

УДК 612

**ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА И ПРОТАМИН СУЛЬФАТА
НА ТЕРМОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ ЗМЕЙ**

© 2011 г.

Р.В. Гинойн, О.В. Лушникова

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

kfg@bio.unn.ru

Поступила в редакцию 17.12.2010

В опытах на крысах изучено действие гепарина и протамина сульфата на термопротекторные свойства ядов змей (яд кобры, гюрзы, гадюки, эфы и щитомордника). Показано, что как экзогенный, так и эндогенный гепарин снижает термопротекторные свойства ядов кобры, гюрзы, гадюки и не влияет на термопротекторное действие ядов эфы и щитомордника.

Ключевые слова: яды змей, гепарин, протамин сульфат.

Введение

В настоящее время 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 [1–5].

На кафедре физиологии и биохимии человека и животных ННГУ было установлено, что гепарин вступает во взаимодействие с широким спектром ядов животных, относящихся к разным таксономическим группам и имеющим различные физиологические механизмы токсического действия. Однако влияние гепарина на термопротекторное действие зоотоксинов не установлено, в связи с чем была поставлена серия экспериментов, в которой, в первую очередь, изучалось действие экзогенного и эндогенного гепарина на продолжительность жизни лабораторных крыс при температурной экспозиции 50°C.

Материалы и методы

В работе использовался яд кобры среднеазиатской (*Naja oxiana* Eichw.), эфы песчаной (*Echis carinatus* Schneid), гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina* L.), гадюки обыкновенной (*Vipera berus* L.), щитомордника восточного (*Agkistrodon blomhoffi* Voie), а также гепарин (АО «Курган»), содержащий 5000 МЕ в 1 мл, и протамин сульфат (1%-ный раствор) в качестве классического блокатора гепарина.

Исследования были проведены на 120 белых крысах массой 180–210 г. Все животные до опыта содержались на общем рационе вивария. Образцы ядов готовились непосредственно перед опытом. Опыты по изучению действия высоких температур на показатели жизнедеятельности животных проводились в термокамере, конструкция которой была разработана на кафедре физиологии и биохимии человека и животных ННГУ. Эксперименты проводились при стабилизированной температуре 50°C.

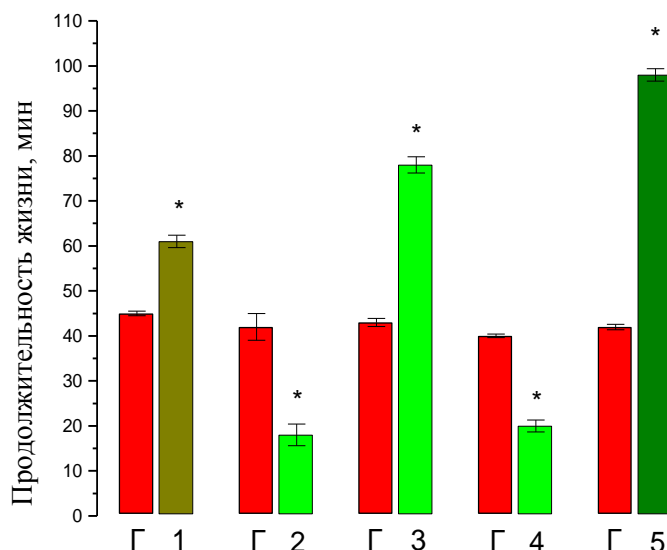
Экспериментальные данные были подвергнуты статистической обработке методом парных сравнений по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В контрольной серии экспериментов с тепловой экспозицией на фоне введения физиологического раствора в течение 40–45 мин все животные погибают (рис. 1). При внутривенной инъекции яда кобры в дозе 1 мг/кг с последующей тепловой экспозицией продолжительность жизни крыс увеличивается до 61±1.4 мин (рис. 1).

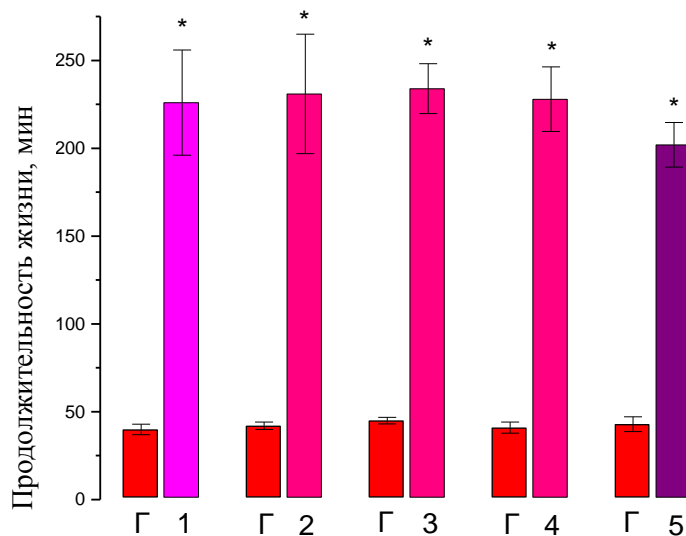
Сочетанное применение пчелиного яда в виде смеси и при предварительном введении гепарина в дозе 50 и 500 МЕ/кг сопровождается снижением продолжительности жизни до 18–29 мин соответственно. Следует отметить, что при предварительном введении гепарина в дозе 5 МЕ/кг продолжительность жизни увеличивается до 78±1.8 мин (рис. 1).

Блокада эндогенного гепарина протамином сульфатом с последующим введением яда кобры и тепловой экспозицией увеличивает продол-



* Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ($p \leq 0.05$).

Рис. 1. 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 (10 мг/кг) – яд кобры (1 мг/кг)



* Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ($p \leq 0.05$).

Рис. 2. 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 – протамин сульфат (10 мг/кг) – яд щитомордника (4 мг/кг)

жительность жизни экспериментальных животных до 98 ± 1.4 мин (рис. 1).

Таким образом, экзогенный гепарин в дозах, превышающих 5 МЕ/кг, снижает термopротекторные свойства яда кобры. Известно, что в

этих дозах гепарин в значительной мере снижает и токсические свойства яда кобры. Кроме того, в исследованиях *in vitro* с регистрацией оптической плотности и УФ-спектроскопии раствора гепарин–яд показано, что реагенты

вступают во взаимодействие друг с другом, образуя макромолекулярные соединения. Учитывая эти данные, можно предполагать, что термопротекторные свойства яда кобры в определённой мере зависят от токсических свойств яда. Исходя из этого, можно объяснить и увеличение продолжительности жизни в экспериментах, выполненных по следующей схеме: протамин сульфат → яд кобры → тепловая экспозиция.

Аналогичные результаты были получены в опытах, в которых вместо яда кобры применяли такие зоотоксины, как яд гадюки и гюрзы. Предварительное введение гепарина блокирует токсические свойства данных ядов и, как показали наши исследования, снижает их термопротекторные свойства.

Термопротекторные свойства яда эфы выражены значительно сильнее, чем у всех предыдущих исследованных зоотоксинов. Уже в дозе яда 1 мг/кг продолжительность жизни крыс возрастает с 40 ± 3.0 мин до 125 ± 3.2 мин. Максимальная продолжительность жизни животных регистрируется при введении яда в дозе 6 мг/кг и соответствует 159 ± 9.2 мин.

При совместном введении яда эфы с гепарином в соотношении 1:0.005, а также при предварительном введении гепарина в дозе 5 МЕ/кг термопротекторные свойства яда эфы сохраняются. Однако продолжительность жизни в этих двух случаях несколько снижается, хотя превышает показатели температурного шока.

Продолжительность жизни экспериментальных животных при предварительном введении гепарина в дозах 50, 500 и 5000 МЕ/кг, а также введении протамин сульфата достоверно не отличается от показателей продолжительности жизни, зафиксированных при совместном применении яда эфы и гипертермии.

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. 2).

Предварительное введение яда щитомордника с гепарином в виде смеси в соотношении 1:0.05, предварительное введение гепарина в дозах 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг, а также введение протамин сульфата достоверно не изменяют продолжительности жизни лабораторных животных при температуре 50°C (рис. 2).

Ранее нами было установлено, что гепарин не влияет на токсические свойства яда щитомордника и не изменяет *in vitro* оптическую плотность раствора гепарин – яд. Возможно именно поэтому яд щитомордника обладает максимальными термопротекторными свойствами, не взаимодействуя с эндогенным гепарином.

Список литературы

1. Хомутов А.Е. Гепарин и зоотоксины // В. сб.: Механизмы действия зоотоксинов. Горький: Изд-во ГГУ, 1987. С. 13–30.
2. Кондашевская М.В., Ляпина Л.А. Новое свойство комплекса гепарин–серотонин // Бюлл. эксп. биологии и медицины. 1998. Т. 126. № 10. С. 425–426.
3. Chen J. et al. Enzymatic redesigning of biological active heparan sulfate // J. Biological Chemistry. 2006. № 12. P. 329–332.
4. Troy N.Y. Blood-Compatible Nanoscale Materials Possible Using Heparin // Immediate Release. 2006. N. 4. P. 165–168.
5. Prakesh S. Shah A. et al. A Randomized, Controlled Trial of Heparin Versus Placebo Infusion to Prolong the Usability of Peripherally Placed Percutaneous Central Venous Catheters (PCVCs) in Neonates: The HIP (Heparin Infusion for PCVC) Study // Pediatrics. 2007. V. 119. P. 284–291.

THE EFFECT OF HEPARIN AND PROTAMINE SULFATE ON THE THERMOPROTECTIVE PROPERTIES OF VENOMS

R.V. Ginoyan, O.V. Lushnikova

In the experiments on rats, the effect of heparin and protamine sulfate on the thermoprotective properties of venoms (cobra, blunt-nosed viper, adder, carpet viper and mocassin venoms) has been studied. It has been shown that exogenous and endogenous heparin reduces the thermoprotective properties of cobra, blunt-nosed viper and adder venoms and does not influence the thermoprotective action of carpet viper and mocassin venoms.

Keywords: venoms, heparin, protamine sulfate.