоотоксинами *in vitro* изучали фотоколориметрическим методом, а также по изменению спектров поглощения данных веществ и их смесей в УФ и видимой области. Колориметрирование осуществляли на фотоэлектроколориметре КФК-3 при синем светофильтре (400 нм).

Измерения спектров поглощения проводили на установке, функционально идентичной однолучевому спектрофотометру. Установка включала в себя источник света (водородная лампа или лампа накаливания), монохроматор МДР-12 с шаговым двигателем, синхронный детектор, светоприемную камеру, в которой размещались кварцевые кюветы с растворами, и фотоумножитель, подключенный к ЭВМ для автоматической регистрации данных. Исследуемые вещества разводили в фосфатном буфере (рН 7,2) или в дистиллированной воде, экстинкцию растворов измеряли относительно растворителей. В первой серии исследовали УФ спектры поглощения в области 200 - 300 нм зоотоксинов и их смеси с гепарином в тех же концентрациях, разведенных в фосфатном буфере.

Статистическая обработка экспериментальных данных была выполнена с помощью программы «Биостат». Для сравнения нескольких групп использовали однофакторный дисперсионный анализ и критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений (Гланц, 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модификация гепарином токсических свойств зоотоксинов.

Яд кобры в наших экспериментах обладал наибольшей токсичностью. Доза, вызывающая гибель 50% крыс ($ДЛ_{50}$), равнялась $0,6 \pm 0,08$ мг/кг. Тем не менее, предварительная инкубация зоотоксина с гепарином приводила к значительному ослаблению его токсических свойств. Так, $ДЛ_{50}$ смеси яд-гепарин в соотношении 1:0,05 возрастала почти в 3 раза (до $1,7 \pm 0,1$ мг/кг), а при десятикратном увеличении содержания гепарина в смеси была $0,9 \pm 0,07$ мг/кг (рис. 1).

Доза, вызывающая гибель 100% экспериментальных животных ($2ДЛ_{50}$), для яда кобры была 1,5 мг/кг. При введении животным смеси яд-гепарин в соотношении 1:0,05 $2ДЛ_{50}$ возрастала до $2,4 \pm 0,2$ мг/кг, однако при увеличении количества гепарина в смеси до соотношения 1:0,5 была несколько меньше контрольного значения и составила $1,2 \pm 0,1$ мг/кг (рис. 1).

Наибольший токсический эффект яда кобры проявлялся при его введении на фоне антагониста гепарина протамин сульфата. $ДЛ_{50}$ токсина была в этом случае заметно ниже контроля – $0,45 \pm 0,01$ мг/кг (рис. 1).

Введение крысам летальной дозы ($2ДЛ_{50}$) яда кобры вызывало гибель всех экспериментальных животных. Предварительная инкубация яда с гепарином способствовала выживанию животных. При инъекции животным смеси яд-гепарин в соотношении 1:0,05; 1:0,5 и 1:5 в эксперименте осталось в живых 66, 41 и 33% крыс соответственно.

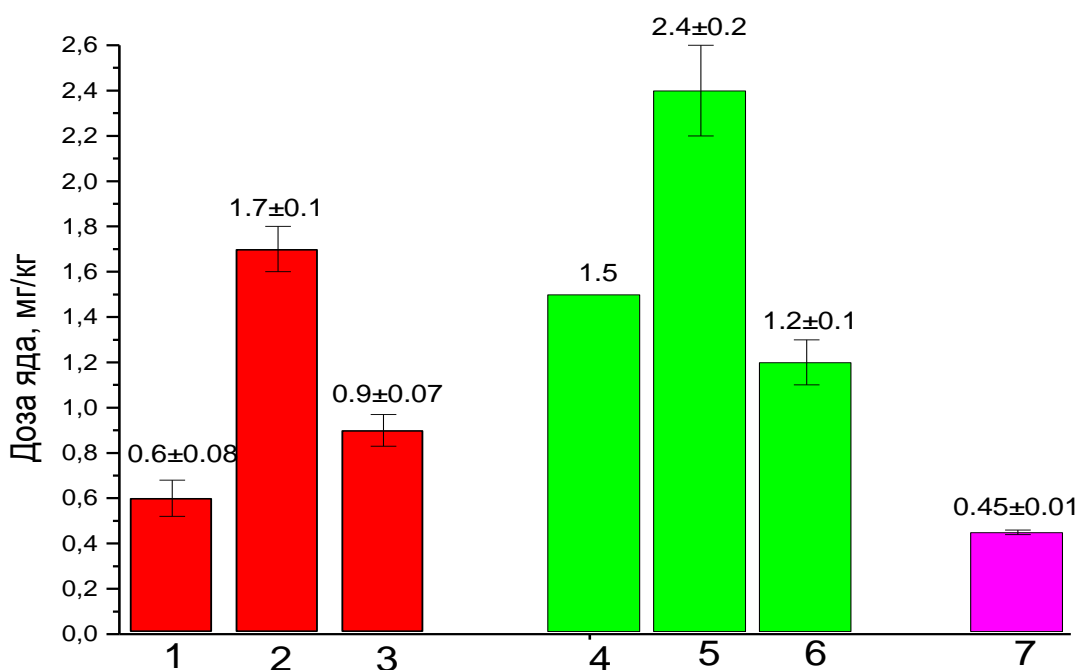


Рис. 1. Токсичность яда кобры и смеси гепарин-яд.

- | | |
|---|--|
| 1. ДЛ ₅₀ яда кобры | 2. ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0.5) |
| 3. ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:5) | 4. 2ДЛ ₅₀ яда кобры |
| 5. 2ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0.5) | 6. 2ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:5) |
| 7. ДЛ ₅₀ яда кобры на фоне протамин сульфата (1,0 мг/кг) | |

Инъекция гепарина крысам в различных дозах также приводила к уменьшению токсичности яда кобры. Предварительное введение гепарина в дозах 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг способствовало выживаемости соответственно 55, 45, 40 и 25% животных, получивших инъекцию 2ДЛ₅₀ яда.

Введение гепарина в дозах 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг на фоне яда кобры в дозе 2ДЛ₅₀ сопровождалось увеличением выживаемости крыс до 20, 52, 40 и 33% соответственно.

Аналогичные данные были получены при изучении антидотного действия гепарина при введении пчелиного яда, ядов гюрзы и эфы.

Иная картина наблюдалась при изучении детоксицирующего действия гепарина при введении яда щитомордника и жабьего яда. Яд щитомордника в наших экспериментах характеризовался наименьшей токсичностью. Доза яда, соответствующая 50%-ной летальности, равнялась 10,2±1,1 мг/кг. Гепарин, добавленный к яду в различных соотношениях, не оказывал влияния на выживаемость животных. ДЛ₅₀ смеси яда щитомордника с гепарином при соотношениях 1:0,05, 1:0,5 и 1:5 практически не отличалась от контроля и равнялась 10,4±1,4, 9,8±0,8 и 10,2±2,2 мг/кг соответственно (рис. 2).

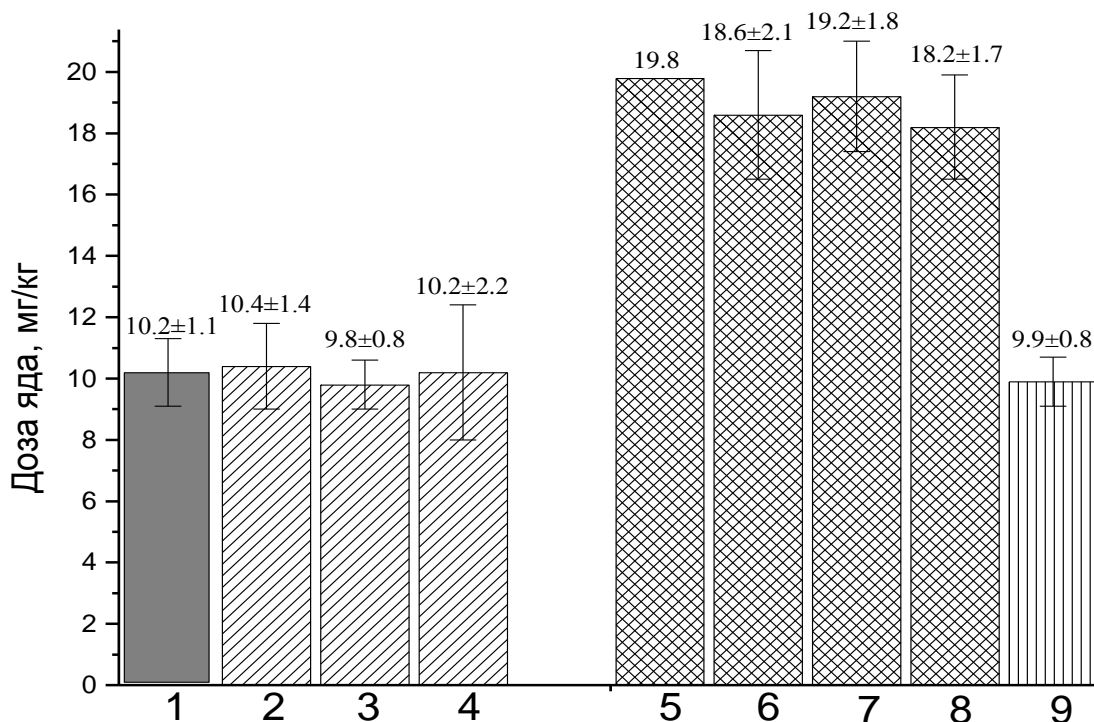


Рис. 2. Токсичность яда щитомордника и смеси гепарин-яд.

- | | |
|---|--|
| 1. ДЛ ₅₀ яда щитомордника | 2. ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0,05) |
| 3. ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0,5) | 4. ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:5) |
| 5. 2ДЛ ₅₀ яда щитомордника | 6. 2ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0,05) |
| 7. 2ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:0,5) | 8. 2ДЛ ₅₀ смеси яд-гепарин (1:5) |
| 9. ДЛ ₅₀ яда щитомордника на фоне протамина сульфата (1,0 мг/кг) | |

Доза яда, вызывающая в эксперименте гибель всех крыс (2ДЛ₅₀), была 19,8 мг/кг. Инъектирование животным смеси яд-гепарин не изменяло токсичности яда, и 2ДЛ₅₀ оставалась на том же уровне: ее значения в опытах равнялись 18,6±2,1, 19,2±1,8 и 18,2±1,7 мг/кг при соотношении компонентов смеси 1:0,05, 1:0,5 и 1:5 соответственно (рис. 2).

Протамин сульфат, инактивирующий эндогенный гепарин, также не влиял на токсичность яда щитомордника, ДЛ₅₀ в этом случае имела значение 9,9±0,8 мг/кг.

Аналогичные данные были получены при изучении выживаемости животных в условиях сочетанного применения гепарина и жабьего яда.

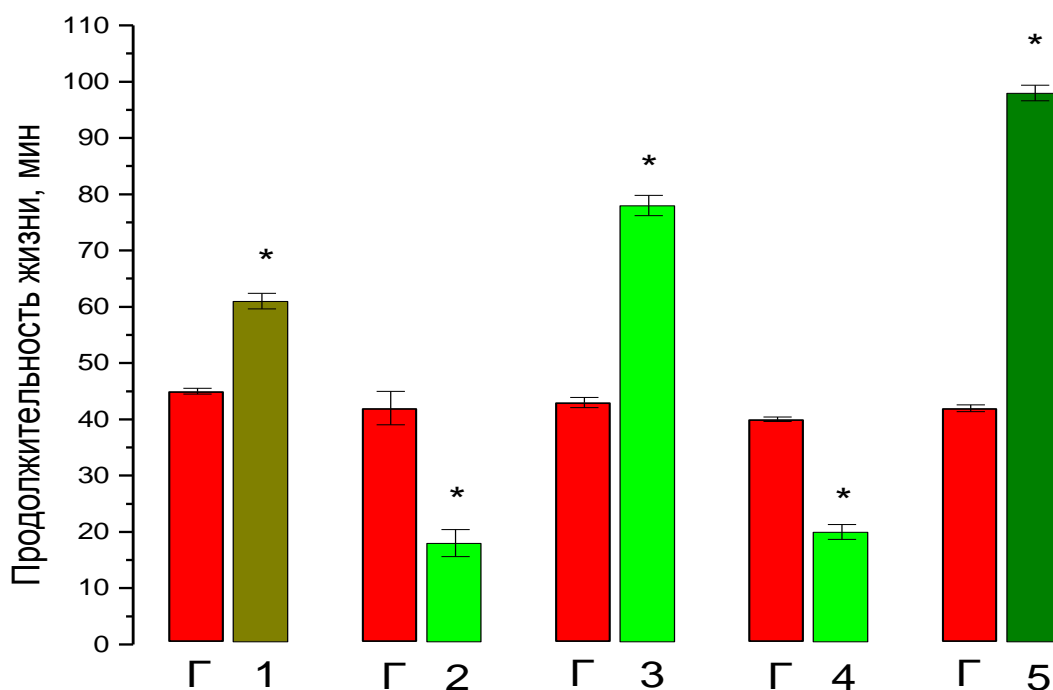
Таким образом, гепарин в экспериментах на лабораторных крысах обладал выраженными антидотными свойствами по отношению к большинству зоотоксинов, различных по составу и физиологическому действию. Эффективность гепарина, по-видимому, только отчасти объясняется его антикоагулянтными свойствами, так как его защитное действие проявлялось как при совместном введении с типичными гемокоагулирующими зоотоксинами – ядом гюрзы и ядом эфы, так и с нейротропным ядом кобры, и с мембранолизиком – пчелиным ядом. Кроме того, искусственно вызванная гипергепари-

немия также способствовала повышению выживаемости животных, отравленных ядами животных. Характерной особенностью гепарина является то, что его максимальный антидотный эффект проявляется в определенной дозе, либо при соотношении компонентов смеси, оптимальных для данного зоотоксина.

Модификация гепарином термопротекторных свойств зоотоксинов.

На кафедре физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского выявлено принципиально новое свойство зоотоксинов, а именно их термопротекторное действие. В нашей работе подтвержден термопротекторный феномен ряда зоотоксинов, относящихся по своему физиологическому действию к нейротоксическим антикоагулянтам с одной стороны и к геморрагическим коагулянтам – с другой.

При высокой внешней температуре на фоне введения яда кобры продолжительность жизни лабораторных крыс увеличивается с $45 \pm 0,5$ мин при температуре 50°C до $61 \pm 1,4$ мин при совместном воздействии температурной экспозиции и яда кобры (рис. 3).



*Критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони – по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рис. 3. Продолжительность жизни (мин) белых крыс в условиях острого перегревания ($T = 50^\circ\text{C}$) при действии яда кобры в условиях гипер- и гипогепаринемии

Г – гипертермия; 1 – яд кобры (1 мг/кг); 2 – яд кобры + гепарин (1:0,05); 3 – гепарин (5 МЕ/кг) – яд кобры (1 мг/кг); 4 – гепарин (50 МЕ/кг) – яд кобры (1 мг/кг); 5 – протамин сульфат (1,0 мг/кг) – яд кобры (1 мг/кг).

При совместном введении яда кобры и гепарина в виде смеси в соотношении 1:0,05, а также при предварительном введении гепарина в дозе 50 и 500 МЕ/кг продолжительность жизни крыс уменьшается на фоне повышения дозы яда.

При внутривенном введении гепарина в дозе 5 и 5000 МЕ/кг с последующим введением яда кобры и температурной экспозицией продолжительность жизни лабораторных животных увеличивалась относительно показателей при гипертермии. Следует отметить, что термопротекторный эффект яда кобры при предварительном введении гепарина в дозе 5000 МЕ/кг сдвигался в сторону повышения дозы яда. Максимальная продолжительность жизни регистрировалась не при введении 1 мг/кг, а при 4 мг/кг яда кобры.

Блокада эндогенного гепарина протамин сульфатом сопровождалась мощным потенцированием термопротекторного феномена яда кобры и максимальная продолжительность жизни в этом случае увеличивалась до $98 \pm 1,4$ мин.

Аналогичная тенденция модификации гепарином термопротекторных свойств наблюдалась и при применении в тех же условиях опыта пчелиного яда, яда скорпиона, ядов гюрзы, гадюки, эфы.

Яд щитомордника обладает наиболее выраженными термопротекторными свойствами и максимальная продолжительность жизни при его введении в дозе 4 мг/кг с последующей температурной экспозицией равна 226 ± 30 мин (рис. 4).

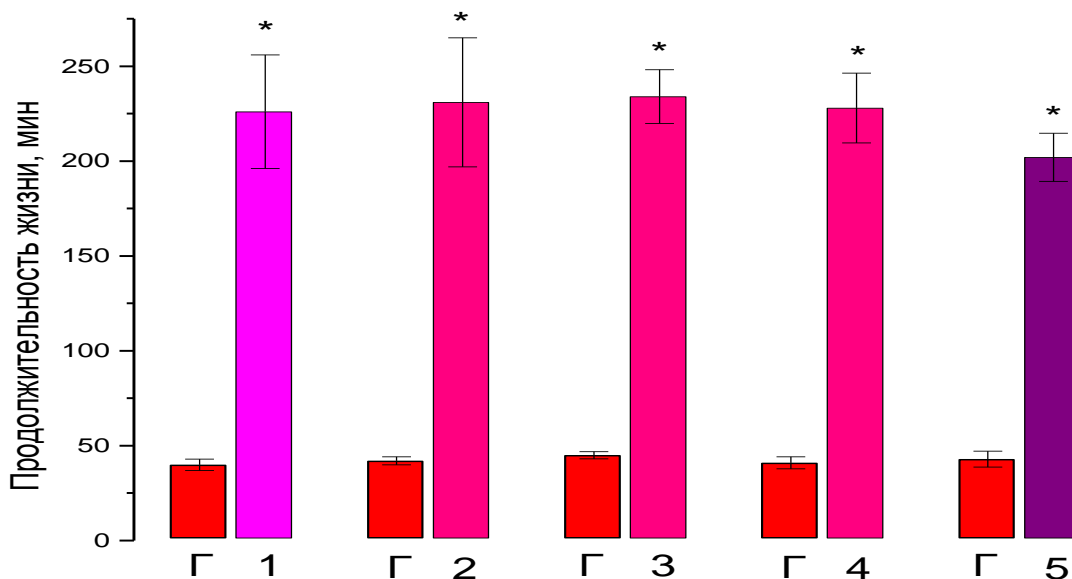
Предварительное введение яда щитомордника с гепарином в виде смеси в соотношении 1:0,05, предварительное введение гепарина в дозе 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг, а также введение протамин сульфата не влияют на продолжительность жизни лабораторных животных.

При использовании в экспериментах по изучению термопротекторного действия зоотоксинов яда жабы картина продолжительности жизни белых крыс напоминает аналогичную с применением яда щитомордника, только показатели продолжительности жизни значительно ниже.

Таким образом, гепарин модифицирует термопротекторные свойства большинства исследованных нами зоотоксинов, кроме яда щитомордника и жабьего яда, термопротекторные свойства которых гепарин не изменяет.

Влияние гипер- и гипогепаринемии на показатели сердечно-сосудистой системы в условиях введения зоотоксинов и гипертермии.

Оценка деятельности сердца и сосудистой системы может производиться с помощью большого количества показателей, из которых, в качестве критерия были выбраны частота сердечных сокращений (ЧСС) и систолическое, диастолическое и пульсовое артериальное давление (АД).



*Критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони – по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рис. 4. Продолжительность жизни (мин) белых крыс в условиях острого перегревания ($T = 50^{\circ}\text{C}$) при действии яда щитомордника в условиях гипер- и гипогепаринемии

Г – гипертермия; 1 – яд щитомордника (4 мг/кг); 2 – яд щитомордника + гепарин (1:0,005); 3 – гепарин (5 МЕ/кг) – яд щитомордника (4 мг/кг); 4 – гепарин (50 МЕ/кг) – яд щитомордника (4 мг/кг); 5 – протамина сульфат (1,0 мг/кг) – щитомордника (4 мг/кг).

Частота сердечных сокращений

При исследовании термопротекторных свойств яда кобры было показано, что при совместном воздействии двух экстремальных факторов, каковыми являются яд и высокая температура, продолжительность жизни экспериментальных животных увеличивалась почти в три раза, по сравнению с группой, в которой крысы подвергались только воздействию температуры.

При введении 1 мг/кг яда кобры, так же как и при инъекции пчелиного яда, картина ЧСС имела волнообразный характер. В течение первых 10 минут ЧСС достоверно снижалась с 256 до 234 уд/мин. Затем, следовало плавное снижение ЧСС и к 50-ой минуте эта величина достигала минимального значения. Далее, с 60-ой до 90-ой минуты наблюдалось повышение ЧСС, которое превосходило контрольные величины. К 100-110 минуте вновь наблюдалось снижение, приближающееся к значениям контроля.

Совместное воздействие яда кобры и высокой температуры сопровождалось волнообразными изменениями ЧСС, причем величина снижения ЧСС была ниже, чем в случае с применением только яда. Сам характер волнооб-

разного снижения и повышения ЧСС имел более линейный характер, чем в вышеописанной серии.

При введении яда кобры в смеси с гепарином и при предварительном введении гепарина в дозе 500 МЕ/кг, так же как и в случае с пчелиным ядом, кривые ЧСС не отличаются от результирующей кривой применения только температурной экспозиции.

Совместное применение протамин сульфата, яда кобры и высокой внешней температуры сопровождалось значительным снижением ЧСС с последующим возвращением к исходным величинам.

При введении яда щитомордника в дозе 4 мг/кг частота сердечных сокращений достоверно снижалась с $282 \pm 7,4$ до $256 \pm 5,6$ уд/мин. Снижение ЧСС продолжалось до 30 минуты наблюдения, после чего отмечалось плавное восстановление ЧСС до контрольных величин. На 80-ой минуте ЧСС увеличивалась до $272 \pm 12,6$ уд/мин, а на 100 минуте достигала максимальной величины ($312 \pm 14,3$ уд/мин). Затем следовало снижение ЧСС практически до контрольных величин.

Совместное применение яда щитомордника и высокой температуры сопровождалось аналогичными изменениями ЧСС. Кривая ЧСС, как и в вышеописанном случае имела волновой характер с пиками падения ($207 \pm 8,1$ уд/мин) на 20-ой минуте и подъема ($323 \pm 8,4$ уд/мин) на 110 минуте.

При предварительном введении гепарина, совместном введении в виде смеси, а также при предварительном введении протамин сульфата картина ЧСС во всех трех случаях не имела достоверных различий, а сама кривая соответствовала кривой, характеризующей ЭКГ картину при сочетанном применении яда щитомордника и температурной экспозиции.

Таким образом, введение пчелиного яда, яда кобры и яда щитомордника в исследованных дозах не приводило к гибели экспериментальных животных не только в период наблюдения, но и в течение суток. Изменение ЧСС при внутрибрюшинном введении токсинов носило волнообразный характер и к 90-120 минуте наблюдения ЧСС возвращалось к норме.

При действии высокой температуры ($T=50^{\circ}\text{C}$) события развивались очень быстро и уже на 50-ой минуте наступала фибрилляция сердечной мышцы. ЧСС в этом случае недостоверно снижалась.

При сочетанном применении животных ядов и высокой температуры продолжительность жизни крыс увеличивалась в 2-3 раза в зависимости от вида токсина. Кривая изменения ЧСС имела волнообразный характер с периодическими пиками снижения и повышения ЧСС относительно контрольных величин.

Предварительное введение гепарина блокировало термопротекторные свойства пчелиного яда и яда кобры, но не влияло на термопротекцию яда щитомордника.

Систолическое артериальное давление

При введении яда кобры в дозе 1 мг/кг в условиях нормотермии систолическое АД достоверно снижалось в период с 20 до 70 минут от момента введения. Максимальное снижение давления отмечалось на 60-ой минуте от

момента инъекции яда и равнялось 102 мм рт. ст., что на 31,1% меньше контрольных значений. В период с 90 по 110 минуту АД недостоверно увеличилось и превышало контрольные величины на 10-14 мм рт. ст.

При сочетанном действии яда кобры и вызванной гипертермии давление колебалось в небольших пределах, а отличия от контрольных измерений были недостоверны.

Картина изменения систолического артериального давления при совместном применении яда кобры и гепарина в виде смеси, а также при предварительном введении гепарина в дозе 500 МЕ/кг, полностью соответствовала изменениям, характерным для тепловой экспозиции.

При предварительном введении протамин сульфата, яда кобры с последующей тепловой экспозицией, наблюдалась картина изменений систолического АД, схожая с изменениями, наблюдаемыми при применении яда кобры и гипертермии.

Аналогичные изменения наблюдались и при действии пчелиного яда в тех же условиях опыта.

Систолическое АД при введении яда щитомордника в дозе 4 мг/кг изменялось двухфазно. Начиная с 10-ой минуты от момента введения яда и по 50 минуту плавно снижалось, достигая максимума - $118 \pm 2,4$ мм рт. ст., что на 17,1% ниже контрольных величин. Затем АД плавно повышалось и к 100 минуте наблюдения равнялось $178 \pm 6,4$ мм рт. ст., что на 25,3% больше, чем в контроле.

Одновременное воздействие высокой температуры на фоне введения яда щитомордника в дозе 4 мг/кг оказывало гипотензивное действие. Однако снижение давления было недостоверным и только перед гибелью (120 мин) АД достоверно снизилось до 102 мм рт. ст.

При предварительном введении гепарина, совместном введении в виде смеси, а также при предварительном введении протамин сульфата картина изменений систолического АД во всех трех случаях не имела достоверных различий (рис. 28), а сами кривые соответствовали кривой, характеризующей картину АД-систолического при сочетанном применении яда щитомордника и температурной экспозиции.

Диастолическое артериальное давление.

Яд кобры в дозе 1 мг/кг, также как и пчелиный яд, снижал артериальное диастолическое давление. Кривая изменений АД - диастолического характеризовалась двухфазностью, причем обе фазы имели плавные характеристики. Так, в период с 10-ой по 40 минуты от момента введения яда АД - диастолическое снижалось с $82 \pm 8,8$ мм рт. ст. в контроле до $54 \pm 11,2$ мм рт. ст. к 40 минуте. Затем следовал плавный подъем давления, который достигал к 110 минуте исходных величин.

При действии высокой внешней температуры на фоне предварительного введения яда кобры кривая изменений АД - диастолического имела не двухфазный, как в вышеописанном случае, а волнообразный характер, однако достоверных различий между контрольной и экспериментальной группами экспериментов не зафиксировано.

При совместном введении яда кобры с гепарином в виде смеси в соотношении 1:0,05, а также при предварительном введении гепарина в дозе 500 МЕ/кг, показатели АД-диастолического достоверно не отличаются друг от друга. Они также достоверно не отличаются от показателей АД-диастолического, характерного для гипертермии.

Предварительное введение протамина сульфата с последующим введением яда кобры и температурной экспозицией сопровождается снижением показателей АД-диастолического с последующим восстановлением до исходных величин.

Аналогичные изменения наблюдались и при действии пчелиного яда в тех же условиях опыта.

При введении яда щитомордника в дозе 4 мг/кг в течение 80 минут наблюдения АД - диастолическое снижалось с $87 \pm 4,0$ мм рт. ст. до $48 \pm 9,6$ мм рт. ст. Затем диастолическое артериальное давление повышалось и к 120 мин от момента инъекции яда возвращалось к уровню исходных величин.

Также как и в опытах с ядом кобры, совместное применение яда щитомордника и высокой температуры сопровождалось волнообразным характером изменений диастолического АД, причем различия почти во всех опытах были недостоверны.

Совместное введение яда щитомордника в виде смеси в соотношении 1:0,05, предварительное введение гепарина в дозе 500 МЕ/кг, а также введение протамина сульфата в дозе 1 мг/кг сопровождается аналогичными показателями АД-диастолического, кривая изменений которого напоминает кривую совместного применения яда и острого перегревания.

Регистрация систолического и диастолического артериального давления показала, что при тепловой экспозиции давление увеличивается до определенного уровня, при котором эндотелиальная температура повышается до 41 - 42°C. Перед гибелью животного давление резко падает и фиксируется остановка дыхания, а сердце продолжает функционировать еще в течение 3 – 5 минут. Введение ядов пчелы, кобры и щитомордника сопровождается снижением давления крови, продолжительность которого колеблется в пределах 50 – 70 минут, после чего наблюдается восстановление параметров давления до исходных величин.

Совместное применение зоотоксинов и теплового стресса сопровождается недостоверными изменениями как систолического, так и диастолического артериального давления, т.е. введение зоотоксинов нивелирует повышение артериального давления при гипертермии, проявляя термопротекторные свойства, характерные для всех трех ядов.

Предварительное использование гепарина блокирует проявление термопротекторных свойств пчелиного яда и яда кобры, не влияя на таковые яда щитомордника.

Влияние гипер- и гипогепаринемии на показатели дыхательной системы в условиях введения зоотоксинов и гипертермии.

Одним из показателей функционирования дыхательной системы является респираторный ритм, регистрируемый как частота дыхательных движений (ЧДД).

При тепловой экспозиции респираторный ритм резко увеличивается и уже к 10-ой минуте превышает исходные величины на 97,8%. Максимального значения ЧДД достигает на 40-ой минуте острого перегревания и увеличивается с $142 \pm 17,1$ до $361 \pm 16,2$ раз в минуту. Непосредственно перед гибелью ЧДД несколько снижается, не достигая, тем не менее, контрольных величин.

Яд кобры в дозе 1 мг/кг оказывал выраженное действие на респираторный ритм лабораторных кроликов. Так, на 40-ой минуте от момента введения кобротоксина ЧДД увеличивалась с 132 ± 25 до 288 ± 25 раз в минуту, т.е. на 118%. А при совместном применении яда кобры и высокой температуры, также на 40-ой минуте ЧДД увеличивалась относительно контроля на 172%.

Использование яда кобры в смеси с гепарином в соотношении 1:0,05, а также предварительное введение гепарина в дозе 500 МЕ/кг, сопровождалось повышением ЧДД, аналогичным показателям температурной экспозиции.

Введение протамин сульфата увеличивало ЧДД до величин, превышающих показатели совместного применения яда кобры и гипертермии.

Аналогичные данные были получены при использовании в тех же условиях эксперимента пчелиного яда.

Введение яда щитомордника в дозе 4 мг/кг в условиях нормотермии сопровождается увеличением ЧДД к 40-й минуте от момента тепловой экспозиции до 377 ± 14 раз/мин.

Совместное применение гипертермии на фоне действия яда щитомордника сопровождается увеличением ЧДД уже на 20-й минуте от начала тепловой экспозиции до 493 ± 27 раз/мин.

Введение яда щитомордника в смеси с гепарином, предварительное введение гепарина, а также введение протамин сульфата не изменяло показателей ЧДД, относительно показателей, полученных при применении яда щитомордника с последующей тепловой экспозицией.

Таким образом, как при гипертермии, так и при действии исследуемых зоотоксинов, а также совместном применении обоих факторов наблюдается резко выраженное полипноэ. Одной из форм испарительной теплоотдачи при высокой температуре является тепловая одышка. При тепловой одышке, в отличие от потоотделения, испарение не зависит от движения окружающего воздуха. При одышке не теряются соли, что, по-видимому, позволяет животным, использующим одышку, быстро и практически полностью восполнять потери воды. Однако тепловая одышка, затрагивая систему газообмена, приводит к изменению газового состава крови, что в свою очередь сопровождается рядом побочных эффектов. Кроме того, интенсивная работа дыхательных мышц сопровождается дополнительным теплообразованием, что при определенном соотношении сводит на нет охлаждающее действие полипноэ (Султанов, 2001).

Морфологические изменения в паренхиматозных органах крыс при действии гепарина и зоотоксинов в условиях гипертермии.

В процессе жизнедеятельности, особенно в экстремальных условиях в организме образуются значительные количества продуктов обмена, которые уже не используются клетками и должны быть элиминированы. Кроме того, организму необходимо постоянно освобождаться от токсичных и чужеродных веществ, от избытка воды, солей, мета- и катаболитов. Органы выполняющие выделительные функции, называются экскреторными. К ним относят почки, легкие, печень, селезенку и др.

Главное назначение органов выделения – это поддержание постоянства внутренней среды организма. Экскреторные органы взаимосвязаны между собой. Сдвиг функционального состояния одного из них меняет активность другого. Например, при избыточном выведении жидкости через кожу при высокой температуре снижается объем диуреза. Нарушение процессов выделения неизбежно ведет к появлению патологических сдвигов гомеостаза вплоть до гибели организма.

На фоне кислородно-эфирного наркоза при нормальной температуре (37,0°C) тела экспериментальных животных гистологическая картина легких близка к норме. Следует отметить лишь некоторое венозное полнокровие с умеренным утолщением межальвеолярных перегородок за счет интерстициального отека. Определяется незначительный периваскулярный отек. Несколько более выраженные изменения этого плана дифференцируются в субплевральных зонах. Здесь же встречаются и эмфизематозно измененные фокусы (по-видимому, компенсаторного характера).

Общая острая гипертермия без каких-либо защитных мероприятий приводит к заметным изменениям в легких. На первый план выступают нарушения кровообращения: венозное полнокровие в сосудах среднего и крупного калибра, отдельные диапедезные экстравазаты, интерстициальный и периваскулярный отек, утолщение межальвеолярных перегородок. Расстройства кровообращения на микроциркуляторном уровне появляются в стазах и плазматизации некоторых капилляров. На этом фоне со стороны бронхиального дерева гистологических изменений не определяется. В просвете отдельных альвеол обнаруживается трансудат.

Экспериментальное применение яда кобры в дозе 0,5 мг/кг в условиях нормотермии (20°C) показало, что в целом гистологическая организация нижних дыхательных путей и паренхимы легкого в пределах нормы. Однако встречаются, несколько чаще в субплевральных зонах, фокусы с утолщенной межальвеолярной перегородкой, состоящие из лимфогистоцитарных инфильтратов с примесью эритроцитов. В просвете бронхов и бронхиол постоянно определяется слизь с отдельными слущившимися эпителиальными клетками. Повсеместно отмечается выраженное кровенаполнение по типу венозного полнокровия.

Использование гипертермии на фоне яда кобры в дозе 0,5 мг/кг оказывает не ярко выраженный защитный эффект. Морфологическое изучение легких в этой серии экспериментов показали, что гистологическая организация

соответствует легкому. Однако отмечаются довольно выраженные нарушения кровообращения. Так, в резко утолщенных межальвеолярных перегородках наблюдается полнокровие и наличие лимфогистоцитарных инфильтратов.

Часть альвеол находится в спавшем состоянии (нарушения в системе сурфактант), в других определяется белковая жидкость (транссудат – отек легкого). Значительные аналогичные изменения развиваются в субплевральных зонах. Структуры бронхиального дерева изменены в меньшей мере. Лишь в просвете отдельных бронхиол определяется слизистая жидкость с примесью слущенных клеток эпителия.

Использование гипертермии на фоне яда пчелы в дозе 5 мг/кг также как и яд кобры оказывает не выраженный защитный эффект и картина альтерации ткани легкого сходна с гистологической картиной при гипертермии на фоне действия яда кобры.

Иная картина наблюдается при тех же условиях опыта с использованием гипертермии на фоне введения яда эфы (6 мг/кг) и особенно яда щитомордника (4 мг/кг). Предварительное введение яда эфы и щитомордника уменьшало повреждающее влияние гипертермии. Гистологические исследования показали, что плевро слегка утолщена за счет межуточного отека, вызванного полнокровием прилежащих сосудов и лимфогистоцитарной инфильтрацией. Эти явления распространяются и на прилежащие межальвеолярные перегородки. Последние повсеместно утолщены, отечны, иногда полностью облитерируют просвет альвеол. Встречаются довольно крупные фокусы ателектазов. Бронхи и бронхиолы в состоянии спадения, в их просвете слизисто-геморрагическая жидкость с примесью слущенного эпителия. Определяется выраженное полнокровие как в бассейне сосудов среднего и крупного диаметров, так и в микроциркуляторном русле.

При введении гепарина в дозе 500 МЕ/кг в условиях гипертермии не влияет на течение процесса ткани легкого. Введение яда кобры с гепарином в соотношении 1:0,05 и яда пчелы с гепарином в соотношении 1:0,5 сопровождается снижением термопротекторного действия токсинов.

При совместном применении яда эфы и щитомордника с гепарином их термопротекторный эффект не снижается и гистологическая картина характеризуется теми же параметрами, что и при введении ядов эфы и щитомордника в условиях гипертермии.

Аналогичные изменения наблюдаются при оценке морфологической картины печени, почек и селезенки при тех же условиях эксперимента.

Таким образом, проведенные гистологические исследования показали, что наиболее грубые патоморфологические изменения определяются в «интактной» группе животных при остром перегревании (50°C). При этом альтерация обнаруживалась как в эпителии извитых канальцев почек, в печеночных клетках, так и в нарушениях гемодинамики исследованных органов.

Повреждающее действие гипертермии уменьшалось при использовании зоотоксинов. Однако, уровень альтерации был выражен не однозначно при различных ядах. Так, использование ядов пчелы и кобры защищало жизнен-

новажные органы минимально. На микроскопическом уровне можно было обнаружить дистрофические, а иногда и некротические явления в паренхимных клетках, а также нарушения кровообращения. Последние в большей мере определялись в легком и селезенке.

Применение яда щитомордника оказывало более выраженный протективный эффект: гистологическая организация изученных органов в большинстве случаев была близка к норме.

Другой особенностью действия изученных зоотоксинов явилось их профилированное действие. Так, если яды кобры и пчелы, обладая нейротоксическим механизмом действия, мало защищали паренхиму внутренних органов от повреждения гипертермией, то яд щитомордника, реализующий свое влияние на уровне гемодинамики и гемореологии, успешно защищал жизненноважные органы, т.е. оказывал ощутимый протективный эффект.

Предварительное введение гепарина с последующим введением пчелиного яда и яда кобры сопровождалось изменениями гистологической картины паренхиматозных органов, характерных только для гипертермии, т.е. протективный эффект этих токсинов снимался гепарином. Гистологическая картина при действии яда щитомордника на фоне введения гепарина была аналогичной с картиной, полученной при действии яда и гипертермии, т.е. протективный эффект яда щитомордника не блокировался гепарином.

Взаимодействие гепарина с зоотоксинами *in vitro*.

Одним из методов исследования взаимодействия веществ друг с другом *in vitro* является фотоэлектроколориметрия. Этим методом оценивается оптическая плотность исследуемых растворов относительно какого-либо растворителя.

Оптическая плотность смеси яда кобры (1 мг/мл) и гепарина (0,05 – 5000 МЕ/мл) изменяется в зависимости от концентрации гепарина в смеси. Так, при низких (0,05 и 0,5) и высоких (50, 500 и 5000 МЕ/мл) концентрациях гепарина в растворе оптическая плотность невысокая. Максимальная оптическая плотность зарегистрирована при концентрации в смеси 5,0 МЕ/мл гепарина (рис.5).

Аналогичные результаты изменения оптической плотности раствора наблюдались при взаимодействии с гепарином пчелиного яда, мелиттина, яда гюрзы, эфы.

При исследовании спектров поглощения в УФ-области раствора яд щитомордника-гепарин было показано, что взаимодействия гепарина с ядом щитомордника не происходит (рис. 6).

На наш взгляд, термопротекторный эффект связан с неспецифической реакцией животных ядов, которые выступают в качестве стрессора. При длительных или многократных стрессорных воздействиях увеличивается мощность стресс-лимитирующих систем и формируется «феномен адаптационной стабилизации структур» (ФАСС), который проявляется в высокой устойчивости внутриклеточных структур к неблагоприятным воздействиям (Меерсон, Малышева, 1993).

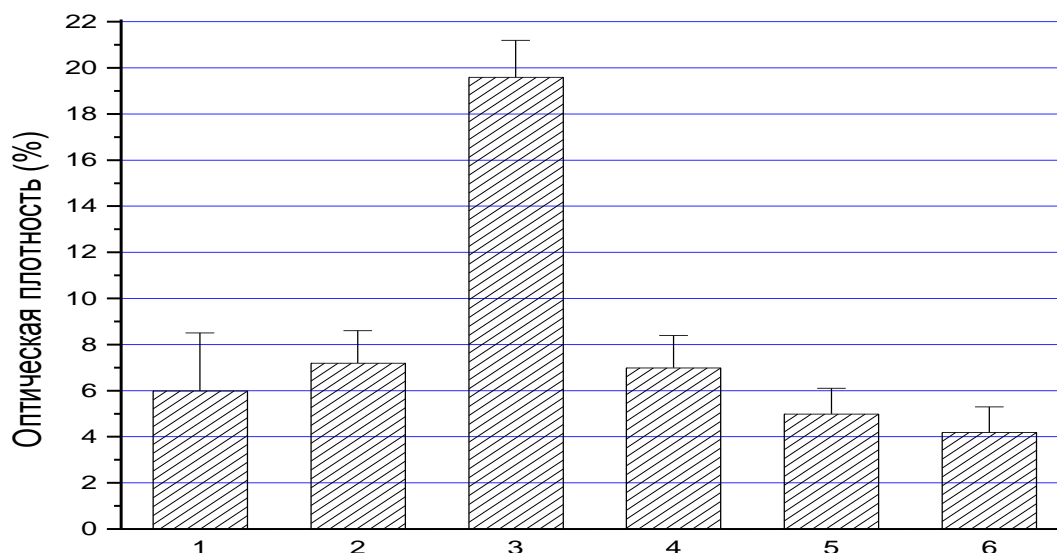


Рис. 5. Влияние гепарина на оптическую плотность раствора яда кобры.

Концентрация гепарина (МЕ/мл):

1 – 0,05; 2 – 0,5; 3 – 5,0;
4 – 50; 5 – 500; 6 – 5000.

Яд щитомордника (1 мг/мл) в смеси с гепарином в широком диапазоне концентраций (0,005 – 5000 МЕ/мл) не изменяет оптической плотности исследуемого раствора.

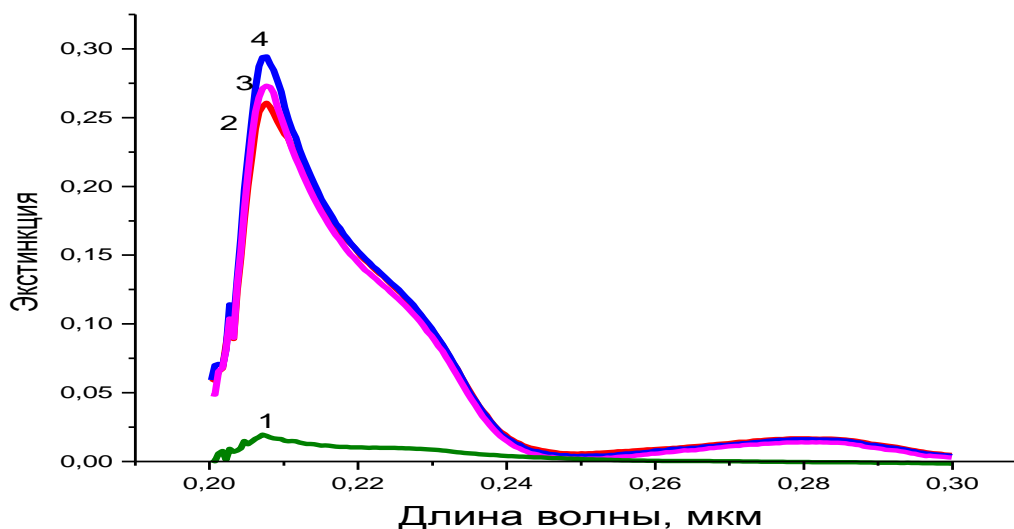


Рис. 6. Спектры поглощения в УФ области гепарина, яда щитомордника и их смеси:

1 – гепарин, 2 МЕ/мл; 2 – яд щитомордника (1 мг/мл); 3 – яд щитомордника (1 мг/мл) + гепарин (0,5 МЕ/мл); 4 - яд щитомордника (1 мг/мл) + гепарин (50 МЕ/мл).

Развитие ФАСС связано с накоплением в клетках белков теплового шока, синтез которых значительно возрастает после длительных или многократных стрессорных воздействий. Усиление синтеза белков теплового шока индуцируется катехоламинами и кортикостероидами. В норме белки теплового шока являются шаперонами (обеспечивают правильную укладку полипептидной цепи вновь синтезируемых белков), а при стрессе осуществляют неспецифическую защиту белков клетки от денатурационных изменений, энергозависимое восстановление структуры частично денатурированных белков или сопровождение необратимо денатурированных белков в лизосомы для их последующего протеолиза (Скулачев, 1999).

Модифицирующее действие гепарина на токсические и термопротекторные свойства животных ядов, видимо, связано с взаимодействием гепарина с основными действующими началами зоотоксинов с образованием комплексных соединений, которые в значительной мере снижают действие токсинов на организм. Отдельно следует заметить, что как *in vivo*, так и *in vitro* яд щитомордника и жабий яд не взаимодействуют с гепарином. На наш взгляд, это связано с тем, что яд щитомордника (кротоксин) представляет собой естественный комплекс, по меньшей мере, двух противоположно заряженных белковых компонентов, а жабий яд по своему химическому строению, в отличие от других зоотоксинов не имеет белковой природы. В составе яда имеются, главным образом, буфадииенолиды - стероидные соединения, производные циклопентанапергидрофенантрена, сходные по структуре с генинами сердечных гликозидов растений - карденолидами, но, в отличие от них имеющие в качестве боковой цепи не 5-ти, а 6-членное, дважды ненасыщенное лактонное кольцо.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что токсичность пчелиного яда и ядов змей (кроме яда щитомордника) в условиях нормотермии (20°C) зависит от дозы предварительно введенного гепарина (0,5 – 5000 МЕ/кг). Гипогепаринемия, вызванная протамин сульфатом (1,0 мг/кг), усиливает токсичность ядов животных. Эндогенный и экзогенный гепарин в широком диапазоне доз (0,5 – 5000 МЕ/кг) не оказывает влияния на токсические свойства яда щитомордника и жабьего яда.

2. При совместном действии высокой внешней температуры (50°C) и исследованных зоотоксинов (пчелиный яд, яд скорпиона, кобры, щитомордника, гюрзы, эфы, гадюки и жабы) продолжительность жизни экспериментальных животных увеличивается в 2 - 6 раз по сравнению с применением только высокой температуры. Этот эффект имел дозозависимый характер, причем максимальные адаптации наблюдались при введении летальных и сублетальных доз.

3. Вызванная гипергепаринемия модифицирует термопротекторные свойства исследованных зоотоксинов (кроме яда щитомордника и жабьего яда), снижая продолжительность жизни экспериментальных животных ниже уровня выживаемости при гипертермии. Вызванная гипогепаринемия потенцирует термопротекторные свойства зоотоксинов. Эндогенный и экзогенный

гепарин не влияют на термопротекторные свойства яда щитомордника и жабыего яда.

3. Температурная экспозиция (50°C) сопровождается резким повышением систолического и диастолического артериального давления. При инъекции зоотоксинов (пчелиный яд, яд кобры, щитомордника) давление резко снижается с восстановлением до контрольных величин через 90 - 100 мин после введения. Совместное воздействие высокой температуры (50°C) и животных ядов стабилизирует давление в течение 90-100 мин от начала тепловой экспозиции. Гепарин, как экзогенный, так и эндогенный, не оказывал ярко выраженного эффекта на показатели артериального давления при введении зоотоксинов в условиях гипертермии, по сравнению с введением ядов и температурной экспозицией.

4. Частота дыхательных движений увеличивается при действии высокой температуры (50°C) со $142,0 \pm 17,1$ раз/мин до $361,0 \pm 16,2$ раз/мин. При введении зоотоксинов (пчелиный яд, яд кобры, щитомордника) частота дыхательных движений также возрастала в 1,5-2,5 раза. Сочетанное применение двух экстремальных факторов сопровождалось полипноэ, при котором частота дыхательных движений возрастала в 2-4 раза. Гепарин, как экзогенный, так и эндогенный не оказывал ярко выраженного эффекта на показатели внешнего дыхания при введении зоотоксинов в условиях гипертермии, по сравнению с введением ядов и температурной экспозицией.

5. Гистологические исследования почек, печени, легких, селезенки при действии высокой температуры (50°C), действии зоотоксинов (яд пчелы, кобры, щитомордника), совместное действие высокой температуры и животных ядов показали, что предварительное введение гепарина с последующим введением пчелиного яда и яда кобры сопровождалось изменениями гистологической картины паренхиматозных органов, характерных только для гипертермии, т.е. протективный эффект этих токсинов снимался гепарином. Гистологическая картина при действии яда щитомордника на фоне введения гепарина была аналогичной с картиной, полученной при действии яда и гипертермии, т.е. протективный эффект яда щитомордника не блокировался гепарином.

6. Исследования *in vitro* с регистрацией оптической плотности растворов гепарин-яд показали, что пчелиный яд, яд кобры и гюрзы активно взаимодействуют друг с другом, многократно повышая уровень оптической плотности растворов, яд эфы в смеси с гепарином в незначительной степени повышает оптическую плотность, а яд щитомордника и жабий яд вообще не реагируют с гепарином.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Ягин В.В., Хомутов А.Е., Данилова О.О. Гистологические изменения в органах крыс при действии высоких температур на фоне введения зооток-

синов // Вестник Нижегородского университета. Серия биология. – Н.Новгород: ННГУ, 2005. вып. 2(10). – С. 183-186.

2. Пурсанов К.А., Хомутов А.Е., Ягин В.В., **Данилова О.О.** Влияние гепарина на термопротекторные свойства зоотоксинов // Нижегородский медицинский журнал. 2006. - №5. – С. 20-23.

3. Хомутов А.Е., Ягин В.В., Пурсанов К.А., **Данилова О.О.** Влияние острого перегревания кроликов на показатели кардиореспираторного ритма на фоне действия зоотоксинов // Вестник Нижегородского университета. Серия биология. – Н.Новгород: ННГУ, 2006. вып. 1(11). – С. 155-160.

4. Ягин В.В., Пурсанов К.А., Хомутов А.Е., **Данилова О.О.** Изменение показателей артериального давления при действии острого перегревания на фоне введения зоотоксинов // Вестник Нижегородского университета. Серия биология. – Н.Новгород: ННГУ, 2006. вып. 1(11). – С. 161-165.

5. Хомутов А.Е., Пурсанов К.А., **Данилова О.О.** Морфологические изменения в легких крыс при действии гепарина и зоотоксинов в условиях гипертермии // Вестник Нижегородского университета. – Н.Новгород: ННГУ, 2007. № 6. – С. 144-150.

Статьи в региональных изданиях и материалах конференций:

6. **Данилова О.О.** Изменение частоты дыхательных движений при действии яда кобры и щитомордника в условиях острого перегревания // Матер. Всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина». – Санкт-Петербург, 2005. – С. 32.

7. Хомутов А.Е., **Данилова О.О.**, Гаранин А.В. Изменение частоты дыхания при сочетанном действии острого перегревания и животных ядов // 4-я Всероссийская конференция с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция». – Москва, 2005. – С. 116-117.

8. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Изменение частоты сердечных сокращений при действии пчелиного яда в условиях острого перегревания // 6-я Международная выставка и конференция «Интермед – 2005». – Москва, 2005. – С. 98-105.

9. Хомутов А.Е., Ягин В.В., **Данилова О.О.** Изменение кардиореспираторного ритма при введении яда кобры и щитомордника // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. Вып. 8. – Тольятти, 2005. – С. 197-199.

10. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Изменение частоты дыхательных движений при действии пчелиного яда в условиях острого перегревания // 6-я Международная выставка и конференция «Интермед – 2005». – Москва, 2005. – в печати.

11. Хомутов А.Е., Гаранин А.В., **Данилова О.О.** Влияние аминазина на термоадаптивные свойства яда щитомордника // Матер. IV Всероссийской конференции, посвященной 80-летию Института физиологии им. И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем». Санкт-Петербург, 2005. – С. 257.

12. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Изменение кардиореспираторного ритма при введении пчелиного яда в условиях гипертермии // Экологические аспекты производства, переработки и использования продуктов пчеловодства. – Рыбное, 2005. – С. 154-157.

13. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Ассоциативное влияние пчелиного яда и высокой внешней температуры на артериальное давление в эксперименте // Инновационные технологии в пчеловодстве. Материалы научно-практической конференции. – Рыбное, 2006. – С. 239-242.

14. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Действие пчелиного яда на частоту дыхательных движений в условиях острого перегревания // Инновационные технологии в пчеловодстве. Материалы научно-практической конференции. – Рыбное, 2006. – С. 245-246.

15. Ягин В.В., Гаранин А.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Влияние аминазина на термопротекторные свойства пчелиного яда // Инновационные технологии в пчеловодстве. Материалы научно-практической конференции. – Рыбное, 2006. – С. 246-247.

16. Хомутов А.Е., Пурсанов К.А., **Данилова О.О.** Сравнительная характеристика термопротекторных свойств змеиных ядов // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. Вып. 9. – Тольятти, 2006. – С. 182-188.

17. Ягин В.В. **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Действие пчелиного яда на респираторный ритм экспериментальных животных // Апитерапия сегодня. – Рыбное, 2006. – С. 81-82.

18. Ягин В.В., **Данилова О.О.**, Хомутов А.Е. Картина изменений артериального давления экспериментальных животных при сочетанном применении пчелиного яда и высокой внешней температуры // Современные технологии в пчеловодстве. Материалы научно-практической конференции. – Рыбное, 2006. – С. 82-86.